

Polymorfismus v promotorové oblasti genu pro MMP-2 u revmatoidní artritidy

P. Němec^{1,2}, M. Goldbergová², T. Swobodník², D. Polášková², M. Souček¹, A. Vašků²

¹ *Revmatologická ambulance II. interní kliniky Lékařské fakulty MU a FN u sv. Anny, Brno, přednosta doc. MUDr. Miroslav Souček, CSc.*

² *Ústav patologické fyziologie Lékařské fakulty MU, Brno, přednostka prof. MUDr. Anna Vašků, CSc.*

Souhrn: Úvod: Matrix metaloproteinázy (MMP), které náleží do rodiny zinkdependentních endopeptidáz, se účastní remodelace extracelulární matrix v řadě fyziologických a patologických dějů, včetně revmatoidní artritidy (RA). Revmatoidní artritida je chronické autoimunitní, zánětlivé, multisystémové onemocnění charakterizované mimo jiné degradací hyalinní kloubní chrupavky a vystupňovanou angiogenezou. Tyto procesy mohou být ovlivňovány MMP. Na druhou stranu mohou MMP potlačovat zánět degradací biologicky aktivních molekul, jako jsou cytokiny, chemokiny či receptory růstových faktorů. V séru a synoviální tekutině pacientů s RA jsou prokazovány zvýšené hladiny MMP-2 (gelatináza A). Polymorfismus genu pro MMP-2 může ovlivňovat vnímavost ke vzniku a/nebo závažnost průběhu RA. **Metoda:** Cílem studie bylo prokázat možný vztah mezi polymorfizmy v promotorové oblasti genu pro MMP-2 (-1575 G/A, -1306 C/T, -790 T/G, -735 C/T) a RA. Do studie bylo zařazeno celkem 101 pacientů s RA, kteří splnili revidovaná diagnostická kritéria ACR, 1987 pro RA, s délkou trvání choroby minimálně 2 roky, a 101 zdravých dobrovolníků obdobné distribuce věku a pohlaví. **Výsledky:** Nebyl zjištěn rozdíl v genotypových distribucích ani frekvencích alel polymorfismů -1575A/G, -1306C/T a -735 C/T mezi pacienty s RA a kontrolní skupinou. Statisticky významný rozdíl byl pozorován mezi pacienty s RA a kontrolní skupinou v alelických frekvencích polymorfismu -790 T/G MMP-2 (T alela -0,70 vs 0,66, Pa = 0,013). Rovněž byla pozorována tendence k nárůstu genotypu GG u pacientů s RA (Pg = 0,053). Statisticky významný rozdíl v alelických frekvencích byl rovněž pozorován mezi muži s RA a muži v kontrolní skupině (T alela -0,80 vs 0,61, Pa = 0,025). Navíc haplotyp GCGC polymorfismů -1575 G/A, -1306 C/T, -790 T/G, -735 C/T byl častější u pacientů s RA (Pcorr = 0,016; OR = 0,09; konfidenční interval 0,00–0,65), zatímco haplotyp GCTC byl více zastoupen u kontrolní skupiny (Pcorr = 0,017; OR = 1,8; konfidenční interval 1,17–2,70). **Závěr:** Výsledky poukazují na možnou asociaci polymorfismu v promotorové oblasti genu pro MMP-2 s vnímavostí ke vzniku RA.

Klíčová slova: revmatoidní artritida – gen – polymorfismus – MMP-2

Polymorphism of gene promotor region for MMP-2 in rheumatoid arthritis

Summary: *Introduction:* Matrix metalloproteinase (MMP) belonging to family of zinc-dependent endopeptidases participates in remodelling of extracellular matrix in many physiological and pathological processes including rheumatoid arthritis (RA). Rheumatoid arthritis is a chronic autoimmune inflammatory multi-systemic disease characterized, among others, by degradation of hyaline articular cartilage and escalated angiogenesis. As a matter of fact, these processes may be influenced by MMP. On the other hand, MMP can suppress inflammation by degrading biologically active molecules like cytokines, chemokines or growth factor receptors. Increased levels of MMP-2 (gelatinase A) are observed in serum and synovial fluid of patients with RA. Gene polymorphism for MMP-2 can affect susceptibility to development and/or severity of RA. *Method:* The aim of the study was to prove possible association of polymorphisms in gene promotor region for MMP-2 (-1575 G/A, -1306 C/T, -790 T/G, -735 C/T) with RA. We worked with 101 patients with RA who met reviewed diagnostic criteria of ACR (1987) for RA, and suffer from RA for at least 2 years. Control group consisted of 101 healthy volunteers of similar age and gender distribution. *Results:* RA patients and control group did not differ in genotype distributions or frequencies of alleles of polymorphisms -1575A/G, -1306C/T and -735 C/T. Significant difference was observed between RA patients and control group in allelic frequencies of polymorphism -790 T/G MMP-2 (T allele -0.70 vs. 0.66, Pa = 0.013). Also, a tendency of GG genotype growth was noted in RA patients (Pg = 0.053). Significant difference in allelic frequencies was also observed between men with RA and men from control group (T allele -0.80 vs. 0.61, Pa = 0.025). Haplotype of GCGC polymorphisms -1575 G/A, -1306 C/T, -790 T/G, -735 C/T was more frequent in RA patients (Pcorr = 0.016; OR = 0.09; confidence interval 0.00–0.65), whereas GCTC haplotype was noted more frequently in control group (Pcorr = 0.017; OR = 1.8; confidence interval 1.17–2.70). *Conclusion:* The results indicate the association between polymorphisms in gene promotor region for MMP-2 and susceptibility to development of RA.

