

Agnieszka CZYŻEWSKA-BUCZYŃSKA¹
Wojciech WITKIEWICZ^{1,2}

¹Wojewódzki Szpital Specjalistyczny
we Wrocławiu
Ośrodek Badawczo-Rozwojowy
Kierownik: Prof. dr hab. Wojciech Witkiewicz

²Wojewódzki Szpital Specjalistyczny
we Wrocławiu
Ośrodek Badawczo-Rozwojowy,
Oddział Chirurgii Ogólnej, Naczyniowej
i Onkologicznej
Ordynator oddziału:
Prof. dr hab. Wojciech Witkiewicz

Dodatkowe słowa kluczowe:

mastocyty
miażdżyca tętnic
patogeneza
chymaza
tryptaza
metaloproteinazy
histamina

Additional key words:

mast cells
atherosclerosis
pathogenesis
chymase
tryptase
metalloproteinases
histamine

Podziękowania

Praca powstała w ramach projektu WROVASC - Zintegrowane Centrum Medycyny Sercowo-Naczyniowej współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego oraz budżetu państwa (Program Operacyjny Innowacyjna Gospodarka 2007-2013 Priorytet 1.1 Nr projektu 01.01.02-02-001/08-00).

Adres do korespondencji:

Dr n. med. Agnieszka Czyżewska-Buczyńska
Wojewódzki Szpital Specjalistyczny
we Wrocławiu
Ośrodek Badawczo-Rozwojowy
ul. H.M. Kamińskiego 73a
Tel. (071) 32 70 456; Fax: (071) 32 54 101
e-mail: czyzewska-buczynska@wssk.wroc.pl

Rola mastocytów w patogenezie miażdżycy

Role of mast cells in the pathogenesis of atherosclerosis

Miażdżyca tętnic jest przewlekłą chorobą o podłożu zapalnym. W procesie zapalenia uczestniczy szereg komórek układu immunologicznego, obejmujących m.in. limfocyty oraz makrofagi. Do ścisłego grona komórek uczestniczących w modulowaniu procesów aterogenezy należą również mastocyty. Aktywacja mastocytów skutkuje degranulacją ziarnistości cytoplazmatycznych i uwolnieniem szeregu mediatorów, w tym m.in. cytokin, chemokin, czynników wzrostowych, substancji wazoaktywnych oraz enzymów proteolitycznych. Mediatorzy te uczestniczą w modulowaniu reakcji zapalnej rozwijającej się w ścianie naczyń krwionośnych bezpośrednio, poprzez wydzielanie cytokin prozapalnych oraz pośrednio, wpływając na aktywność pozostałych komórek układu odpornościowego, uczestniczących w procesie aterogenezy. Dzięki zdolności do wydzielania oraz aktywacji enzymów proteolitycznych (chymazy, tryptazy, metaloproteinazy), komórki te uczestniczą w degradacji szeregu składników macierzy między- i zewnątrzkomórkowej, w tym kolagenu, głównego białka tworzącego włóknistą otoczkę blaszki miażdżycowej. Może to doprowadzić do destabilizacji istniejącej blaszki, zwiększając ryzyko wystąpienia incydentów zatorowo-zakrzepowych. Aktywność proteaz wpływa ponadto na zdolność do proliferacji i przeżycia komórek śródbłonna oraz mięśni gładkich ściany naczyń. Mimo że większość badań dotyczących mastocytów prowadzi się *ex vivo*, z udziałem ludzkich tkanek i hodowli komórkowych, a także eksperymentów na gryzoniach, uzyskane wyniki pozwalają na głębsze poznanie mechanizmów, poprzez które komórki te wpływają na proces aterogenezy. Podejmuje się również próby wykorzystania niektórych mediatorów wydzielanych przez mastocyty w różnicowaniu schorzeń sercowo-naczyniowych oraz w prognozowaniu stanu klinicznego pacjentów.

