Review Article

Matrix Metalloproteinase's Role in Producing and Curing of Liver Fibrosis

Vahideh Rabani, M.Sc.[1], Hossein Baharvand, Ph.D[1, 2*]

1. Stem Cells and Developmental Biology Department, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran
2. Developmental Biology Department, University of Science and Culture, ACECR, Tehran, Iran

**** Corresponding Address: P.O.Box: 19395-4644, Stem Cells and Developmental Biology Department, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran***
Email: Baharvand@royaninstitute.com

Received: 31/May/2008, Accepted: 23/Sep/2008

Abstract

Matrix metalloproteinases are a zinc and calcium dependent endopeptidase family that are expressed in injured tissue such as cardiovascular or hepatic disease. Complex efforts of this enzymes on the extra cellular matrix structure is related to up and down regulation of them and their tissue inhibitors. Configuration of extra cellular matrix during pathogenesis, curing and development is affected by two key mechanisms: matrix metalloproteinase and hepatic stellate cell activity. The important role of these enzymes on liver injuries and regeneration are indicated when their effects on migration of bone marrow stem cells and hepatic stem cells was discoverd.

Keywords: Matrix Metalloproteinase, Fibrosis, Hepatic Stellate Cells, Stem Cells

Yakhteh Medical Journal, Vol 11, No 2, Summer 2009, Pages: 106-121

نقش ماتریکس متالوپروتئینازها در ایجاد و بهبود فیبروزوسیروزکبد

وحیده ربانی .M.Sc[۱]، حسین بهاروند .Ph.D[۱،۲*]

۱. پژوهشکده رویان، مرکز تحقیقات علوم سلولی جهاد دانشگاهی، گروه سلول‌های بنیادی و زیست‌شناسی تکوینی، تهران، ایران
۲. دانشگاه علم و فرهنگ ، گروه زیست شناسی تکوینی، تهران، ایران

* آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، صندوق پستی: ۴۶۴۴-۱۹۳۹۵، پژوهشکده رویان، مرکز تحقیقات سلولی جهاد دانشگاهی، گروه سلول‌های بنیادی و زیست‌شناسی تکوینی
پست الکترونیک: Email: Baharvand@royaninstitute.com

دریافت مقاله: ۸۷/۳/۱۱، پذیرش مقاله: ۸۷/۷/۲

چکیده

ماتریکس متالوپروتئینازها، دسته‌ای از اندوپپتیدازهای خنثی وابسته به کلسیم و روی هستند که در اکثر بافت‌هایی که دچار آسیب می‌شوند مثل آسیب‌های قلبی وعروقی، کبدی و... بیان می‌شوند. فعالیت این آنزیم‌ها توسط مهار کننده‌های بافتی آنها تنظیم می‌شود. تغییراتی در میزان بیان این آنزیم‌ها در هنگام بیماری‌های کبدی، تکوین کبد و در طول درمان بیماری‌ها مثل دوره پس از پیوند کبد یا پیوند سلول‌های بنیادی گزارش شده است و این آنزیم‌ها را همراه با فعالیت سلول‌های ستاره‌ای کبد به عنوان یکی از شاخصه‌های برجسته پاتوژنز، بهبود و تکوین معرفی نموده‌اند. تغییر بیان این آنزیم‌ها در زمان بهبود خودبه‌خودی کبد که مرتبط با دخالت سلول‌های بنیادی مقیم کبد و مهاجرت سلول‌های بنیادی از مغز استخوان فرد درگیر دانسته شده است، نشان دهنده موثر بودن بیان و حضور این آنزیم‌ها در مهاجرت و لانه‌گزینی سلول‌های بنیادی مغز استخوان است.

