

# ВЛИЯНИЕ ИНДУЦИРОВАННОГО ВОСПАЛЕНИЯ НА МЕТАБОЛИЗМ КОЛЛАГЕНА В АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКИХ БЛЯШКАХ У МЫШЕЙ

Шляхто Е.В.<sup>1</sup>, Гавришева Н.А.<sup>2</sup>, Овчинникова О.А.<sup>1</sup>, Ханссон Г.К.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, кафедра факультетской терапии, Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, кафедра патофизиологии, Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Центр молекулярной медицины, Каролинский институт, Стокгольм, Швеция

**Резюме.** Медиаторы воспаления могут играть существенную роль в дестабилизации атеросклеротической бляшки, нарушая баланс между образованием коллагена и его деградацией в фиброзной капсуле. У трансгенных мышей проведена оценка влияния индуцированного воспаления на экспрессию факторов посттрансляционной модификации и деградации коллагена — пролил-4-гидроксилазы, матриксных металлопротеиназ-2, -9 (MMP-2, -9) и тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 (TIMP-1). Было обнаружено, что в условиях значительного повышения уровня интерферона- $\gamma$  и интерлейкина-1 $\beta$  синтез пролил-4-гидроксилазы и MMP-9 снижается, в то время как продукция коллагена, MMP-2 и TIMP-1 не нарушается.

**Ключевые слова:** атерома, воспаление, коллаген, металлопротеиназы, мыши.

*Shlyakhto E.V., Gavrisheva N.A., Ovchinnikova O.A., Hansson G.K.*

## INFLUENCE OF INDUCED INFLAMMATION UPON COLLAGEN METABOLISM OF UNSTABLE ATHEROSCLEROTIC PLAQUE IN MURINE MODEL

**Abstract.** Mediators of inflammation may play a sufficient role in destabilization of atherosclerotic plaque, disturbing the balance between collagen formation and its degradation in fibrotic capsule. Using a transgenic murine model, the effects of induced inflammation upon expression of factors determining posttranslational modification and degradation of collagen, i.e., prolyl-4-hydroxylase, matrix metalloproteinases-2, -9 (MMP-2, -9), and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP-1) were evaluated. It has been shown that, under significant increase of interferon- $\gamma$  and interleukin-1 $\beta$ , the synthesis of prolyl-4-hydroxylase and MMP-9 is decreased, whereas expression of collagen, MMP-2 and TIMP-1 genes was not changed. (*Med. Immunol.*, vol. 10, N 6, pp 507-512)

## Введение

Результаты исследований многих авторов свидетельствуют о том, что воспалительный процесс

играет ключевую роль как в формировании атеросклеротической бляшки, так и в ее дестабилизации [1-5]. Как известно, основными характеристиками нестабильной атеросклеротической бляшки являются увеличенное мягкое липидное «ядро» и истонченная фиброзная капсула [4, 5]. В местах истончения и разрыва капсулы атеромы отмечается значительное скопление активных иммунокомпетентных клеток — лимфоцитов, макрофагов и тучных клеток [1]. Предполагается, что секретируемые воспалительными клетками медиаторы

### Адрес для переписки:

Гавришева Наталья Алексеевна,  
кафедра патофизиологии Санкт-Петербургского  
государственного медицинского университета  
им. акад. И.П. Павлова.  
197342, Санкт-Петербург, ул. Торжковская, 11,  
кв. 147.

и протеолитические ферменты способны нарушать структуру компонентов капсулы бляшки [2, 4, 6].

Согласно современным представлениям стабильность атеросклеротической бляшки зависит от целостности ее фиброзной капсулы [4], структурными компонентами которой являются миофибробласты и фибриллярный коллаген I и III типов [7]. Известно, что фибриллярный коллаген обладает значительной механической прочностью за счет уникальной трехцепочечной структуры волокон [8]. Предполагается, что основными патогенетическими звеньями истончения («ослабления») и последующего разрыва фиброзной капсулы могут быть как снижение синтеза коллагена в миофибробластах, так и усиление его протеолитического распада под влиянием медиаторов воспаления [5].