Wprowadzenie

Miażdżyca tętnic jest schorzeniem przewlekłym o niezwykle złożonej etiologii, w powstawaniu której uczestniczy szereg czynników, zarówno genetycznych, jak i środowiskowych. Mechanizm jej powstawania

Atherosclerosis is chronic, inflammatory disease. In artery inflammation main role play cells of the immune system, including lymphocytes and macrophages. This circle of the cells modulating atherogenesis enclose also mast cells. Activated mast cell degranulate and release many types of mediators, including cytokines, chemokins, growth factors, vasoactive substances and proteolytic enzymes. This mediators can modulate inflammatory reaction in artery wall directly, by releasing proinflammatory cytokines or indirectly, influencing the activity of the other cells of the immune system, taking a part in the process of atherogenesis. Due to the ability of secretion and activation of proteolytic enzymes (chymase, tryptase, metalloproteinases), mast cells are prone to degrade various components of pericellular and extracellular matrices, including collagen, main protein of the fibrous cap of atherosclerotic plaque, rendering to plaque destabilization, increasing the onset of the atherothrombotic complications. Mast cell proteases can also modulate proliferation and apoptosis of the endothelial and smooth muscle cells of the artery wall. In spite of the fact, that most of the studies about mast cells are performed *ex vivo* on human tissues or cell cultures and rodents, this findings lead to recognize mechanisms by which mast cell can intervene in atherogenesis process. Moreover, there are some trials of using some of the mast cell mediators in differentiation of cardiovascular diseases and prediction the clinical condition of the patients.

obejmuje ciąg procesów, wzajemnie ze sobą powiązanych, w wyniku których dochodzi do naruszenia ciągłości śródbłonna naczyniowego, co wywołuje zaburzenia czynnościowe w obrębie komórek. Centralną rolę w wywoływaniu zmian w obrębie ściany na-

czyli krwionośnych odgrywa zapalenie. Potwierdzają to wyniki badań genetycznych z wykorzystaniem mikromacierzy, wskazujące na nadekspresję kilkudziesięciu genów kodujących białka uczestniczące w regulacji procesów zapalnych w miażdżycy tętnic obwodowych (PAD - *peripheral arterial disease*) [1]. Spośród komórek układu immunologicznego duże znaczenie w wywoływaniu i/lub modulowaniu miejscowych zmian odgrywają makrofagi, limfocyty T i mastocyty. Mimo że obecność mastocytów w obrębie blaszki miażdżycowej została potwierdzona na początku lat dziewięćdziesiątych XX wieku [2], coraz bardziej podkreśla się znaczenie tych komórek w procesie aterogenezy.

W niniejszej pracy przedstawiono istniejące dane na temat udziału mastocytów w procesie zapalnym toczącym się w obrębie ściany naczyń, a także roli tych komórek w procesie powstawania i progresji zmian miażdżycowych oraz w destabilizacji blaszki miażdżycowej.

Rola mastocytów w procesach zapalnych ściany tętnic

Mastocyty są multipotentnymi komórkami układu immunologicznego, wywodzącymi się ze szpiku kostnego. Osiedlają się w różnych tkankach organizmu, w tym m.in. w obrębie naczyń krwionośnych, gdzie ulegają różnicowaniu do stadium dojrzałego mastocyta, zawierającego w cytoplazmie liczne ziarnistości zasadochłonne, decydujące o ich funkcji efektorowej. Dojrzałe mastocyty pozostają w bliskim kontakcie z komórkami śródbłonna naczyń. Odnajdywane są również w obrębie blaszki miażdżycowej. Postuluje się, że dużą rolę w procesie utrzymywania mastocytów w blaszce odgrywa eotaksyna, chemokina wydzielana m.in. przez komórki mięśni gładkich, rozpoznawana przez receptor CCR3, ulegający ekspresji na powierzchni mastocytów [3].