Key words: Rheumatoid arthritis – gene – polymorphism – MMP-2

Úvod

Revmatoidní artritida (RA) je chronické systémové zánětlivé autoimunitní onemocnění. Vyskytuje se celo-

světově s prevalencí 0,5–2 % s jistými regionálními rozdíly. Nižší prevalence RA je v oblasti subsaharské Afriky a jihovýchodní Asie. Naopak

vysoký výskyt RA byl zaznamenán u příslušníků indiánských kmenů Pima (5 %) a Chipewa (7 %) [1]. V České republice se prevalence po-

hybuje kolem 1 %. Incidence RA je udávána mezi 1–2/10 000 u mužů a 2–4/10 000 u žen [2]. RA postihuje všechny věkové skupiny s maximálním výskytem u premenopauzálních žen. U svých nositelů vede revmatoidní artritida dříve nebo později k disabilitě [2].

Iniciálními symptomy onemocnění jsou kloubní bolest a otok, provázený kloubní ztuhlostí a ve většině případů i celkovou reakcí organismu. Místem patologického zánětlivého děje je synoviální výstelka v kloubech, burzách a šlachách [3]. Chronický zánět vede k tvorbě granulární zánětlivé tkáně (pannus) tvořené řadou imunokompetentních buněk (monocyty, dendritickými buňkami, synoviálními fibroblasty – FLS, T-lymfocyty, mastocyty a B-lymfocyty). Chronická synovitida způsobuje destrukci hyalinní chrupavky, eroze subchondrální kosti a v konečné fázi deformity postižených kloubů. Destrukce hyalinní chrupavky je mediována proteinázami schopnými degradovat komponenty extracelulární matrix (ECM) chrupavky tvořené zejména kolagenem typu II a makromolekulárními proteoglykanovými komplexy agrekanu. V patogenezi RA se uplatňují jednak matrixové metaloproteinázy (MMP) a dále, jak se ukazuje v poslední době, skupina tzv. disintegrin metaloproteináz (ADAM) [4]. Tyto skupiny proteináz jsou produkovány především synoviálními výstelkovými buňkami, stromálními buňkami v subintimální zóně synoviální membrány, neutrofily, synoviálními fibroblasty, chondrocyty a makrofágy [5–13]. V synoviální tekutině pacientů s RA jsou prokazovány signifikantně vyšší hladiny některých MMP (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-13) ve srovnání s pacienty s osteoartrózou (OA) [9,14–20]. Jiným mechanismem degradace hyalinní chrupavky je apoptóza chondrocytů mediovaná oxidem dusnatým (NO) [4].

MMP, patřící do rodiny zinkdependentních endopeptidáz, se účastní remodelace ECM během řady fyziologických i patologických dějů včetně RA [21]. Jak bylo popsáno výše, MMP se mohou v patogenezi RA účastnit procesu degradace hyalinní chrupavky a zasahují i do procesu vystupňované angiogeneze. Na druhou stranu mohou MMP potlačovat zánět degradací biologicky aktivních molekul, jako jsou cytokiny, chemokiny či receptory růstových faktorů [22–26]. V séru a synoviální tekutině pacientů s RA jsou prokazovány mimo jiné zvýšené hladiny MMP-2 (gelatináza A) [20]. Předpokládá se, že hlavní roli MMP-2 u RA může být zejména degradace zánětlivých faktorů a/nebo aktivace faktorů protizánětlivých [22].

RA je, co se týče věku vzniku prvních obtíží, spektra klinických projevů a stupně progresu onemocnění, značně heterogenní. Za klinickou heterogenitu může na jedné straně odpovídat genetická predispozice a na druhé straně i faktory zevního prostředí (viry, bakterie, stres, toxiny). Genetickou predispozici potvrzují poznatky získané ze studií dvojčat, kde se konkordance u monozygotních dvojčat pohybuje mezi 10–15 % a u dizygotních dvojčat 3,6 % [27]. Z výsledků celonárodní finské studie dvojčat vyplývá, že se dá očekávat až 65% podíl genetické determinace na vznik a vývoj RA bez vlivu faktorů, jako je pohlaví, věk, věk při vzniku choroby nebo aktivita RA [28].