По мнению ряда авторов, существенную роль в «ослаблении» капсулы атеромы играют Т-лимфоциты, а именно Т-хелперы I типа [5, 9]. Показано, что интерферон- $\gamma$ , основной цитокин Т-хелперов I типа, обладает способностью оказывать прямое цитотоксическое влияние на миофибробласты, ингибировать их пролиферацию, а также снижать синтез коллагена в этих клетках [10, 11]. Обнаружено, что посредством механизма рецепторно-опосредованного взаимодействия Т-лимфоциты могут усиливать секрецию проатерогенных цитокинов, таких как интерлейкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) и фактор некроза опухоли- $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) [5], а также протеолитических ферментов в клетках атеромы [12], потенцируя тем самым воспалительные и деструктивные процессы в стенке сосуда.

Как отмечалось выше, важнейшим фактором дестабилизации атеросклеротической бляшки является протеолитическая деградация компонентов фиброзной капсулы, в механизме развития которой в настоящее время большое внимание уделяется матричным металлопротеиназам (ММР), семейству цинк-зависимых протеиназ [4, 6, 13]. Однако описанные в литературе результаты клинических и экспериментальных исследований носят противоречивый характер. Так, например, по данным ряда профильных клинических исследований в наиболее ранимых зонах атером и в местах выраженной воспалительной инфильтрации наблюдается повышенное содержание и активация ММР-2 и -9, представителей подсемейства желатиназ [14, 15]. Также отмечается тесная корреляционная связь между повышенным уровнем ММР-2, -9 и медиаторами воспаления в атеросклеротических бляшках и в плазме крови пациентов [16, 17]. Кроме того, предлагается рассматривать коэффициент отношения уровня ММР-9 к тканевому ингибитору металлопротеиназ-1 (tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1) в качестве независимого предиктора остроты ишемической болезни сердца [18]. По результатам генетических исследований, полиморфизм гена, кодирующего ММР-9, оцени-

вается как фактор риска более агрессивного течения ишемической болезни сердца [19].

Однако показано, что клинические исследования не позволяют четко проследивать причинно-следственную связь между повышенным уровнем ММР и симптомами дестабилизации атеросклеротической бляшки [6]. Между тем, рядом авторов приводятся данные, основанные на анализе результатов исследований, проведенных на генетически модифицированных животных, которые свидетельствуют об атеропротективном и стабилизирующем действии некоторых ММР [6, 20].

Целью настоящей работы является изучение влияния экспериментального воспаления на возникновение структурных изменений коллагена в атеросклеротических бляшках у трансгенных мышей.

## Материалы и методы

Настоящее исследование проводили на моделях генетически модифицированных мышей, в разной степени подверженных атерогенезу. В частности, использовалась экспериментальная модель мышей (далее в тексте мы называем эту группу животных *трансгенные мыши*), которая была воспроизведена на основе линии мышей с врожденной гиперхолестеринемией (Арое-/нокаутные мыши; далее, *контрольные мыши*) [21]. У трансгенных мышей на всех Т-лимфоцитах отсутствовал нормально функционирующий рецептор к противовоспалительному и основному профиброгенному цитокину TGF $\beta$ , что проявлялось выраженной воспалительной реакцией за счет гиперактивации Т-лимфоцитов, большей инфильтрации атеросклеротических бляшек макрофагами и Т-лимфоцитами по сравнению с группой контрольных мышей, а также увеличенной экспрессией большого комплекса гистосовместимости II класса на поверхности большинства клеток атером, что обусловило ранее развитие и нестабильное течение атеросклеротического процесса [21]. Таким образом, описанная уникальная экспериментальная модель трансгенных мышей может быть использована для оценки влияния выраженного воспаления на отдельные патогенетические звенья дестабилизации атеромы *in vivo*.