W reakcjach alergicznych typu I według *Gella* i *Coombsa*, aktywacja i degranulacja mastocytów następuje w wyniku związania kompleksów IgE-antygen z receptorami Fc ϵ R1 zlokalizowanymi na powierzchni mastocytów. W procesie aterogenezy aktywacja mastocytów przebiega drogą niezależną od obecności cząsteczek IgE. Jednakże czynniki odpowiedzialne za bezpośrednią indukcję degranulacji tych komórek nie są do końca określone. Wiadomo, że w obrębie ścian tętnic zmienionych miażdżycowo aktywność mastocytów regulowana jest za pośrednictwem cytokin wydzielanych przez limfocyty T oraz makrofagi. Są to m.in. Il-1, Il-18 oraz nowo opisana Il-33, należąca do rodziny Il-1 [4]. Il-33 jest silnym immunomodulatorem. Badania z zastosowaniem myszy ze znokautowanym genem kodującym apolipoproteinę E (ApoE $^{-/-}$) wskazują, że cytokina ta generuje powstawanie swoistych przeciwciał przeciwko utlenionym cząsteczkom LDL, a także indukuje syntezę Il-5 oraz Il-13, przesuwając równowagę pomiędzy subpopulacjami limfocytów T pomocniczych w kierunku Th2. Autoprzeciwciała anty-oxLDL oraz cytokiny szlaku Th2 wykazują działanie przeciwmiażdżycowe, hamując powstawanie komórek piankowatych i odkładanie się złogów cholesterolu w

ścianie tętnicy [5].

W procesie aterogenezy za aktywację mastocytów mogą odpowiadać kompleksy immunologiczne oraz anafilatoksyny (C3a i C5a), powstałe w wyniku aktywacji białek układu dopełniacza, obecnych w obrębie blaszki miażdżycowej [6,7]. Aktywacja mastocytów może być ponadto związana z obecnością utlenionych cząsteczek LDL (oxLDL) [8,9], a także neuroprzekazników (substancji P, białka związanego z genem kalcytoniny - CGRP) uwalnianych z zakończeń włókien nerwowych okalających ścianę tętnic [10].

Aktywowane mastocyty wydzielają szereg biologicznie aktywnych substancji, mających znaczenie w wywoływaniu i modulowaniu procesu aterogenezy. Substancje te obejmują m.in. czynniki wazoaktywne: histaminę i leukotrieny, proteazy serynowe: tryptazę i chymazę, czynniki wzrostowe, tj. m.in. czynnik wzrostu fibroblastów (bFGF), czynnik aktywujący płytki (PAF), liczne cytokiny i czynniki prozapalne, np. czynnik martwicy nowotworu- α (TNF- α), białko chemotaktyczne dla monocytów-1 (MCP-1), białko zapalne makrofagów-1 (MIP-1 α , MIP-1 β), transformujący czynnik wzrostu typu β (TGF- β) oraz interleukiny: Il-3, Il-4, Il-5, Il-6, Il-8, Il-10, Il-13, Il-16 [11,12].

Liczne mediatory wydzielane po degranulacji mastocytów wykazują silne właściwości prozapalne. Tryptaza, TNF- α i histamina wywołują ekspresję cząsteczek adhezyjnych, głównie P-selektyny oraz cząsteczki adhezyjnej śródbłonna naczyń (VCAM-1), na powierzchni komórki śródbłonna, co odpowiada za napływ komórek układu odpornościowego i wzmocnienie reakcji zapalnej w miejscu zmienionego śródbłonna [13].

Najbardziej znanym mediatorem uwalnianym przez aktywowane mastocyty jest histamina. Związek ten syntetyzowany jest z L-histydyny w reakcji katalizowanej przez dekarboksylazę histydyny (HDC). Badania z wykorzystaniem mysiego modelu miażdżycy wskazują na znamienny wzrost ekspresji tego enzymu w aorcie w trakcie rozwoju zmian miażdżycowych. Enzym ten wykrywany jest m.in. w komórkach piankowatych oraz w limfocytach T [14]. Histamina uwalniana w obrębie śródbłonna naczyń krwionośnych wywołuje zwiększenie przepuszczalności ściany naczyń w stosunku do krążących lipoprotein, a także limfocytów i makrofagów, odpowiadając za rozwój miejscowej reakcji zapalnej [15,16]. Ponadto histamina wywołuje skurcz mięśniówki naczyń, co w przypadku lokalizacji zmian miażdżycowych w obrębie tętnic wieńcowych może wywoływać dusznicę lub zawał mięśnia sercowego [17,18]. W obrębie blaszki miażdżycowej, histamina może również wzmacniać ekspresję cząsteczek adhezyjnych na powierzchni komórek śródbłonna naczyńowego oraz regulować różnicowanie limfocytów T pomocniczych [19].