Významný podíl genetické determinace RA připadá na geny hlavního histokompatibilního komplexu (u člověka HLA) [29]. Velikost příspěvku HLA genů k celkové genetické predispozici je odhadována na 30–50 % [30,31]. Bylo zjištěno, že genetická predispozice k RA je vázána na ty alely, které nesou stejný sekvenční motiv 5 aminokyselin (QKRAA/QRRAA) na pozicích 70–74 ve třetí hypervariabilní oblasti DRB1 (řetězec β) mole-

kuly [32]. Tento úsek je označován jako tzv. sdílený epitop (shared epitope, SE). SE kódují následující alely (HLA-DRB1*0401, 0404, 0405, 0408, 0409, 0410 (HLA-DR4), HLA-DRB1*0101, 0102 (HLA-DR1), HLA-DRB1*1001 (HLA-DR 10) a HLA-DRB1*1402 (HLA-DR6) [33]. Alely kódující zmíněný motiv se vyskytují u více než 70 % pacientů s RA [34]. Pacienti s RA nesoucí SE mohou mít vyšší aktivitu a závažnější průběh choroby [35].

Předpokládá se však, že mimo HLA lokus existuje řada kandidátních genů majících vztah k RA [36]. Yamada et al analyzovali genom 48 pacientů s RA v rozsahu přibližně 104 Kb. Detekovali celkem 163 polymorfizmů 41 kandidátních genů asociovaných s RA. U 142 těchto polymorfizmů se jednalo o jednonukleotidové záměny (SNP), které se řadí k nejčastější formě variability genetické informace. Předpokládá se existence jedné SNP na zhruba 200–300 bází [37].

Jedním ze studovaných kandidátních genů byl i gen pro MMP-2. Gen pro MMP-2 je lokalizován na 16. chromozomu, v místě 16q13 – q21. Jeho délka je 17 kb, obsahuje 13 exonů (110 až 901 bp) a 12 intronů (175 až 4350 bp). Doposud bylo identifikováno 6 polymorfizmů v promotorové oblasti genu pro MMP-2, 1 v 5' nepřekládané oblasti, 6 v kódující oblasti, 1 v sekvenci intronu a 10 v 3' nepřekládané oblasti. V naší laboratoři byl identifikován polymorfismus –735 C/T. Polymorfizmy genu pro MMP-2 by mohly ovlivňovat vnímavost ke vzniku a/nebo závažnost průběhu RA. Cílem naší studie bylo prokázat možný vztah mezi sledovanými polymorfizmy v promotorové oblasti genu pro MMP-2 (–1575 G/A, –1306 C/T, –790 T/G, –735 C/T) a RA.

Metoda Pacienti

Do studie bylo zařazeno celkem 101 pacientů s revmatoidní artritidou (RA), kteří byli vyšetřeni v průběhu

Tab. 1 Genotypové distribuce a alelické frekvence polymorfizmů v promotorové oblasti genu pro MMP-2: pacienti s RA vs kontrolní skupina.**-1575G/A**

Genotyp a alely	GG	AG	AA	Pg	G	A	Pa	P (AG vs. AA + GG)
RA (n = 100)	6	32	62	0,13	44	156	0,12	0,034
Kontroly (n = 101)	6	46	49		58	144		

-1306C/T

Genotyp a alely	CC	CT	TT	Pg	C	T	Pa	P (CT vs. CC + TT)
RA (n = 101)	62	33	6	0,13	155	45	0,17	0,03
Kontroly (n = 101)	49	47	5		145	57		

-790T/G

Genotyp a alely	TT	TG	GG	Pg	T	G	Pa	P (GG vs. GT+TT)
RA (n = 101)	6	34	61	0,053	46	156	0,013	
Kontroly (n = 101)	15	39	47		69	133		0,031

-735C/T

Genotyp a alely	CC	CT	TT	Pg	C	T	Pa
RA (n = 101)	77	23	1	0,79	177	25	0,56
Kontroly (n = 101)	74	25	2		173	29	

roku 2004 v revmatologické ambulanci II. interní kliniky LF MU a FN u sv. Anny v Brně. Všichni pacienti splnili revidovaná kritéria American College of Rheumatology pro revmatoidní artritidu. Soubor zahrnoval 80 žen a 21 mužů věkového rozpětí 25–80 roků. Medián věku byl 54 roků. Minimální délka trvání choroby byla 2 roky. Kontrolní soubor zahrnoval 101 zdravých dobrovolníků obdobné distribuce věku (věkové rozpětí 23–86 roků, medián věku byl 51 roků) bez klinických a laboratorních známek revmatoidní artritidy. Studie byla schválena Etickou komisí FN u sv. Anny v Brně a LF MU v Brně. Zařazení jedince do projektu bylo podmíněno podpisem informovaného souhlasu a studie probíhala v souladu s Helsinskou deklarací schválenou na zasedání WMA v Edinburgu.