В результате наших предыдущих исследований показано преобладание тонких (незрелых) коллагеновых волокон и значительное уменьшение количества толстых (зрелых) коллагеновых волокон в атеросклеротических бляшках трансгенных мышей по сравнению с контрольной группой [22]. Быстрая динамика развития атеросклероза, выраженное местное воспаление, а также измененная организация структуры коллагена в бляшках позволили предположить наличие нестабильного фенотипа атером у трансгенных мышей, что послужило основанием для проведения дальнейших исследований по изучению механизмов структурных изменений коллагена на данной модели животных.

В работе использовали самок трансгенных мышей в возрасте 12 недель и самок контрольных мышей в возрасте 18 недель, по 9 животных в каждой группе. Подобная разница в возрасте была обусловлена тем, что сравнимые по величине атеросклеротические бляшки формировались у мышей контрольной группы позже, чем у трансгенных мышей [21]. Мышей содержали на обычной диете [23]. Все эксперименты проводили в соответствии с принятыми этическими нормами по работе с лабораторными животными [24].

Для количественной оценки экспрессии генов в атеросклеротически измененных аортах экспериментальных мышей использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени, позволяющий оценить прирост продукта амплификации комплементарной ДНК (к-ДНК), что косвенно свидетельствует о количестве мРНК (транскрипта) интересующего гена [25]. С этой целью из замороженной ткани атеросклеротически пораженной мышинной аорты выделяли матричную РНК (мРНК) с помощью коммерческого набора для выделения мРНК («Qiagen», USA) по прилагаемой к набору инструкции, проводили ее качественную и количественную оценку с помощью биоанализатора на основе капиллярного электрофореза («BioAnalyzer», Germany), а затем подвергали обратной транскрипции в к-ДНК с использованием случайных праймеров-гексамеров на аппарате для амплификации ДНК («Thermal Cycler», USA). Полученную к-ДНК амплифицировали с помощью реакции ПЦР в реальном времени стандартным методом Taqman с использованием меченных флуоресцентной меткой реагентов [25].

Нами проводилось исследование экспрессии генов интерферона- $\gamma$ , интерлейкина-1 $\beta$ , альфа-цепей проколлагена 1 и 3 типа, альфа- и бета-субъединиц коллаген-специфичного фермента пролил-4-гидроксилазы, MMP-2 и -9, TIMP-1, а также гена TATA-бокс связывающего белка (TATA box binding protein, TATAbbp). Экспрессию гена TATAbbp использовали в качестве внутреннего контроля качества и количества мРНК, выделенной из отдельного образца, поскольку кодируемый этим геном белок экспрессируется в клетке на постоянном уровне [25]. Количественный показатель экспрессии изучаемого гена в каждом образце определяли путем сравнения со значением на стандартной кривой и выражали в относительных единицах (отн. ед.). Стандартные кривые строили для каждого из определяемых генов на основе данных, полученных при амплификации к-ДНК одного из образцов мышинных аорт в разведении 1/10, 1/100 и 1/1000 на том же 96-луночном планшете.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью компьютерных программ «Microsoft Excel 2003» и «StatView» («SAS Institute», USA). Достоверность различий рассчитывали по непараметрическим критериям

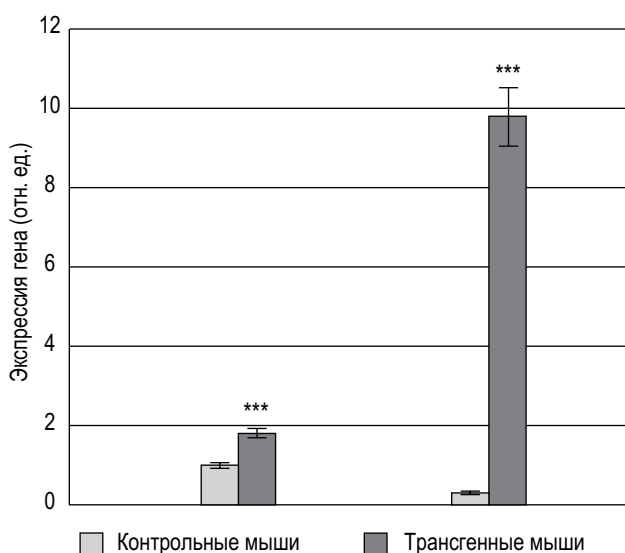
Манна–Уитни. Различия между группами животных считались достоверными при значении доверительной вероятности ( $p$ ) менее 0,05.