W regulacji procesów zapalnych w ścianie tętnic zmienionych miażdżycowo uczestniczą również leukotrieny. Podczas syntezy tych mediatorów, w reakcji katalizowanej przez 5-lipooksygenazę, dochodzi do powstania wolnych rodników tlenowych, odpowiedzialnych za utlenianie cząsteczek LDL, wywołując tym samym wzmocnienie odpo-

wiedzi zapalnej i progresję zmian miażdżycowych w obrębie ściany tętnic [20, 21].

Udział mastocytów w powstawaniu i destabilizacji blaszki miażdżycowej

Znaczenie mastocytów w patogenezie miażdżycy tętnic oraz udział tych komórek w procesie powstawania i destabilizacji blaszki miażdżycowej podkreśla fakt, że rzadko komórki te odnajdywane są w obrębie zdrowych ścian naczyń krwionośnych [22,23].

Aktywność proaterogenna mastocytów wynika z jednej strony z aktywności proteolitycznej licznych enzymów uwalnianych w procesie degranulacji z drugiej zaś, z wpływu wydzielanych mediatorów na aktywność proliferacyjną i żywotność komórek ściany naczyń.

Proteazy serynowe mastocytów, tj. chymaza i tryptaza, wykazują zdolność do degradacji kolagenu typu IV, a także fibronektyny i witronektyny. Mastocyty mają również zdolność do wydzielania i aktywacji metalloproteinaz w sposób autokryny (MMP-1, -9), pod wpływem TNF- α , a także w sposób parakryny, indukując uwalnianie tych proenzymów przez makrofagi. W procesie aktywacji makrofagów proenzymów uczestniczą chymaza oraz tryptaza, odpowiadające za aktywację odpowiednio pro-MMP-1 i pro-MMP-3 [13, 24]. Aktywność proteolityczna enzymów w stosunku do białek budujących włóknistą otoczkę blaszki miażdżycowej w głównej mierze odpowiada za destabilizację istniejącej blaszki.

Mediatory wydzielane przez mastocyty wykazują wpływ na aktywność proliferacyjną komórek ściany tętnic. W badaniach *in vitro* wykazano, że pod wpływem chymazy oraz proteoglikanów heparyny dochodzi do hamowania proliferacji komórek mięśni gładkich oraz do redukcji syntezy składników macierzy zewnątrzkomórkowej przez te komórki, poprzez hamowanie ekspresji kolagenu. Może to nastąpić na drodze zależnej lub niezależnej od obecności transformującego czynnika wzrostu typu beta (TGF- β) [25, 26]. Z kolei, histamina może indukować proliferację komórek mięśni gładkich oraz wydzielanie przez te komórki MMP-1 w obrębie ściany tętnic [19, 27]. Ponadto, czynnik wzrostu bFGF, uwalniany przez aktywowane mastocyty w blaszce miażdżycowej, może pobudzać proliferację fibroblastów oraz procesy neowaskularyzacji [28]. Co więcej, tryptaza wydzielana przez aktywowane mastocyty wywołuje zmiany w czynności komórek śródbłonna naczyńowego. Badania *Kinoshity* i *wsp.* [29] wykazały, że w hodowlach ludzkich komórek śródbłonkowych, enzym ten wzmacnia syntezę Il-8 oraz MCP-1, czynników chemotaktycznych dla szeregu komórek układu odpornościowego, uczestniczących w procesie zapalnym.