Detekce polymorfizmů MMP-2**(-1575 G/A, -1306 C/T, -790 T/G, -735 C/T)**

Pacientům i kontrolám byla odebrána periferní krev a z ní izolována DNA z leukocytů pomocí metody s využitím proteinázy K. Izolace DNA spočívala v lýze buněk v roztoku, který obsahuje 10 mM Tris – HCl

(pH = 8,5), 0,1% SDS, 0,1 mg/ml proteinázy K. Proteináza K byla odtráněna extrakcí fenolem a po etanolové precipitaci a vysušení byl vzorek DNA rozpuštěn v TE pufru. Polymorfizmy v promotorové oblasti genu pro MMP-2 (-1575 G/A, -1306 C/T, -790 T/G a -735 C/T) byly detekovány pomocí PCR (polymerase chain reaction) a restrikční analýzy (RFLP – restriction fragment length polymorphism). Polymorfismus -1575 G/A byl detekován pomocí PCR s produktem o velikosti 269 bp. Po restrikční analýze enzymem NmuCI (MBI Fermentas, USA) při 37 °C přes noc, nanesení na 2% agarózu (Serva) s ethydium bromidem a prosvícení v UV světle pak byly rozlišeny tři genotypy: GG (113 a 156 bp), GA (113,156 a 269 bp) a AA (269 bp). Polymorfismus -1306 C/T byl detekován pomocí PCR s produktem o velikosti 193 bp. Po restrikční analýze enzymem FspBI (MBI Fermentas, USA) při 37 °C přes noc byly rozlišeny tři genotypy: CC (188 bp), CT (188, 162 a 26 bp) a TT (162, 26 bp). Polymorfismus -790 T/G byl detekován pomocí PCR s produktem o velikosti 118 bp. Po restrikční analýze enzymem PvuI (MBI Fermentas,

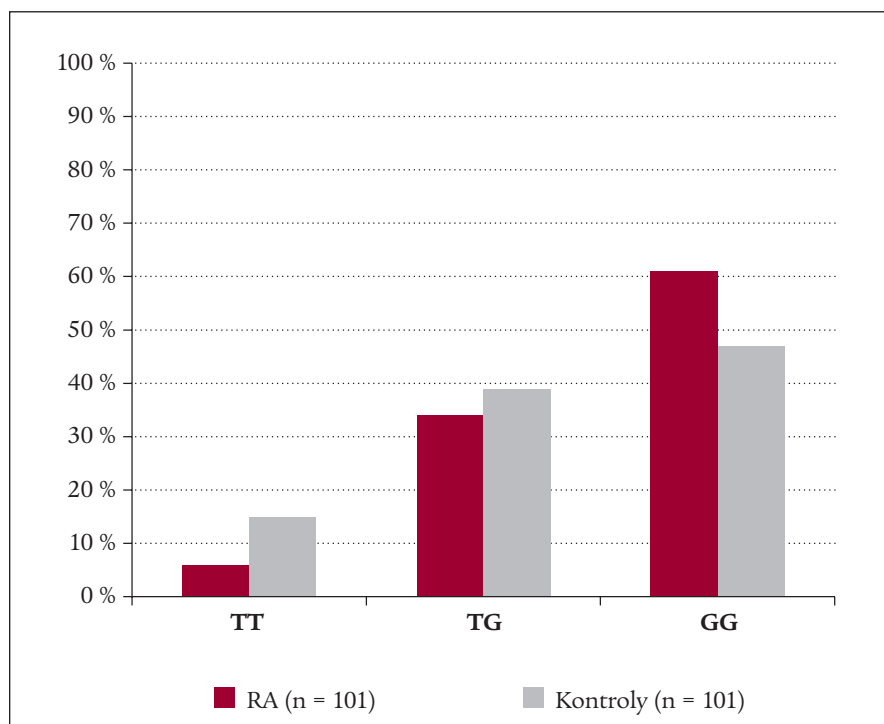
USA) přes noc, nanesením na 3% agarózu Metaphor byly rozlišeny tři genotypy: TT (118 bp), GT (118,19 a 99 bp) a GG (19 a 99bp). Čtvrtý polymorfismus -735 C/T byl detekován pomocí PCR s produktem o velikosti 300 bp. Po restrikční analýze enzymem HinfI (MBI Fermentas, USA) přes noc a gelové elektroforéze mohly být odečteny 3 genotypy: CC (300 bp), CT (300,254 a 46 bp) a TT (254 a 46 bp).

Statistická analýza

Genotypové distribuce byly kalkulovány χ^2 testem. Statistická významnost rozdílů v alelických frekvencích mezi skupinami byla testována Fisherovým přesným testem. Shoda zastoupení jednotlivých variant polymorfismu s Hardy-Weinbergerovou rovnováhou byla vypočtena χ^2 testem. Haplotypové frekvence byly kalkulovány po rekonstrukci haplotypů z populačních dat dle Stephense et al (2001) a Stephense a Donella (2003). Statistická významnost byla testována Fisherovým přesným testem a síla testu (chyba druhého řádu) byla počítána pomocí programu EpiInfo6. Za signifikantní byla považována hladina 5 %.



Graf 1. -790 T/G MMP-2 alelické frekvence.



Graf 2. -790 T/G MMP-2 genotypová distribuce.

