

Ocena stężeń tkankowych inhibitorów metaloproteinaz TIMP-2 i TIMP-4 w III trymestrze ciąży

Evaluation of tissue metalloproteinases inhibitors TIMP-2 and TIMP-4 in III-rd trimester of pregnancy

Agata Karowicz-Bilińska, Urszula Kowalska-Koprek, Dorota Estemberg, Anita Sikora-Szubert

Klinika Patologii Ciąży I Katedry Ginekologii i Położnictwa. Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

Streszczenie

Wstęp: Dla prawidłowego rozwoju ciąży konieczna jest prawidłowa implantacja i dalszy rozwój łożyska i naczyń zapewniających wymianę między matką a płodem. Metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej są odpowiedzialne za jej uszkodzenie, a ich działanie hamowane jest przez ich inhibitory- TIMP.

Cel pracy: Ocena wartości rozpuszczalnych inhibitorów zewnątrzkomórkowych metaloproteinaz TIMP-2 i TIMP-4 u kobiet ciężarnych w III trymestrze ciąży oraz we krwi pępowinowej.

Materiał i metody: Badania przeprowadzono w Klinice Patologii Ciąży I Katedry Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Grupę badaną stanowiło 29 kobiet w ciąży fizjologicznej, między 37 a 40 tygodniem ciąży. We krwi kobiet ciężarnych oraz we krwi pępowinowej- tętniczej i żylniej oznaczano TIMP-2 i TIMP-4.

Wyniki: Średnie stężenie TIMP-2 we krwi matczynej wynosiło 101,27 ng/ml, w tętniczej krwi pępowinowej 108,88 ng/ml, w pępowinowej krwi żylniej 108,28 ng/ml. Średnie stężenie TIMP-4 we krwi matczynej wynosiło 726,73 pg/ml, w tętniczej krwi pępowinowej 529,95 pg/ml, w pępowinowej krwi żylniej 537,87 pg/ml. Oceniając uzyskane wartości TIMP-4 stwierdzono istotną różnicę pomiędzy krwią matczyną i pępowinową, zarówno tętniczą jak i żylną.

Wnioski:

1. Brak pobudzenia syntezy TIMP-2 w III trymestrze ciąży fizjologicznej świadczyć może o stabilnym procesie tworzenia naczyń.
2. Obserwowany spadek stężenia TIMP-4 potwierdza brak uszkodzenia naczyń krwionośnych i pobudzenia procesu angiogenezy zarówno matki jak i u płodu.

Słowa kluczowe: **metaloproteinaza / inhibitor metaloproteinazy / TIMP-2 / TIMP-4 /**
cięża /

Adres do korespondencji:

Agata Karowicz-Bilińska
Klinika Patologii Ciąży I Katedry Ginekologii i Położnictwa
Łódź, ul. Wileńska 37, Polska
e-mail- agakar@interia.pl

Otrzymano: 03.03.2015
Zaakceptowano do druku: 01.04.2015

Agata Karowicz-Bilińska et al. Ocena stężeń tkankowych inhibitorów metaloproteinaz TIMP-2 i TIMP-4 w III trymestrze ciąży.

Abstract

Introduction: To achieve physiological pregnancy development proper implantation and placental development is needed to establish good exchange between mother and fetus. Metalloproteinases of extracellular matrix are responsible of its degradation, their action is decreased by metalloproteinases inhibitors - TIMPs.

Objectives: Assessment of the concentrations soluble extracellular matrix metalloproteinases inhibitors TIMP-2 and TIMP-4 in blood of pregnant healthy women in III-rd trimester and in umbilical cord blood- separately from arteries and umbilical cord vein.

Material and method: The study was conducted in High Risk Pregnancy Clinic, Medical University Lodz. The study group consisted from 29 women in normal, eutrophic pregnancy between 37 and 40 weeks of pregnancy. TIMP-2 and TIMP-4 were measured in blood samples from maternal blood and umbilical cord vessels - separately from arteries and vein.