Mediatory mastocytów wykazują ponadto działanie proapoptotyczne w stosunku do komórek ściany tętnic. W badaniach *in vitro* wykazano, że chymaza uwalniana z aktywowanych mastocytów indukuje apoptozę komórek mięśni gładkich [30]. Mechanizm tego procesu polega na enzymatycznej degradacji fibronektyny, co wywołuje utratę kontaktu z integrynami, niezbędnego do utrzymania adhezji komórek. W konsekwen-

cji dochodzi do zaburzeń w przekazywaniu sygnałów wewnątrzkomórkowych, mediuowanych przez NF- κ B, co skutkuje zmniejszeniem ilości jądrowego białka p65, spadkiem poziomu białka bcl-2 oraz aktywacją kaspazy, enzymów indukujących proces apoptozy. Co więcej, wpływ chymazy na hodowane *in vitro* komórki mięśni gładkich obejmuje hamowanie jądrowej translokacji białka p65, indukowanej między innymi przez IL-1 β oraz lipopolisacharyd ściany komórkowej bakterii (LPS) [30]. Wykazano, że apoptoza komórek mięśni gładkich ściany naczyń indukowana przez fragmenty peptydów, powstające po proteolitycznej degradacji fibronektyny indukowanej przez chymazę, przebiega w sposób podobny do apoptozy komórek śródbłonka naczyń indukowanej przez dysintegryny - rodzinę białek o niskiej masie cząsteczkowej, zawierającej fragment peptydowy arginina-glicyna-asparagina [31].

Aktywowane mastocyty indukują również apoptozę komórek śródbłonka naczyniowego. W procesie tym duże znaczenie odgrywa chymaza oraz TNF- α [32]. Oba te czynniki współdziałają, z jednej strony w degradacji białek macierzy międzykomórkowej, z drugiej zaś, w inaktywacji sygnałów komórkowych decydujących o utrzymaniu integralności komórek. Chymaza, tryptaza oraz katepsyna G uczestniczą ponadto w degradacji kaderyny, cząsteczki odpowiedzialnej za utrzymanie kontaktu pomiędzy komórkami śródbłonka, niezbędnego do przetrwania tych komórek (ang. *outside-in survival signaling*). Proteolityczna degradacja błony podstawnej odpowiada również za utratę kontaktu komórek śródbłonka i ich odpadanie od powierzchni blaszki miażdżycowej, szczególnie w obszarach zwiększonego ciśnienia i przepływu turbulentnego krwi [33].

Proapoptotyczna aktywność mastocytów odbywa się prawdopodobnie w sposób parakryny. Wskazuje na to fakt, że mastocyty po degranulacji i aktywacji procesu apoptozy w komórkach ściany naczyń same nie podlegają temu procesowi, co wynika z obserwowanej w tych komórkach nadekspresji antyapoptotycznego białka bcl-2, homologu A1 [13].

Aktywacja mastocytów może ponadto przyczyniać się do rozwoju zmian miażdżycowych, poprzez wywieranie bezpośredniego wpływu na metabolizm lipidów. Badania wykazały, że chymaza odpowiada za degradację apolipoprotein (apoA-I, apoA-II, apoE), związanych z cząsteczkami HDL, odpowiedzialnych za zwrotny transport cholesterolu [34,35]. Co więcej, enzym ten wywołuje degradację białka odpowiedzialnego za transport fosfolipidów (PLTP - phospholipid transfer protein), blokując tym samym połączenie fosfolipidów z cząsteczką HDL3 i utworzenie cząsteczki pre β -HDL [36, 37]. Degranulacja mastocytów może również wywoływać degradację cząsteczek LDL, poprzez proteolityczny rozkład apolipoproteiny B-100 [38]. Znaczenie chymazy w metabolizmie lipidów potwierdzają wyniki badań *Uehary* i wsp. [39], w których zastosowanie chemicznych inhibitorów tej proteiny powodowało zahamowanie odkładania się lipidów w ścianie naczyń krwiono-

śnych u zwierząt z wywołaną hipercholesterolemią.