Výsledky

Nebyl zjištěn rozdíl v genotypových distribucích ani frekvencích alel polymorfismů -1575A/G, -1306C/T a -735 C/T mezi pacienty s RA a kontrolní skupinou (tab. 1).

Statisticky významný rozdíl byl pozorován mezi pacienty s RA a kon-

trolní skupinou v alelických frekvencích polymorfismu -790 T/G MMP-2 (T alela -0,70 vs 0,66, $P_a = 0,013$) (graf 1). Rovněž byl pozorován trend k nárůstu výskytu genotypu GG u pacientů s RA ($P_g = 0,053$) (graf 2). Statisticky významný rozdíl v alelických frekvencích byl rovněž pozorován mezi muži s RA a muži v kon-

trolní skupině (T alela -0,80 vs 0,61, $P_a = 0,025$).

Navíc haplotyp GCGC polymorfismů -1575 G/A, -1306 C/T, -790 T/G, -735 C/T byl častěji zastoupen u pacientů s RA ($P_{corr} = 0,016$; OR = 0,09; konfidenční interval 0,00–0,65), zatímco haplotyp GCTC byl více zastoupen u kontrolní skupiny ($P_{corr} = 0,017$; OR = 1,8; konfidenční interval 1,17–2,70) (graf 3).

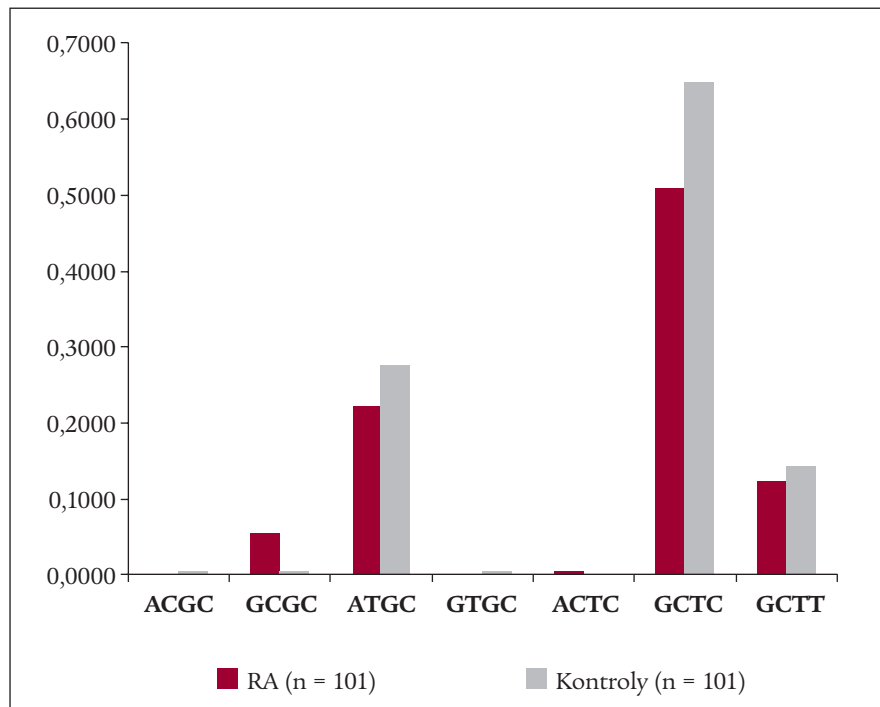
Diskuse

Rodina MMP zahrnuje minimálně 18 členů, kteří jsou rozděleni do 5 podskupin: (a) kolagenázy, zahrnující kolagenázu 1 (MMP-1), kolagenázu 2 (MMP-8) a kolagenázu 3 (MMP-13); (b) gelatinázy, gelatinázu A (MMP-2) a gelatinázu B (MMP-9); (c) stromelysiny, zahrnující stromelysin 1 (MMP-3), stromelysin 2 (MMP-10), stromelysin 3 (MMP-11); (d) membranový typ MMP (MT-MMP), zahrnující MT1-MMP (MMP-14), MT2-MMP (MMP-15), MT3-MMP (MMP-16), MT4-MMP (MMP-17) a MT5-MMP (MMP-24); (e) ostatní MMP, jako jsou matrilysin (MMP-7), stromelysin 3 (MMP-11), metaloelastáza (MMP-12), MMP-19, enamelysin (MMP-20) a MMP-23 [20,38–45]. Enzymatická aktivita těchto MMP je kontrolována specifickými tkáňovými inhibitory metaloproteináz (TIMP) (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 a TIMP-4) [46–48]. Rovnováha mezi MMP a TIMP přítomnými v synoviální tkáni a synoviální tekutině může ovlivňovat míru degradace ECM. MMP-1 a MMP-3 jsou produkovány zejména synoviálními výstelkovými buňkami u pacientů s RA, zatímco MMP-2 je produkována stromálními buňkami subintimální zóny synoviální výstelky [5–7]. MMP-8 a MMP-9 jsou produkovány neutrofily a MMP-9 je navíc produkována makrofágy a rovněž synoviálními buňkami [8,9]. U pacientů s RA byla rovněž prokázána exprese těchto MMP chondrocyty a fibroblasty [10–13]. Různými skupinami jsou prokazovány signifikantně vyšší

hladiny některých MMP (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-8, MMP-9, MMP-13) a TIMP-1 v synoviální tekutině pacientů s RA ve srovnání s nálezem u pacientů s OA nebo s traumatickým postižením kolenního kloubu [9,14–19].