Results: Mean TIMP-2 concentration in maternal blood was 101,27 ng/ml, from umbilical artery 108,88 ng/ml, and from vein 108,28 ng/ml. Mean concentration of TIMP-4 in maternal blood was 726,73 pg/ml, in umbilical artery was 529,95 pg/ml, in umbilical vein - 537,87 pg/ml. Comparing obtained results of TIMP-4 statistical difference between maternal blood and umbilical cord blood was found.

Conclusions: The lack of increase of TIMP-2 synthesis in III-rd trimester of physiological pregnancy may be result of stabile vascularisation process. Observed decrease of TIMP-4 concentration may be the result of normal blood vessels development and the lack of increase angiogenesis process in both- mother and fetus.

Key words: **metalloproteinases / metalloproteinases inhibitors / TIMP-2 / TIMP-4 / pregnancy /**

Wstęp

Dla prawidłowego wewnątrzmacicznego wzrastania płodu niezbędna jest prawidłowa budowa łożyska oraz adaptacja naczyń krwionośnych przez ich przebudowę w naczynia o niskim oporze przepływu. Macierz zewnątrzkomórkowa w obrębie łożyska jest jednym z czynników wpływających na funkcję kosmka jako struktura działająca przestrzennie i nadająca im właściwy kształt. Na przebudowę, degradację macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM) mogą wpływać metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP) [1]. Są to enzymy trawiące glikoproteiny macierzy zawierające dwie domeny- domenę katalityczną oraz prodomenę. Usunięcie prodomeny aktywuje enzym i indukuje degradację macierzy zewnątrzkomórkowej. Metaloproteinazy są stymulowane przez cytokiny stanowiąc odpowiedź na uszkodzenie tkanek oraz procesy zapalne [2]. Aktywacja metaloproteinaz daje wzrost uwalniania cytokin np. TNF-alfa. Degradacja kolagenu macierzy zewnątrzkomórkowej daje możliwość przenikania leukocytów do ogniska infekcji i jej ograniczanie [3, 4].

Najlepiej poznana metaloproteinaza- MMP-2 należy do grupy żelatynaz, zdolnych do degradowania kolagenu typu I, II, III i IV, lamininy i żelatyny. Jej wysokie stężenia obserwowane są w stanach przebiegających z nasileniem procesów neowaskularyzacji. Neowaskularyzacja (angiogeneza) jest procesem niezbędnym np. w gojeniu się ran, procesie implantacji zarodka, placentacji, morfogenezy i wzrastania wewnątrzmacicznego, zapewniając prawidłowy dostęp do tlenu i innych składników krążącej krwi [5].

W angiogenezie najważniejszą rolę odgrywa uszkodzenie bariery macierzy zewnątrzkomórkowej przez metaloproteinazy, co daje początek uszkodzeniu błony podstawnej komórek śródbłonna i degradacji kolagenu [6, 7].

Ochronie komórek przed ich degradacją i zachowaniu homeostazy służą inhibitory metaloproteinaz – TIMP (*tissue inhibitor metalloproteinases*). Są to glikoproteiny tworzące hamujące kom-

pleksy z metaloproteinazami i tym samym obniżające ich aktywność oraz mające dodatni wpływ na wzrost komórki oraz erytropoezę. Działają również antyapoptotycznie i proproliferacyjnie, wpływając na procesy organogenezy i steroidogenezę [8, 9].

Tkankowy inhibitor proteiny-2 [TIMP-2] o masie cząsteczkowej 21 kDa, występujący w formie rozpuszczalnej, obniża zdolność do tworzenia rurek endotelialnych w żelowych proteinach macierzy zewnątrzkomórkowej. Działa również blokująco na obie formy MMP-2 – aktywną i nieaktywną, hamuje angiogenezę pobudzaną za pośrednictwem obecnego w błonie podstawowej i podśródbłonkowej macierzy zewnątrzkomórkowej naczyń krwionośnych, czynnika wzrostu fibroblastów (*basic fibroblast growth factor* – bFGF) [10]. W ten sposób blokowana jest proliferacja komórek endotelialnych mikronaczyń, brak jest natomiast wpływu bFGF na opóźnienie wzrostu komórek już powstałych. Do pobudzenia aktywności bFGF wytwarzanego głównie w adipocytach, konieczna jest obecność białka sygnałowego. W badaniach *in vitro* stwierdzono niewielki wzrost adhezji komórek i spowolnienie migracji komórkowej pod wpływem TIMP-2, co potwierdza jego działanie antyangiogenne. W niskich stężeniach TIMP-2 aktywuje MMP-2, natomiast wzrost jego stężenia powoduje blokowanie aktywności MMP-2 [11, 12].