Mediatorzy mastocytów jako markery chorób sercowo-naczyniowych

Ostatnio dużą uwagę poświęca się znaczeniu mediatorów wydzielanych przez aktywowane mastocyty w prognozowaniu chorób sercowo-naczyniowych. W roku 2005 amerykańscy badacze wykazali istnienie znamienne wyższego poziomu tryptazy w osoczu chorych ze stabilną chorobą wieńcową [40]. Postulują oni, że wzrost stężenia tej proteazy w układzie krążenia może odzwierciedlać toczący się proces zapalny w obrębie blaszki miażdżycowej. Autorzy badań wskazują, iż poziom tego enzymu pozostaje niezależnym czynnikiem prognostycznym choroby niedokrwiennej serca, wraz z wiekiem chorych. Badania Sinkiewicz [41] wykazały wyższe stężenie tryptazy w osoczu pacjentów z niestabilną dławicą piersiową w porównaniu z chorymi z ostrym zawałem mięśnia sercowego oraz z osobami zdrowymi. Według autora, wyższe stężenie tryptazy świadczy o aktywności mastocytów w procesie zapalnym toczącym się w obrębie mięśnia sercowego. Ponadto, w przypadkach ostrych zespołów wieńcowych wykazano zróżnicowanie poziomu tego enzymu, co wskazuje na niejednorodny proces aktywacji mastocytów w tych stanach. Podobnych wniosków dostarczają wyniki badań *Filipiaka* i wsp. [42]. W badaniach tych wykazano znaczne zróżnicowanie osoczowego stężenia tryptazy wśród pacjentów z różnymi typami ostrego zespołu wieńcowego. Jak postulują autorzy, oznaczenie tego parametru może stanowić podstawę do wstępnego różnicowania chorych w tej grupie, ze wskazaniem pacjentów z niestabilną blaszką miażdżycową.

Podsumowanie

Coraz więcej danych potwierdza udział mastocytów w patogenezie miażdżycy oraz w destabilizacji blaszki miażdżycowej. Większość obserwacji prowadzona jest *ex vivo*, z wykorzystaniem ludzkich tkanek i hodowli komórkowych oraz na mysich modelach tego schorzenia. Wiadomo jednak, że mastocyty gryzoni wykazują dużo większe zróżnicowanie w porównaniu z mastocytami ludzkimi. Wydzielają na przykład znacznie szerszy panel proteaz serynowych: co najmniej 2 izoformy tryptazy (mMCP-6 i -7) oraz 6 izoform chymazy (mMCP-1, -2, -4, -5, -8, -9) [43]. Sugeruje to zróżnicowanie funkcjonalne tych komórek i ich udział między innymi w odpowiedzi przeciwko mikroorganizmom [11]. Badania nad przebiegiem procesów miażdżycowych z zastosowaniem tego typu modeli mogą nie w pełni odzwierciedlać procesy zachodzące w ludzkich ścianach tętnic. Uzyskane wyniki pozwalają jednak na poznanie mechanizmów oddziaływania mastocytów na ścianę tętnic, które mogą stanowić cel w opracowywaniu nowych strategii terapeutycznych, mających na celu kontrolowanie aktywności tych komórek. W przyszłości może to pozwolić na częściowe zahamowanie procesów miażdżycowych oraz stabilizację istniejącej blaszki miażdżycowej. Tymczasem badacze skupiają się na wykorzystaniu mediatorów uwalnianych

przez mastocyty w diagnostyce schorzeń sercowo-naczyniowych, co być może pozwoli na różnicowanie pacjentów w tej grupie chorych oraz prognozowanie ich stanu klinicznego.