MMP-2 patří spolu s MMP-9 do podskupiny gelatináz schopných štěpení základních komponent ECM hyalinní chrupavky (kolagenu typu II a agrekanu). V synoviální tekutině pacientů s RA jsou prokazovány zvýšené hladiny MMP-2 a MMP-9 [9, 20,49]. Práce Itoha et al. poukazuje na poněkud kontroverzní roli gelatináz v patogenezi RA [22]. Autoři sledovali vývoj protilátkami indukované artritidy (AbIA) jednoho ze zvířecích modelů RA, u MMP-2 knockout (KO) myši a MMP-9 KO myši. Překvapivým zjištěním bylo, že MMP-2 KO myši vyvinuly těžší histologický i klinický obraz artritidy než myši normální a naopak MMP-9 KO myši vyvinuly mírnější formu artritidy než myši normální. Zmírnění příznaků artritidy u MMP-2 KO myši bylo dosaženo injekcí normálních fibroblastů, schopných produkovat MMP-2 in vitro. Autoři tedy prokázali fakt, že zhoršení průběhu AbIA u MMP-2 KO myši souvisí s deficitem MMP-2. V poslední době je prokazována řada nových cílových substrátů pro MMP-2, jako jsou cytokiny (interleukin 1 β), chemokiny (monocyte chemoattractant-3) nebo receptor 1 růstového faktoru fibroblastů [23–25]. Protichůdné role MMP-2 a MMP-9 mohou být dány rozdílným spektrem substrátů [24,25].

Výsledky naší studie poukazují na možnou asociaci polymorfismu v promotorové oblasti genu pro MMP-2 s vnímavostí ke vzniku RA. Pokud je nám známo, jedná se o první práci prokazující asociaci polymorfismu –790 T/G MMP-2 s rizikem vývoje RA. Naš nález je navíc podpořen častějším zastoupením „rizikového“ haplotypu GCGC polymorfismů –1575 G/A, –1306 C/T, –790 T/G,



Graf 3. Haplotypové frekvence polymorfismů –1575 G/A, –1306 C/T, –790 T/G, –735 C/T genu pro MMP-2.

–735 C/T genu pro MMP-2 u pacientů s RA a naopak častějším zastoupením haplotypu GCTC u zdravých kontrol.

Některé práce se již zabývaly asociací polymorfismů genů jiných MMP a RA. V práci Dörre et al. nebyla prokázána asociace mezi vnímavostí ke vzniku RA a polymorfismem 1G/2G (delece/inzerce guaninu na pozici –1607) v promotorové oblasti genu pro MMP-1 a polymorfismem 5A/6A (delece/inzerce adeninu na pozici –1171) v promotorové oblasti genu pro MMP-3 [50]. Stupeň radiografické progresi RA koreloval signifikantně s haplotypem 1G-5A. Haplotyp 1G-5A měl „protektivní“ efekt na radiografickou progresi RA. Homozygoti 2G/2G genu pro MMP-1 vykazovali během sledovaného období výraznější radiografickou progresi RA ve srovnání s homozygoty 1G/1G. Jiná práce tuto asociaci neprokázala [51]. Studie zabývající se asociací polymorfismu MMP-3 přinesly rovněž kontroverzní výsledky [52]. Autoři neprokázali asociaci polymorfismu

5A/6A s vnímavostí ke vzniku RA, ale naopak prokázali, že genotyp 6A/6A MMP-3 je asociovaný s výraznější RTG progresí choroby v úvodu i na konci 4letého sledovacího období. Pacienti homozygoti 6A/6A pro MMP-3 a pro DRB1 SE měli výraznější RTG progresi choroby.

Získané výsledky naší práce bude nutné ověřit na větším souboru pacientů s RA. Plánujeme studovat možnou asociaci mezi promotorovými polymorfismy MMP-2 a závažností průběhu RA. Otázkou rovněž zůstává, zda polymorfismus v promotorové oblasti genu pro MMP-2 ovlivňuje míru exprese DNA.

Studie byla podpořena grantovým projektem NR7812-3/2004, IGA Ministerstva zdravotnictví České republiky.