Metaloproteinazy oraz ich specyficzne inhibitory – TIMP tworzą sprzężony system proteolityczny a zaburzenie jego działania może prowadzić do wzmożonej proteolizy zewnątrzkomórkowej np. w procesach zapalnych, rozrostach nowotworowych, a także osłabienia procesów proteolitycznych podczas implantacji trofoblastu oraz angiogenezy łożyskowej. Jak wykazały badania Świerczewskiego A. i wsp. obserwuje się istotnie mniejszą ekspresję tkankowego inhibitora metaloproteinazy-2 (TIMP-2) w grupie zdrowych ciężarnych w porównaniu do grupy kobiet z ciążą powiklaną zespołem ograniczonego wzrastania płodu [13].

Agata Karowicz-Bilińska et al. Ocena stężeń tkankowych inhibitorów metaloproteinaz TIMP-2 i TIMP-4 w III trymestrze ciąży.

Tkankowy inhibitor metaloproteinaz-4 [TIMP-4] o masie cząsteczkowej 21 kDa od innych inhibitorów metaloproteinaz różni brak miejsca *n*-glikozylacji. W warunkach fizjologicznych występuje w niskich stężeniach we krwi obwodowej, a najwyższe jego stężenia stwierdzano w mięśni sercowym. TIMP-4 obecny jest w astrocytach, w endometrium, trofoblaście, komórkach śródbłonna, makrofagach, monocytach, płytkach krwi i komórkach mięśni gładkich [14].

W chorobach przebiegających z uszkodzeniem naczyń krwionośnych stężenie TIMP-4 wzrasta. Potwierdzono jego wpływ na indukcję procesu apoptozy w fibroblastach mięśnia sercowego oraz hamowanie migracji komórek endotelialnych zdolnych do tworzenia kapilar. Jednocześnie nie stwierdzono wpływu TIMP-4 na procesy proliferacji i angiogenezy w dotychczasowych badaniach klinicznych, choć zanotowano znaczący wzrost jego stężenia pod wpływem działającego zwiłknieniowo TGF- β [15].

Badając wpływ różnych czynników na przebudowę naczyń podczas ciąży postanowiono porównać stężenia inhibitorów metaloproteinaz TIMP-2 i TIMP-4 we krwi kobiet ciężarnych w III trymestrze ciąży fizjologicznej oraz we krwi pępowinowej noworodków.

Cel pracy

Ocena wartości rozpuszczalnych inhibitorów zewnątrzkomórkowych metaloproteinaz TIMP-2 i TIMP-4 u kobiet ciężarnych w III trymestrze ciąży oraz we krwi pępowinowej.

Materiał i metoda

Badania przeprowadzone zostały w latach 2013-2015 w Klinice Patologii Ciąży I Katedry Ginekologii i Położnictwa Uniwersytetu Medycznego w Łodzi po uzyskaniu zgody uczelnianej Komisji Bioetycznej RNN/149/09/KE. Badaniem objęto grupę kobiet ciężarnych będących w ciąży o fizjologicznym przebiegu oraz prawidłowym odżywieniu wewnątrzmacicznym płodu, liczącą 29 pacjentek znajdujących się pomiędzy 37 a 40 tygodniem ciąży. Wszystkie ciężarne rozwiązywane były drogą cięcia cesarskiego w trybie planowym ze wskazań pozapołożniczych, niezwiązanych z zaburzeniami wzrastania płodu oraz zagrożeniem niedotlenieniem. U każdej z pacjentek w dzień planowanego zabiegu operacyjnego pobierano do badań krew żylną z żył zgięcia łokciowego oraz w trakcie operacji cięcia cesarskiego po zamknięciu pępowiny i odpepnieniu noworodka, krew pępowinową – osobno z naczyń tętniczych, osobno z żyły pępowinowej po około 5 ml celem przeprowadzenia oznaczeń stężeń TIMP-2 i TIMP-4.