## Результаты

На рисунке 1 представлены результаты количественной оценки экспрессии генов IFN $\gamma$  и IL-1 $\beta$  в атеросклеротически измененных аортах исследуемых мышей, полученные методом ПЦР в реальном времени. Как видно из рисунка, у трансгенных мышей экспрессия генов IFN $\gamma$  и IL-1 $\beta$  достоверно повышена ( $9,7 \pm 0,9$  отн. ед. для IFN $\gamma$  и  $1,6 \pm 0,2$  отн. ед. для IL-1 $\beta$ ) по сравнению с экспрессией генов в группе контрольных мышей ( $0,2 \pm 0,03$  и  $0,6 \pm 0,1$  отн. ед. соответственно,  $p < 0,001$ ).

Результаты исследований, представленные на рисунке 2, показывают сравнение экспрессии генов альфа-цепей проколлагена 1 и 3 типа, а также альфа- и бета-субъединиц коллаген-специфичного фермента пролил-4-гидроксилазы (П4Г) в аортах трансгенных мышей с экспрессией этих же генов в аортах мышей контрольной группы. Показатель экспрессии гена у трансгенных животных представлен в процентах от экспрессии гена в контрольной группе, принятой за 100%. Изменения экспрессии мРНК альфа-цепей проколлагенов 1 и 3 типов в группе трансгенных мышей не являются достоверными по сравнению с контрольными мышами, на что указывает значение доверительной вероятности 0,2 для обоих генов (рис. 2).

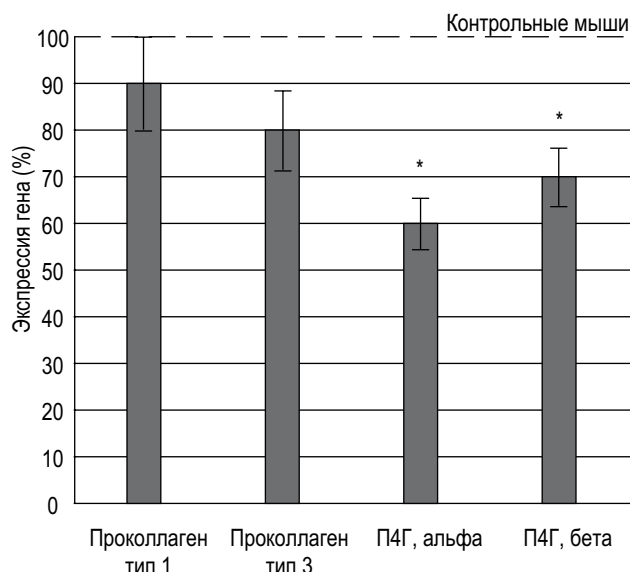
Как видно из рисунка 2, экспрессия генов двух субъединиц П4Г соответственно на 40%



**Рисунок 1. Экспрессия генов IFN- $\gamma$  и IL-1 $\beta$  в атеросклеротически измененных аортах трансгенных и контрольных мышей (метод ПЦР в реальном времени)**

**Примечания.** По оси абсцисс – количественное значение экспрессии гена в относительных единицах.

\*\*\* – увеличение экспрессии гена по сравнению с контрольной группой достоверно ( $p < 0,0001$ ).



**Рисунок 2. Экспрессия генов проколлагена и пролил-4-гидроксилазы (П4Г) в атеросклеротически измененных аортах трансгенных мышей и контрольных мышей**

**Примечания.** Значения экспрессии генов контрольной группы приняты за 100% (пунктирная линия).

По оси абсцисс – изменение экспрессии гена (в процентах).

\* – изменение экспрессии гена по сравнению с контрольной группой достоверно ( $p < 0,05$ ).