Literatura

1. Harney SM, Newton JL, Worsworth BP. Molecular genetics of rheumatoid arthritis. *Curr Opin Pharmacol* 2003; 3: 280–285.
2. Lawrence RC, Helmick GG, Arnett FC et al. Estimates of the prevalence of arthritis and selected musculoskeletal di-

- sorders in the United States. *Arthritis Rheum* 1998; 41: 778–799.
3. Goldring SR. Pathogenesis of bone and cartilage destruction in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 2003; 42(Suppl 2): ii11–ii16.
 4. Yamada H, Yoshihara Y. Mechanism of cartilage destruction in rheumatoid arthritis. *Clin Calcium* 2003; 13: 702–708.
 5. Hembry RM, Bagga MR, Reynolds JJ et al. Immunolocalization studies on six matrix metalloproteinases and their inhibitors, TIMP-1 and TIMP-2, in synovia from patients with osteo- and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1995; 54: 25–32.
 6. Okada Y, Takeuchi N, Tomita K et al. Immunolocalization of matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) in rheumatoid synovioblasts (B cell): correlation with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1989; 48: 645–653.
 7. Okada Y, Gonoji Y, Nakanishi I et al. Immunohistochemical demonstration of collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP) in synovial lining cells of rheumatoid synovium. *Virch Arch B Cell Pathol* 1990; 59: 305–312.
 8. Grillet B, Dequeker J, Paemen L et al. Gelatinase B in synovitis: immunolocalization with a monoclonal antibody. *Br J Rheumatol* 1997; 36: 744–747.
 9. Ahrens D, Koch AE, Pope RM et al. Expression of matrix metalloproteinase 9 (96-kD gelatinase B) in human rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1576–1587.
 10. Stephenson ML, Goldring MB, Birkhead JR et al. Stimulation of procollagenase synthesis parallels increases in cellular procollagenase mRNA in human articular chondrocytes exposed to recombinant interleukin-1b. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 144: 583–590.
 11. Okada Y, Shinmei M, Tanaka O et al. Localization of matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) in osteoarthritic cartilage and synovium. *Lab Invest* 1992; 66: 680–690.
 12. Cole AA, Chubinskaya S, Schumacher B et al. Chondrocyte matrix metalloproteinase-8. Human articular chondrocytes express neutrophil collagenase. *J Biol Chem* 1996; 271: 11023–11026.
 13. Mohtai M, Smith RL, Schurman DJ et al. Expression of 92-kDa type IV collagenase/gelatinase (gelatinase B) in osteoarthritic cartilage and its induction in normal human articular cartilage by interleukin 1. *J Clin Invest* 1993; 92: 179–185.
 14. Walakovits LA, Moore VL, Bhardwaj N et al. Detection of stromelysin and collagenase in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and posttraumatic knee injury. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 35–42.
 15. Clark IM, Powell LK, Ramsey S et al. The measurement of collagenase, tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP), and collagenase-TIMP complex in synovial fluids from patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 372–379.
 16. Yoshihara Y, Obata K, Fujimoto N et al. Increased levels of stromelysin-1 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in serum from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1995; 38: 969–975.
 17. Shinmei M, Kobayashi T, Yoshihara Y et al. Significance of the levels of carboxy terminal type II procollagen peptide, chondroitin sulfate isomers, tissue inhibitor of metalloproteinases, and metalloproteinases in osteoarthritis joint fluid. *J Rheumatol* 1995; 22(Suppl 43): 78–81.
 18. Matsuki H, Fujimoto N, Iwata K et al. A one-step sandwich enzyme immunoassay for human matrix metalloproteinase 8 (neutrophil collagenase) using monoclonal antibodies. *Clin Chim Acta* 1996; 244: 129–143.
 19. Sopata I, Wize J, Filipowicz-Sosnowska A et al. Neutrophil gelatinase levels in plasma and synovial fluid of patients with rheumatic diseases. *Rheumatol Int* 1995; 15: 9–14.
 20. Yoshihara Y, Nakamura H, Obata K et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis or osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 455–461.
 21. Nagase H, Woessner JF. Matrix Metalloproteinases. *J Biol. Chem* 1999; 274: 21491–21494.
 22. Itoh T, Matsuda H, Tanioka M et al. The role of matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 in antibody-induced arthritis. *J Immunol* 2002; 169: 2643–2647.
 23. Ito A, Mukaiyama A, Itoh Y et al. Degradation of interleukin 1 beta by matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1996; 271: 14657–14660.
 24. McQuibban GA, Gong JH, Tam EM et al. Inflammation dampened by gelatinase A cleavage of monocyte chemoattractant-3. *Science* 2000; 289: 1202–1206.
 25. Levi E, Fridman R, Miao HQ et al. Matrix metalloproteinase 2 releases active soluble ectodomain of fibroblast growth factor receptor 1. *Proc Acad Sci USA* 1996; 93: 7069–7074.
 26. Cawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: they're not just for matrix anymore! *Curr Opin Cell Biol* 2001; 13: 534–540.
 27. Aho K, Koskenvuo M, Tuominen J et al. Occurrence of rheumatoid arthritis in a nationwide series of twin. *J Rheumatol* 1986; 13: 899–902.
 28. MacGregor AJ, Snieder H, Rigby AS et al. Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 30–37.
 29. Winchester R. The molecular basis of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Adv Immunol* 1994; 56: 389–466.
 30. Gregersen PK. Genetics of rheumatoid arthritis: confronting complexity. *Arthritis Res* 1999; 1: 37–44.
 31. Seldin MF, Amos CI, Ward R et al. The genetics revolution and the assault on rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1071–1079.
 32. Singal DP, Li J, Lei K. Genetics of rheumatoid arthritis (RA): two separate regions in the major histocompatibility complex contribute to susceptibility to RA. *Immunol Letters* 1999; 69: 301–306.
 33. Winchester R. The molecular basis of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Adv Immunol* 1994; 56: 398–466.
 34. Rowley MJ, Stockman A, Brand CA et al. The effect of HLA-DRB1 disease susceptibility markers on the expression of RA. *Scand J Rheumatol* 1997; 26: 448–455.
 35. Vencovský J, Pešáková V, Kašková J et al. Přínos některých laboratorních vyšetření k diagnostice a hodnocení revmatoidní artritidy. *Čes Revmatol* 1999; 7: 155–165.
 36. Yamada R, Tanaka T, Ohnishi Y et al. Identification of 142 single nucleotide polymorphisms in 41 candidate genes for rheumatoid arthritis in the Japanese population. *Hum Genet* 2000; 106: 293–297.
 37. Halushka MK, Fan JB, Bentley K et al. Patterns of single nucleotide polymorphisms in candidate genes of blood-pressure homeostasis. *Nat Genet* 1999; 22: 239–247.
 38. Sato H, Takino T, Okada Y et al. A matrix metalloproteinase expressed on