Pobrany materiał umieszczano w próbkach przeznaczonych do wykonywania oznaczeń biochemicznych (bez obecności antykoagulantu). Próbkę krwi pozostawiano na około 60 minut – do czasu całkowitego wyrzepienia w temperaturze pokojowej, a następnie odwirowywano przez 15 minut przy szybkości 2000 obrotów/minutę.

Następnie oddzielną surowicę umieszczano w próbkach typu Eppendorff i zamrażano do temperatury -70 stopni Celsjusza aż do momentu przeprowadzenia oznaczeń. Bezpośrednio przed wykonaniem badań surowicę powoli rozmrażano w temperaturze pokojowej. Badania przeprowadzono za pomocą gotowych zestawów do oznaczania TIMP-2 i TIMP-4 firmy R&D Systems Elisa kit według zalecanego schematu badania.

Analiza statystyczna

Bazę danych uzyskanych od osób badanych utworzono w arkuszu kalkulacyjnym Microsoft Excel 2014. Obliczenia statystyczne wykonano wykorzystując program statystyczny SPSS 14.0 oraz MS Excel 2014. W badanej grupie, dla poszczególnych wartości stężeń badanych mediatorów obliczono statystyki opisowe takie jak średnia arytmetyczna, odchylenie standardowe, minimum oraz maksimum. Poszukując istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi grupami w wartościach badanych parametrów wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA. Za wyniki istotne statystycznie przyjęto te dla których $p < 0,05$.

Charakterystyka grupy

Średnia wieku w badanej grupie wynosiła 32,17 lat przy odchyleniu standardowym 3,83. Minimalny wiek w badanej grupie wyniósł 25 lat, najstarsza ciężarna miała 38 lat. Średni czas trwania ciąży wyniósł 38,67 tygodni przy odchyleniu standardowym 0,65. Minimalny czas trwania ciąży w tej grupie wyniósł 37 tygodni, zaś maksymalny 40 tygodni.

Wyniki

W badanej grupie kobiet ciężarnych oznaczono stężenia TIMP-2 w surowicy krwi matczynej i pępowinowej noworodka a uzyskane wyniki przedstawiono w ng/ml w tabeli I.

Średnie stężenie TIMP-2 we krwi matczynej wynosiło 101,27 ng/ml, w tętniczej krwi pępowinowej 108,88 ng/ml, w pępowinowej krwi żyłnej 108,28 ng/ml. Oceniając uzyskane wartości TIMP-2 nie stwierdzono istotnych różnic między krwią matczyną i krwią pępowinową, zarówno tętniczą jak i żylną [$p > 0,05$].

Norma stężenia TIMP-2 przyjęta w literaturze wynosiła: od 23 do 328 ng/ml. Interpretując według tych norm uzyskane w badaniu wartości nie stwierdzono istotnych odchyżeń od podanego zakresu norm wartości TIMP-2 w badanych próbkach. Wyniki przedstawiono na rycinie 1.

Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu TIMP-2 między badanymi próbkami (krew matki vs. krew tętnicza vs. krew żylna noworodka), co potwierdzają testy Anova i *post hoc* – wszędzie istotność $p > 0,05$.

Następnie ocenie poddano stężenie TIMP-4 we krwi matczynej oraz we krwi uzyskanej z naczyń pępowinowych – osobno krwi tętniczej i żyłnej. Uzyskane w pg/ml wyniki przedstawiono w tabeli II.

Średnie stężenie TIMP-4 we krwi matczynej wynosiło 726,73 pg/ml, w tętniczej krwi pępowinowej 529,95 pg/ml, w pępowinowej krwi żyłnej 537,87 pg/ml. Oceniając uzyskane wartości TIMP-4 stwierdzono istotną różnicę pomiędzy krwią matczyną i krwią pępowinową, zarówno tętniczą jak i żylną [$p < 0,05$].