и на 30% меньше у трансгенных мышей, чем у мышей контрольной группы. Значение вероятной разницы полученных различий менее 0,05 для обоих генов позволяет нам считать указанные результаты статистически достоверными.

При исследовании состояния протеолитической деградации коллагена фиброзной капсулы не было обнаружено достоверных различий в экспрессии генов MMP-2:  $3,8 \pm 0,3$  отн. ед. у трансгенных мышей и  $3,0 \pm 0,5$  отн. ед. в группе контрольных мышей ( $p = 0,08$ ) и TIMP-1 ( $5,7 \pm 0,2$  и  $6,2 \pm 0,7$  отн. ед. соответственно,  $p = 0,57$ ) между двумя группами мышей. Между тем, экспрессия гена MMP-9 была достоверно уменьшена в аортах

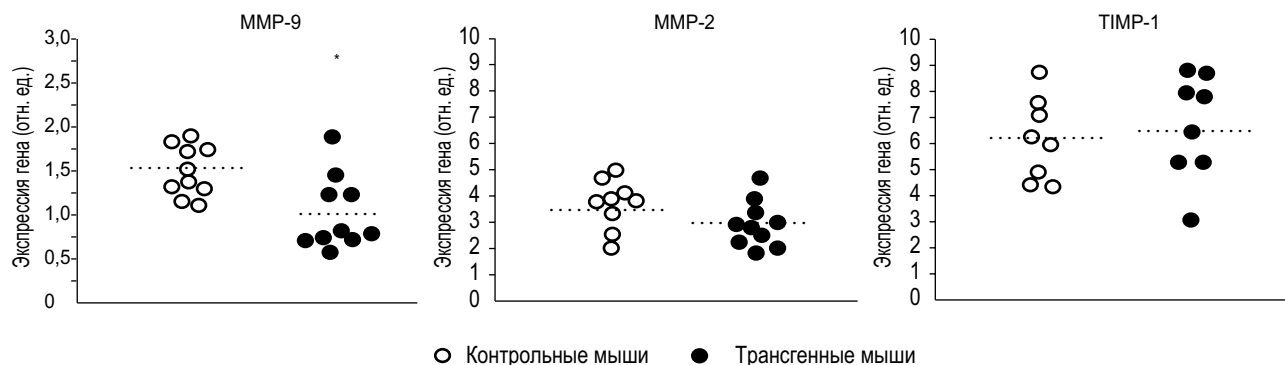
трансгенных животных по сравнению с контрольной группой и составила  $1,5 \pm 0,3$  и  $1,0 \pm 0,3$  отн. ед. соответственно ( $p < 0,05$ ) (рис. 3).

## Обсуждение

В результате проведенных нами исследований было обнаружено, что в условиях воспаления, экспериментально индуцированного в атеросклеротической бляшке мыши, экспрессия коллагена не изменяется, тогда как экспрессия коллаген-модифицирующего фермента пролил-4-гидроксилазы и металлопротеиназы-9 снижается (рис. 2 и 3).

Согласно современным представлениям, активация местной воспалительной реакции приводит к «ослаблению» фиброзной капсулы атеросклеротической бляшки [5]. Результаты ряда экспериментов с использованием клеточных культур указывают на прямое цитотоксическое и коллаген-ингибирующее влияние  $IFN\gamma$  [10, 11]. Однако в наших исследованиях данные эффекты  $IFN\gamma$  в тканях трансгенных мышей не подтвердились несмотря на то, что экспрессия  $IFN\gamma$  в них была значительно повышена (рис. 1).