Piśmiennictwo

1. Fu S., Zhao H., Shi J. et al.: Peripheral arterial occlusive disease: global gene expression analyses suggest a major role for immune and inflammatory responses. *BMC Genomics* 2008, 9, 369.
2. Kovanen P.T.: Role of mast cells in atherosclerosis. *Chem. Immunol.* 1995, 62, 132.
3. Haley K.J., Lilly C.M., Yang J.H. et al.: Over-expression of eotaxin and the CCR3 receptor in human atherosclerosis: using genomic technology to identify a potential novel pathway of vascular inflammation. *Circulation* 2000, 102, 2185.
4. Likura M., Suto H., Kajwara N. et al.: IL-33 can promote survival, adhesion and cytokine production in human mast cell. *Laboratory Invest.* 2007, 87, 971.
5. Miller A.M., Xu D., Asquith D.L. et al.: IL-33 reduces the development of atherosclerosis. *J. Exp. Med.* 2008, 205, 339.
6. Laine P., Penttinen M.O., Würzner R. et al.: Evidence for complement activation in ruptured coronary plaques in acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 2002, 90, 404.
7. Oksjoki R., Laine P., Helsing S. et al.: Receptors for the anaphylatoxins C3a and C5a are expressed in human atherosclerotic coronary plaques. *Atherosclerosis* 2007, 195, 90.
8. Baumruker T., Csonga R., Pursch E. et al.: Activation of mast cells by incorporation of cholesterol into rafts. *Int. Immunol.* 2003, 15, 1207.
9. Kelley J., Hemontolor G., Younis W. et al.: Mast cell activation by lipoproteins. *Methods Mol. Biol.* 2006, 315, 341.
10. Laine P., Naukkarinen A., Heikkilä L. et al.: Adventitial mast cells connect with sensory nerve fibers in atherosclerotic coronary arteries. *Circulation* 2000, 101, 1665.
11. Kovanen P.T.: Mast cells and degradation of pericellular and extracellular matrices: potential contributions to erosion, rupture and intraplaque haemorrhage of atherosclerotic plaques. *Biochemical Society Transactions* 2007, 35, 857.
12. Sun J., Sukhova G.K., Wolters P.J. et al.: Mast cells promote atherosclerosis by releasing pro-inflammatory cytokines. *Nat. Med.* 2007, 13, 719.
13. Lindstedt K.A., Leskinen M.J., Kovanen P.T.: Proteolysis of the pericellular matrix. A novel element determining cell survival and death in the pathogenesis of plaque erosion and rupture. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004, 24, 1350.
14. Higuchi S., Tanimoto A., Arima N. et al.: Effects of histamine and interleukin-4 synthesized in arterial intima on phagocytosis by monocytes/macrophages in relation to atherosclerosis. *FEBS Letters* 2001, 505, 217.
15. Andriopoulou P., Navarro P., Zanetti A. et al.: Histamine induces tyrosine phosphorylation of endothelial cell-to-cell adherent junctions. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999, 19, 2286.
16. Ohtsu H.: Progress in allergy signal research on mast cells: the role of histamine in immunological and cardiovascular disease and the transporting system of histamine in the cell. *J. Pharm. Sci.* 2008, 106, 347.
17. Laine P., Kaartinen M., Penttilä A. et al.: Association between myocardial infarction and the mast cells in the adventitia of the infarct-related coronary artery. *Circulation* 1999, 99, 361.
18. Huang M., Pang X., Letourneau R. et al.: Acute stress induces cardiac mast cell activation and histamine release, effects that are increased in apolipoprotein E knockout mice. *Cardiovasc. Res.* 2002, 55, 150.
19. Sasaguri Y., Tanimoto A.: Role of macrophage-derived histamine in atherosclerosis-chronic participation in the inflammatory response. *J. Atheroscler. Thromb.* 2004, 11, 122.
20. Spanbroek R., Grabner R., Lotzer K. et al.: Expanding expression of the 5-lipoxygenase pathway within the arterial wall during human atherogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003, 100, 1238.
21. Lötzer K., Funk C.D., Habenicht A.J.: The 5-lipoxygenase pathway in arterial wall biology and