Norma stężenia TIMP-4 według dostępnych danych wynosiła od 460 do 2661 pg/ml. Interpretując według tych norm uzyskane w badaniu wartości nie stwierdzono podwyższonych wartości TIMP-4 w badanych próbkach. Wyniki przedstawiono na rycinie 2.

Uzyskano w prawie połowie przypadków [46.5%] obniżenie wartości stężeń poniżej ogólnej normy we krwi noworodkowej – bez względu na charakter naczynia – tętnicze/żyłne, we krwi matczynej odsetek obniżonych wartości stężeń wynosił 7,7%.

Na uwagę zasługuje porównanie wartości stężeń TIMP-4

Agata Karowicz-Bilińska et al. Ocena stężeń tkankowych inhibitorów metaloproteinaz TIMP-2 i TIMP-4 w III trymestrze ciąży.

Tabela I. Stężenie TIMP-2 we krwi matczynej i pępowinowej w ng/ml.

	Średnie stężenie	SD	Minimum	Maximum
Krew matczyzna	101,27	20,67	62,95	143,20
Krew tętnicza noworodka	108,88	17,22	89,70	134,65
Krew żylna noworodka	108,28	14,69	78,40	131,15

Tabela II. Stężenie TIMP-4 we krwi matczynej i pępowinowej w pg/ml.

	Średnie stężenie	SD	Minimum	Maximum
Krew matczyzna	726,73	186,52	393,58	1038,66
Krew tętnicza noworodka	529,95	187,92	296,01	926,86
Krew żylna noworodka	537,87	237,59	254,85	1147,80

między tymi uzyskanymi z krwi matki a z krwi tętnicznej noworodka. Istotność w testach post hoc wyniosła $p = 0,05$ czyli jest równa przyjętemu poziomowi istotności. Zbadanie liczniejszej grupy mogłoby być może przynieść istotne statystycznie różnice w wynikach. We krwi matki można zaobserwować istotnie wyższe wartości stężeń TIMP-4 w porównaniu z krwią tętniczną noworodka.

Dyskusja

Tkankowy inhibitor metaloproteinazy-2 będący glikoproteina o działaniu przeciw macierzowym metaloproteinazom uznawany jest za czynnik prognostyczny w niektórych procesach nowotworowych. Wysoka ekspresja TIMP-2 uznawana jest za dobry czynnik prognostyczny w chorobach przebiegających z proliferacją naczyń kapilarnych [8, 9].

Uzyskanie w badanych próbkach krwi żyłnej kobiety ciężarnej oraz we krwi pępowinowej wartości nie różniących się istotnie i zgodnych z normami przyjętymi dla populacji osób dorosłych jest najprawdopodobniej związane z brakiem zjawiska hamowania procesu proliferacji naczyń kapilarnych w III trymestrze ciąży oraz u płodu eutroficznego w ciąży donoszonej.

W badaniach przeprowadzonych przez Valente i wsp. potwierdzono, że brak równowagi między żelatynazą-A i TIMP-2 może spowodować degradację macierzy zewnątrzkomórkowej skutkującą zaburzeniami procesów angiogenezy. Wysoka ekspresja TIMP-2 wpływa na ograniczenie migracji komórek endotelialnych hamując neoangiogenezę [16]. Może to mieć wpływ na prawidłowe funkcjonowanie kosmków, a tym samym właściwą perfuzję łożyskową i odżywienie wewnątrzmaciczne płodu. Potwierdzałoby to uzyskanie prawidłowych wartości w przeprowadzonym badaniu, jako efektu prawidłowej funkcji łożyska.

Podwyższoną ekspresję TIMP-2 stwierdzano również w doczesnej pierwszej ciąży u kobiet, u których występowało zwiększone krwawienie po poronieniu indukowanym farmakologicznie, co może wskazywać na nieprawidłowy remodeling naczyń [17].