В атеросклеротических бляшках трансгенных мышей, характеризующихся выраженной лимфоцитарной и макрофагальной инфильтрацией, нами не было обнаружено уменьшения экспрессии генов фибриллярных коллагенов 1 и 3 типа (рис. 2). Подобный результат, возможно, связан с обнаруженной нами в атеросклеротических бляшках этих животных повышенной продукцией  $IL-1\beta$  (рис. 1), который, как известно, стимулирует синтез коллагена, а также обладает прямым и опосредованным митогенным действием на миофиibroblasts [11]. Отсутствие изменений экспрессии генов коллагена в условиях выраженного воспаления *in vivo* позволяет сделать предположение о наличии баланса профиброгенных и антифиброгенных медиаторов в атеросклеротических бляшках экспериментальных животных, направленного на сохранение структуры ткани



**Рисунок 3. Количественная оценка экспрессии генов MMP-2, -9 и TIMP-1 в атеросклеротически измененных мышечных аортах методом ПЦР в реальном времени**

**Примечания.** По оси абсцисс – количественное значение экспрессии гена в относительных единицах.

\* – изменение экспрессии гена по сравнению с контрольной группой достоверно ( $p < 0,05$ ).

в экстремальных условиях, что, безусловно, требует дальнейшего изучения.

Формирование стабильных коллагеновых волокон во многом зависит от правильной модификации первичных коллагеновых цепей на посттрансляционном уровне [8, 26]. Этапы внутриклеточной модификации включают в себя гидроксилирование некоторых пролиновых и лизиновых остатков под действием коллагеновых гидроксилаз, образование внутри- и межмолекулярных дисульфидных связей и формирование трехспиральной конформации молекулы [8]. Образование уникальной трехцепочечной спиральной структуры коллагена, обеспечивающей стабильность волокон, зависит от достаточного содержания гидроксилированного пролина в первичной аминокислотной последовательности проколлагена, что возможно при наличии достаточной продукции фермента пролил-4-гидроксилазы [26]. Ранее было показано, что при снижении содержания гидроксипролина в проколлагеновой цепи уменьшается термостабильность волокон коллагена и их устойчивость к воздействию протеиназ. Более того, при этом нарушается способность коллагена связывать другие компоненты внеклеточного матрикса [26, 27]. Показано, что индуцированный алиментарный дефицит витамина С приводит к дестабилизации атеросклеротических бляшек у мышей [28]. В результате проведенных нами исследований было показано достоверное уменьшение экспрессии гена П4Г в аортах трансгенных мышей (рис. 2), что совпадает с ранее полученными данными, которые свидетельствуют об отрицательном влиянии IFN $\gamma$  на образование П4Г в культуре фибробластов [29]. Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что нарушение посттрансляционной модификации коллагеновых волокон может быть одной из причин нестабильности атеросклеротической бляшки при выраженном экспериментальном воспалении, характеризующемся усилением продукции IFN $\gamma$ .

Как отмечалось выше, неполноценность внеклеточного матрикса атеросклеротической бляшки может также быть связана с повышенной концентрацией таких протеолитических ферментов, как MMP, и снижением синтеза их ингибиторов [4, 6]. Наши исследования показали отсутствие изменения экспрессии генов MMP-2 и TIMP-1, в то время как экспрессия гена MMP-9 была достоверно снижена (рис. 3). Следует отметить, что результаты по изучению роли MMP в атеросклеротических бляшках носят противоречивый характер. Так, данные исследований ряда авторов свидетельствуют об увеличении продукции MMP-2 и -9 в атеросклеротических бляшках под действием воспалительных медиаторов [12, 14, 15]. Вместе с тем в работе других авторов описывается ингибирующее влияние рекомбинантного IFN $\gamma$  на экспрессию MMP-9 в культуре макрофагов [30]. Кроме того, существуют данные о том, что

при отсутствии функционирующего гена MMP-9 у мышей развиваются более крупные атеросклеротические бляшки со значительной макрофагальной инфильтрацией [20]. Известно также, что MMP-2 и -9 обладают способностью разрушать внутреннюю эластическую мембрану артерии и собственную базальную мембрану гладкомышечных клеток меди, тем самым способствуя миграции гладкомышечных клеток в интиму, где они приобретают качественно новый синтетический фенотип и таким образом стабилизируют атерому [6]. Полученные нами результаты подтверждают неоднозначность патогенетической роли желатиназ в дестабилизации атеромы при выраженном воспалении. Нельзя также исключить, что увеличение количества MMP-9, обнаруженное у пациентов с клиническими признаками нестабильности атеросклеротических бляшек [15, 16], может быть компенсаторной реакцией ткани на повреждение. Однако данные предположения требуют всестороннего изучения.