- atherosclerosis. *Biochim. Biophys. Acta* 2005, 1736, 30.
22. **Kaartinen P., Penttilä A., Kovanen P.T.**: Accumulation of activated mast cells in the shoulder region of human coronary atheroma, the predilection side of atheromatous rupture. *Circulation* 1994, 90, 1669.
 23. **Jeziorska M., McCollum C., Woolley D.E.**: Calcification in atherosclerotic plaque of human carotid arteries: associations with mast cells and macrophages. *J. Pathol.* 1998, 185, 10.
 24. **Dollery C.M., Libby P.**: Atherosclerosis and proteinase activation. *Cardiovascular Res.* 2006, 69, 625.
 25. **Wang Y., Kovanen P.T.**: Heparin proteoglycans released from rat serosal mast cells inhibit proliferation of rat aortic smooth muscle cells in culture. *Circ. Res.* 1999, 84, 74.
 26. **Wang Y., Shiota N., Leskinen M.J. et al.**: Mast cell chymase inhibits smooth muscle cell growth and collagen expression in vitro: transforming growth factor- β 1-dependent and -independent effects. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001, 21, 1921.
 27. **Miyazawa N., Watanabe S., Matsuda A. et al.**: Role of histamine H1 and H2 receptor antagonists in the prevention of intimal thickening. *Eur. J. Pharmacol.* 1998, 362, 53.
 28. **Lappalainen H., Laine P., Pentikäinen M.O. et al.**: Mast cells in neovascularized human coronary plaques store and secrete basic fibroblast growth factor, a potent angiogenic mediator. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004, 24, 1880.
 29. **Kinoshita M., Okada M., Hara M. et al.**: Mast cell tryptase in mast cell granules enhances MCP-1 and interleukin-8 production in human endothelial cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005, 25, 1858.
 30. **Leskinen M.J., Heikkilä H.M., Speer M.Y. et al.**: Mast cell chymase induce smooth muscle cell apoptosis by disrupting NF-kappaB-mediated survival signaling. *Exp. Cell Res.* 2006, 12, 1289.
 31. **Wu W.B., Peng H.C., Huang T.F.**: Disintegrin causes proteolysis of β -catenin and apoptosis of endothelial cells. Involvement of cell-cell and cell-ECM interactions in regulating cell viability. *Exp. Cell Res.* 2003, 286, 115.
 32. **Heikkilä H.M., Lätti S., Leskinen M.J. et al.**: Activated mast cells induce endothelial cell apoptosis by a combined action of chymase and tumor necrosis factor- α . *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008, 28, 309.
 33. **Mäyränpää M.I., Heikkilä H.M., Lindstedt K.A. et al.**: Desquamation of human coronary artery endothelium by human mast cell proteases: implications for plaque erosion. *Coron. Artery Dis.* 2006, 17, 611.
 34. **Lee M., Uboldi P., Giudice D. et al.**: Identification of domains in apoA-I susceptible to proteolysis by mast cell chymase. Implications for HDL function. *J. Lipid Res.* 2000, 41, 975.
 35. **Lee M., Calabresi L., Chiesa G. et al.**: Mast cell chymase degrades apoE and apoA-II in apoA-I-knockout mice plasma and reduces its ability to promote cellular cholesterol efflux. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002, 22, 1475.
 36. **Lee M., Metso J., Jauhainen M. et al.**: Degradation of phospholipid transfer protein (PLTP) and PLTP-generated pre-beta-high density lipoprotein by mast cell chymase impairs high affinity efflux from macrophage foam cells. *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 13539.
 37. **Favari E., Lee M., Calabresi L. et al.**: Depletion of pre- β -high density lipoprotein by human chymase impairs ATP-binding cassette transporter A1- but scavenger receptor class B type I-mediated lipid efflux to high density lipoprotein. *J. Biol. Chem.* 2004, 279, 9930.
 38. **Kokkonen J.O., Vartiainen M., Kovanen P.T.**: Low density lipoprotein degradation by secretory granules of rat mast cells. Sequential degradation of apolipoprotein B by granule chymase and carboxypeptidase A. *J. Biol. Chem.* 1986, 261, 16067.
 39. **Uehara Y., Urata H., Ideishi M. et al.**: Chymase inhibition suppresses high-cholesterol diet-induced lipid accumulation in the hamster aorta. *Cardiovasc. Res.* 2002, 55, 870.
 40. **Deliargyris E.N., Upadhya B., Sane D.C. et al.**: Mast cell tryptase: a new biomarker in patients with stable coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2005, 178, 381.
 41. **Sinkiewicz W.**: Tryptaza - wskaźnik aktywności komórki tucznej w ostrych zespołach wieńcowych. *Folia Cardiol.* 2002, 9, 209.
 42. **Filipiak K.J., Tarchalska-Kryńska B., Opolski G. et al.**: Tryptase levels in patients after acute coronary syndromes: the potential new marker of an unstable plaque. *Clin. Cardiol.* 2003, 26, 366.
 43. **Bot I., de Jager S.C.A., Zernecke A. et al.**: Perivascular mast cells promote atherogenesis and induce plaque destabilization in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2007, 115, 2516.