Jak dotąd brak jest zgodności, co do roli TIMP-2 w powstawaniu powikłań ciąży, takich jak nadciśnienie indukowane ciążą czy zespół ograniczonego wzrastania płodu. Niektórzy autorzy stwierdzają niższą aktywność TIMP-2 w kosmkach trofoblastu w ciążyach o fizjologicznym przebiegu, a podwyższone wartości w przypadku nadciśnienia tętniczego i hipotrofii wewnątrz-

macicznej [9, 10]. W innych opracowaniach nie stwierdzano różnic w ekspresji TIMP-2 w łożysku w ciążach powikłanych nadciśnieniem tętniczym lub hipotrofią wewnątrzmaciczną płodu w porównaniu do ciąży o niepowikłanym przebiegu z płodami eutroficznymi [11]. Takie zróżnicowanie wyników może być zależne od wartości stężeń TIMP-2, gdzie niskie stężenia powodują wzrost ekspresji MMP-2, a wysokie blokują aktywność MMP-2 [2, 9]. Oprócz regulowania ekspresji metaloproteinazy-2 TIMP-2 posiada również zdolność do hamowania aktywności innych metaloproteinaz [13].

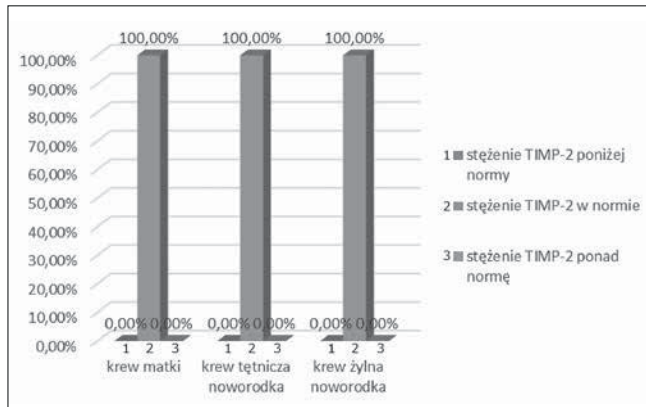
Pobudzenie działania TIMP-2 przez działanie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych może mieć ochronne znaczenie przed proteolitycznym działaniem metaloproteinaz macierzowych na błonę podstawną komórki. Może to zwrócić w przyszłości uwagę na prewencyjne stosowanie w diecie tego rodzaju kwasów tłuszczowych [18].

Badając obwodowe stężenie tkankowego inhibitora proteiny-4 [TIMP-4] stwierdzono w niemal połowie przypadków obniżenie wartości stężeń we krwi pępowinowej poniżej ogólnej normy – bez względu na rodzaj naczynia – tętnicze czy żyłne. Niższe niż przyjęta ogólna norma stężenia TIMP-4 we krwi matki oraz stwierdzone istotnie wyższe wartości stężeń TIMP-4 w porównaniu z krwią tętniczną noworodka mogą mieć związek z brakiem pobudzenia procesu tworzenia nowych naczyń w III trymestrze ciąży i zakończeniem procesu angiogenezy u płodu.

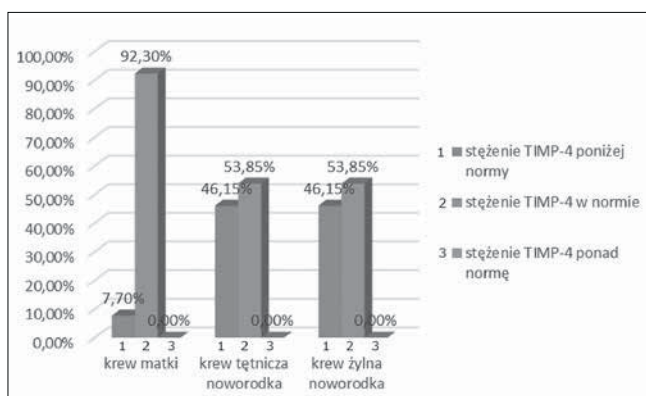
TIMP-4 przez swoje zdolności do wiązania i unieczynniania MMP-1,2,3,7,9 może skutecznie blokować degradację ECM, a przez unieczynnienie MMP-14 hamować również procesy autokatalityczne. Uzyskane w badaniu wyniki mogą w takim razie również sugerować obecność mniejszego pobudzenia systemu obrony przed degradacją ECM w organizmie płodu w III trymestrze ciąży w porównaniu do organizmu matki. Można ten fakt interpretować również niedojrzałością płodowych systemów ochrony macierzy zewnątrzkomórkowej przed degradacją [19].