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что нарушение посттрансляционной модификации коллагеновых волокон может быть одной из причин нестабильности атеросклеротической бляшки при выраженном воспалении. Дальнейшее исследование для расширения знаний и понимания описанного процесса позволит определить перспективы для развития новых методов диагностики, профилактики и лечения острых осложнений атеросклероза.

## Список литературы

1. Нагорнев В.А., Яковлева О.А., Рабинович В.С. Атерогенез и воспаление // Мед. акад. журн. — 2001. — № 1. — С. 139-150.
2. Van der Wal A.C., Becker A.E., Van der Loos C.M., Das P.K. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology // Circulation. — 1994. — Vol. 89. — P. 36-44.
3. Frostegard J., Ulfgren A.K., Nyberg P., Hedin U., Swedenborg J., Andersson U., Hansson G.K. Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques: dominance of pro-inflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines // Atherosclerosis. — 1999. — Vol. 145. — P. 33-43.
4. Libby P., Aikawa M. Stabilization of atherosclerotic plaques: new mechanisms and clinical targets // Nat. Med. — 2002. — Vol. 8. — P. 1257-1262.
5. Hansson G.K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease // N. Engl. J. Med. — 2005. — Vol. 352. — P. 1685-1695.
6. Newby A.C. Dual role of matrix metalloproteinases (matrixins) in intimal thickening and atherosclerotic plaque rupture // Physiol. Rev. — 2005. — Vol. 85. — P. 1-31.