the surface of invasive tumor cells. *Nature* 1994; 370: 61–65.

39. Takino T, Sato H, Shinagawa A et al. Identification of the second membrane-type matrix metalloproteinase (MT-MMP-2) gene from a human placenta cDNA library. MT-MMPs form a unique membrane-type subclass in the MMP family. *J Biol Chem* 1995; 270: 23013–23020.
40. Will H, Hinzmann B. cDNA sequence and mRNA tissue distribution of novel human matrix metalloproteinase with a potential transmembrane segment. *Eur J Biochem* 1995; 231: 602–608.
41. Puente XS, Pendas AM, Liano E et al. Molecular cloning of novel membrane-type matrix metalloproteinase from a human breast carcinoma. *Cancer Res* 1996; 56: 944–949.
42. Pei D. Identification and characterization of the fifth membrane-type matrix metalloproteinase MT5-MMP. *J Biol Chem* 1999; 274: 8925–8932.
43. Pendas AM, Knäuper V, Puente XS et al. Identification and characterization of a novel human matrix metalloproteinase with unique structural characteristics, chromosomal location, and tissue distribution. *J Biol Chem* 1997; 272: 4281–4286.
44. Bartlett JD, Simmer JP, Xue J et al. Molecular cloning and mRNA tissue distribution of a novel matrix metalloproteinase isolated from porcine enamel organ. *Gene* 1996; 183: 123–128.
45. Velasco G, Pendas AM, Fueyo A et al. Cloning and characterization of human MMP-23, a new matrix metalloproteinase predominantly expressed in reproductive tissues and lacking conserved domains in other family members. *J Biol Chem* 1999; 274: 4570–4576.
46. Uriá JA, Ferrando AA, Velasco G et al. Structure and expression in breast tumors of human TIMP-3, a new member of the metalloproteinase inhibitor family. *Cancer Res* 1994; 54: 2091–2094.
47. Greene J, Wang M, Liu YE et al. Molecular cloning and characterization of human tissue inhibitor of metalloproteinase 4. *J Biol Chem* 1996; 271: 30375–30380.
48. Nagase H, Okada Y. Proteinases and matrix degradation. In: Kelly WN, Harris ED Jr, Ruddy S et al (eds). *The text book of rheumatology*. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders 1996; 323–341.
49. Jovanovic DV, Martel-Pelletier J, Di Battista JA et al. Stimulation of 92-kd gelatinase (matrix metalloproteinase 9) production by interleukin-17 in human monocyte/macrophages: a possible role in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1134–1144.
50. Dörr S, Lechtenböhrer N, Rau R et al. Association of a specific haplotype across the genes MMP1 and MMP-3 with radiographic joint destruction in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: R199–R207.
51. Constantin A, Lauwers-Cances V, Navaux F et al. Collagenase-1 (MMP-1) and HLA-DRB1 gene polymorphisms in rheumatoid arthritis: a prospective longitudinal study. *J Rheumatol* 2002; 29: 15–20.
52. Constantin A, Lauwers-Cances V, Navaux F et al. Stromelysin 1 (matrix metalloproteinase 3) and HLA-DRB1 gene polymorphisms: association with severity and progression of rheumatoid arthritis in a prospective study. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1754–1762.

MUDr. Petr Němec

www.fnusa.cz

e-mail: petr.nemec@fnusa.cz

Doručeno do redakce: 23. 12. 2005

Přijato po recenzi: 31. 1. 2006

www.geriatrickarevue.cz