Zachowanie równowagi między TIMP-2 i TIMP-4 prawdopodobnie jest najważniejszym czynnikiem wpływającym na skłonność do dezintegracji komórki zarówno w procesach przemian fizjologicznych jak i w warunkach zmian patologicznych. Proces ten regulowany jest przez wspólny kompetycyjny wpływ TIMP-2 i 4 na obniżenie aktywowania proenzymów metaloproteinaz MMP-2 i MMP-14 [20].

Agata Karowicz-Bilińska et al. Ocena stężeń tkankowych inhibitorów metaloproteinaz TIMP-2 i TIMP-4 w III trymestrze ciąży.



Rycina 1. Rozkład wyników pomiaru stężenia TIMP-2 w odniesieniu do zakresu norm.



Rycina 2. Wartości stężeń TIMP-4 w odniesieniu do zakresu norm.

Również w badaniach przeprowadzonych przez Radomskiego i wsp. wykazano znaczącą rolę TIMP-4 w hamowaniu działania metaloproteinaz w płytkach krwi, co skutkuje obniżeniem pobudzenia agregacji płytek zachodzącej w efekcie działania trombiny i kolagenu. TIMP-4 zdolny jest również częściowo hamować aktywność płytek [21].

Wnioski

1. Brak pobudzenia syntezy TIMP-2 w III trymestrze ciąży fizjologicznej świadczyć może o stabilnym procesie tworzenia naczyń.
2. Obserwowany spadek stężenia TIMP-4 potwierdza brak uszkodzenia naczyń krwionośnych i pobudzenia procesu angiogenezy zarówno matki jak i u płodu w III trymestrze ciąży fizjologicznej.

Oświadczenie autorów

1. Agata Karowicz-Bilińska – autorka koncepcji i założeń pracy, analiza i interpretacja wyników, przygotowanie manuskryptu i piśmiennictwa-autor zgłaszający i współodpowiedzialny za manuskrypt.
2. Urszula Kowalska-Koprek – współautorka tekstu opracowania oraz protokołu badawczego, korekta opracowania i literatury, autor współodpowiedzialny za manuskrypt
3. Dorota Estemberg – zebranie materiału, przygotowanie materiału i literatury, współautorstwo opracowania
4. Anita Sikora-Szubert – przygotowanie materiału badawczego, analiza statystyczna wyników, współautorstwo i korekta opracowania.

Źródło finansowania:

Badania finansowane z funduszy NCN- NN407 242640/ 503100404.

Konflikt interesów:

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów oraz nie otrzymali żadnego wynagrodzenia związanego z powstawaniem pracy