7. McCullagh K.G., Duance V.C., Bishop K.A. The distribution of collagen types I, III and V (AB) in normal and atherosclerotic human aorta // *J. Pathol.* — 1980. — Vol. 130. — P. 45-55.
8. Gelse K., Poschl E., Aigner T. Collagens — structure, function, and biosynthesis // *Adv. Drug Deliv. Rev.* — 2003. — Vol. 55. — P. 1531-1546.
9. Hansson G.K., Holm J., Jonasson L. Detection of activated T lymphocytes in the human atherosclerotic plaque // *Am. J. Pathol.* — 1989. — Vol. 135. — P. 169-175.
10. Hansson G.K., Hellstrand M., Rymo L., Rubbia L., Gabbiani G. Interferon gamma inhibits both proliferation and expression of differentiation-specific alpha-smooth muscle actin in arterial smooth muscle cells // *J. Exp. Med.* — 1989. — Vol. 170. — P. 1595-1608.
11. Amento E.P., Ehsani N., Palmer H., Libby P. Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells // *Arterioscler Thromb.* — 1991. — Vol. 11. — P. 1223-1230.
12. Schonbeck U., Mach F., Sukhova G.K., Murphy C., Bonnefoy J.Y., Fabunmi R.P., Libby P. Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vascular smooth muscle cells by T lymphocytes: a role for CD40 signaling in plaque rupture? // *Circ. Res.* — 1997. — Vol. 81. — P. 448-454.
13. Galis Z.S., Sukhova G.K., Lark M.W., Libby P. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques // *J. Clin. Invest.* — 1994. — Vol. 94. — P. 2493-2503.
14. Li Z., Li L., Zielke H.R., Cheng L., Xiao R., Crow M.T., Stetler-Stevenson W.G., Froehlich J., Lakatta E.G. Increased expression of 72-kd type IV collagenase (MMP-2) in human aortic atherosclerotic lesions // *Am. J. Pathol.* — 1996. — Vol. 148. — P. 121-128.
15. Loftus I.M., Naylor A.R., Goodall S., Crowther M., Jones L., Bell P.R., Thompson M.M. Increased matrix metalloproteinase-9 activity in unstable carotid plaques. A potential role in acute plaque disruption // *Stroke.* — 2000. — Vol. 31. — P. 40-47.
16. Molloy K.J., Thompson M.M., Schwalbe E.C., Bell P.R., Naylor A.R., Loftus I.M. Elevation in plasma MMP-9 following carotid endarterectomy is associated with particulate cerebral embolisation // *Eur. J. Vasc Endovasc Surg.* — 2004. — Vol. 27. — P. 409-413.
17. Formato M., Farina M., Spirito R., Maggioni M., Guarino A., Cherchi G.M., Biglioli P., Edelstein C., Scanu A.M. Evidence for a proinflammatory and proteolytic environment in plaques from endarterectomy segments of human carotid arteries // *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* — 2004. — Vol. 24. — P. 129-135.
18. Cheng M., Hashmi S., Mao X., Zeng Q.T. Relationships of adiponectin and matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio with coronary plaque morphology in patients with acute coronary syndrome // *Can. J. Cardiol.* — 2008. — Vol. 24. — P. 385-390.
19. Ye S. Influence of matrix metalloproteinase genotype on cardiovascular disease susceptibility and outcome // *Cardiovasc. Res.* — 2006. — Vol. 69. — P. 636-645.
20. Johnson J., George S., Newby A., Jackson C. Divergent effects of matrix metalloproteinases 3, 7, 9, and 12 on atherosclerotic plaque stability in mouse brachiocephalic arteries // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2005. — Vol. 102. — P. 15575-80.
21. Robertson A.K., Rudling M., Zhou X., Gorelik L., Flavell R.A., Hansson G.K. Disruption of TGF-beta signaling in T cells accelerates atherosclerosis // *J. Clin. Invest.* — 2003. — Vol. 112. — P. 1342-1350.
22. Шляхто Е.В., Гавришева Н.А., Овчинникова О.А., Робертсон А.К., Ханссон Г.К. Состояние межклеточного матрикса в атеросклеротической бляшке в условиях воспаления // *Бюллетень НИИ Кардиологии им. В.А. Алмазова.* — 2005. — № 3. — P. 29.
23. Reddick R.L., Zhang S.H., Maeda N. Atherosclerosis in mice lacking apo E. Evaluation of lesional development and progression // *Arterioscler Thromb.* — 1994. — Vol. 14. — P. 141-147.
24. Radzikowski C. Protection of animal research subjects // *Sci. Eng. Ethics.* — 2006. — Vol. 12. — P. 103-110.
25. Tricarico C., Pinzani P., Bianchi S., Paglierani M., Distanti V., Pazzagli M., Bustin S.A., Orlando C. Quantitative real-time reverse transcription polymerase chain reaction: normalization to rRNA or single housekeeping genes is inappropriate for human tissue biopsies // *Anal. Biochem.* — 2002. — Vol. 309. — P. 293-300.
26. Myllyharju J., Kivirikko K.I. Collagens, modifying enzymes and their mutations in humans, flies and worms // *Trends Genet.* — 2004. — Vol. 20. — P. 33-43.
27. Stultz C.M. Localized unfolding of collagen explains collagenase cleavage near imino-poor sites // *J. Mol. Biol.* — 2002. — Vol. 319. — P. 997-1003.
28. Libby P., Aikawa M. Vitamin C, collagen, and cracks in the plaque // *Circulation.* — 2002. — Vol. 105. — P. 1396-1398.
29. Koslowski R., Seidel D., Kuhlisch E., Knoch K.P. Evidence for the involvement of TGF-beta and PDGF in the regulation of prolyl 4-hydroxylase and lysyl oxidase in cultured rat lung fibroblasts // *Exp. Toxicol Pathol.* — 2003. — Vol. 55. — P. 257-264.
30. Saren P., Welgus H.G., Kovanen P.T. TNF-alpha and IL-1beta selectively induce expression of 92-kDa gelatinase by human macrophages // *J. Immunol.* — 1996. — Vol. 157. — P. 4159-4165.
- поступила в редакцию 03.07.2008  
отправлена на доработку 15.08.2008  
принята к печати 06.10.2008