Piśmiennictwo

1. Bonnema D, Webb C, Pennington, [et al.]. Effect of age on plasma matrix metalloproteinases [MMPs] and tissue inhibitor of metalloproteinases [TIMPs]. *J Card Fail.* 2007, 13, 530-540.
2. Divya S, Sanjeev Srivastava, Tapas K. Chaudhuri et al. Multifaceted role of matrix metalloproteinases (MMPs) *Front Mol Biosci.* 2015, 2, 19-23.
3. Koskivirta I, Rankonen O, Mayranpaa M, [et al.]. Tissue inhibitors of metalloproteinases 4 [TIMP-4] is involved in inflammatory processes of human cardiovascular pathology. *Biochem Cell Biol.* 2006, 126, 335-342.
4. Hu J, Van Den Steen PE, Sang QX, [et al.]. Matrix metalloproteinase inhibitors as therapy for inflammatory and vascular diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2007, 6, 480-498.
5. Candelario-Jalil E, Yang Y, Rosenberg GA. Diverse roles of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in neuroinflammation and cerebral ischemia. *Neuroscience.* 2009, 158, 983-994.
6. Zhu L, Yu H, Liu SY, [et al.]. Prognostic value of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2015, 23, 10-13.
7. Qian Q, Wang Q, Zhan P. The role of matrix metalloproteinase-2 on the survival of patients with non-small cell lung cancer: a systematic review with meta-analysis. *Cancer Invest.* 2010, 28, 661-669.
8. Świerczewski A, Kobos J, Pasiński J, [et al.]. Ekspresja metaloproteinazy MMP-9 oraz tkankowego inhibitora metaloproteinazy TIMP-2 w łożyskach u ciężarnych z wewnątrzmacicznym ograniczeniem wzrastania płodu. *Ginekol Pol.* 2012, 83, 439-445.
9. Seval Y, Akkoyunlu G, Demir R, Asar M. Distribution patterns of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and -9 and their inhibitors (TIMP-1 and TIMP-2) in the human decidua during early pregnancy. *Acta Histochem.* 2004, 106, 353-362.
10. Xu P, Wang Y, Piao Y, [et al.]. Effects of matrix proteins on the expression of matrix metalloproteinase-2, -9, and -14 and tissue inhibitors of metalloproteinases in human cytotrophoblast cells during the first trimester. *Biol Reprod.* 2001, 65, 240-246.
11. Wang H, Li Q, Shao L, Zhu C. Expression of matrix metalloproteinase-2, -9, -14, and tissue inhibitors of metalloproteinase-1, -2, -3 in the endometrium and placenta of rhesus monkey (*Macaca mulatta*) during early pregnancy. *Biol Reprod.* 2001, 65, 31-40.
12. Zhao Y, Xiao A, Cao X, Zhu C. Expression of matrix metalloproteinase -2, -9 and tissue inhibitors of metalloproteinase -1, -2, -3 mRNAs in rat uterus during early pregnancy. *Mol Reprod Dev.* 2002, 62, 149-158.
13. Groff LL. Differential expression and localization of TIMP-1 and TIMP-4 in human gliomas. *Br J Cancer.* 2001, 85, 55-63.
14. Guo Y, [et al.]. Adenovirus-mediated transfer of TIMP-4 gene inhibits neointimal formation after balloon injury. *Beijing Da Xue Xue Bao.* 2003, 35, 434-437.
15. Koskivirta I, [et al.]. Tissue inhibitor of metalloproteinases 4 (TIMP4) is involved in inflammatory processes of human cardiovascular pathology. *Histochem Cell Biol.* 2006, 126, 335-342.
16. Valente P, Fassina G, Melchiori A. TIMP-2 overexpression reduces invasion and angiogenesis and protects B16F10 melanoma cells from apoptosis. *Int J Cancer.* 1999, 80, 485-487.
17. Zhuang Y, Qian Z, Huang L. Elevated expression levels of matrix metalloproteinase-9 in placental villi and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in decidua are associated with prolonged bleeding after mifepristone-misoprostol medical abortion. *Fertil Steril.* 2014, 101, 166-171.
18. Emeraker NJ, Calaf GM, Cox D. Short-chain fatty acids inhibit invasive human colon cancer by modulating uPA, TIMP-1, TIMP-2, mutant p53, Bcl-2, Bax, p21 and PCNA protein expression in an in vitro cell culture model. *J Nutr.* 2001, 131, 3041S-3046S.
19. Hernandez-Barrantes S, [et al.]. Differential roles of TIMP-4 and TIMP-2 in pro-MMP-2 activation by MT1-MMP. *Biochem Biophys Res Comm.* 2001, 281, 126-130.
20. Stracke JO, Fosang AJ, Last K, [et al.]. Matrix metalloproteinases 19 and 20 cleave aggrecan and cartilage oligomeric matrix protein (COMP). *FEBS Lett.* 2000, 28, 52-56.
21. Radomski A. Identification, regulation and role of tissue inhibitor of metalloproteinases-4 (TIMP-4) in human platelets. *Br J Pharmacol.* 2002, 137, 1330-1338.