* **کلیدواژگان:** ماتریکس متالوپروتئیناز، فیبروز، سلول‌های ستاره‌ای کبد، سلول‌های بنیادی

فصلنامه پزشکی یاخته، سال یازدهم، شماره ۲، تابستان ۸۸، صفحات: ۱۲۱-۱۰۶

مقدمه

با افزایش روز افزون بیماری‌های کبدی و افزونی نیاز به پیوند آن به دلیل کمبود دهنده و مشکلات ایجاد شده ناشی از آن، دانشمندان را بر آن داشته است تا راه‌های نوینی جهت درمان این نوع بیماری‌ها بیابند. از بهترین گزینه‌ها که شناسایی، معرفی و تا حد خوبی آزموده شده است استفاده از پیوند سلول‌های بنیادی است (۱, ۲). در دنیای ناشناخته‌ای که استفاده از این سلول‌ها به روی ما گشوده شده است، شناسایی عوامل دخیل در تمایز، لانه گزینی ومکانیسم‌های احتمالی بهبود در اولویت قرار دارند. از طرفی برای رسیدن به بهترین وضعیت در درمان بهتر است هم‌زمان با این مسائل مکانیسم‌های ایجاد کننده بیماری‌ها، ترمیم‌های خودبه‌خودی بافت‌ها و نقش سلول‌های بنیادی خود فرد و مکانیسم‌های دخیل در آنها نیز مورد مطالعه قرار گیرد. لذا در این مقاله به معرفی و بررسی نقش انواعی از آنزیم‌ها پرداخته شده که به ماتریکس متالوپروتئینازها معروف است و به تازگی به دلیل حضور موثر و سئوال برانگیز بودنشان در فرایند ایجاد بیماری‌های کبدی و درمان آنها در پروتکل‌های تشخیصی و درمانی، مهم و قابل بحث دانسته شده است. ردپای افزایش و کاهش بحث برانگیز آنها در دوره تکوین کبد، ایجاد بیماری‌ها، پیشرفت و بهبود آنها دیده شده است. لذا به نظر می‌رسد روشن شدن انواع این مکانیسم‌ها و مراحل آن گامی بزرگ در جهت درمان بیماری‌های کبدی خواهد بود.

ماتریکس متالوپروتئینازها چه هستند؟

میان‌کنش سلول و ماتریکس خارج سلولی در تکوین طبیعی و عملکرد ارگانیسم نقش اساسی و مهم دارد. حتی در تمایز در محیط آزمایشگاه نیز موثر است چنانچه مقایسه کشت و تمایز سلول‌های بنیادی شرایط آزمایشگاهی بر بستر سه و دوبعدی نشان داده است که در بستر سه‌بعدی - که به ماتریکس طبیعی نزدیکتر است - بازدهی و کیفیت تمایز در صفاتی چون ترشح آلفا فیتو پروتئین، تولید اوره و تجلی ژن‌های اختصاصی هپاتوسیت مثل آلبومین و گلوکز ۶-فسفاتاز، نسبت به بسترهای دو بعدی و تک لایه بالاتر خواهد بود (۳).مطالعه سلول‌های قلبی (Cardiomyocyte) نشان داده است که کشت و تمایز این سلول‌ها بر بسترهای مختلف، بر بستر کاردیوژل که به ماتریکس خارج سلولی به حالت طبیعی شبیه‌ترین است، بلوغ بهتر و سریع‌تر در این سلول‌ها دیده می‌شود (۴). تلفیق و شکل‌دهی میانکنش سلول-ماتریکس از طریق سیستم یگانه پروتئولیتیکی انجام می‌شود که مسئول هیدرولیز اجزا مختلفی از ماتریکس خارج سلولی است. با تنظیم اتصال و ترکیب ساختار ماتریکس خارج سلولی، این سیستم آنزیمی نقش محوری در کنترل سیگنال‌های خارج شده از مولکول‌های ماتریکس که تکثیر سلولی، تمایز و مرگ سلولی را تنظیم می‌کنند بازی می‌کند. تخریب و بازسازی ماتریکس خارج سلولی می‌بایست تحت تنظیم و کنترل شدید باشد، زیرا هر گونه کاهش و یا افزایش بی‌مورد در این امر موجب ایجاد یک مشکل پاتولوژیک خواهد شد (۵).

ماتریکس متالوپروتئینازها (Matrix Metalloproteinase) که ماتریکسین (Matrixin) هم نامیده می‌شوند، خانواده‌ای از اندو پپتیداز (Endopeptidase) خنثی وابسته به کلسیم و روی هستند در تنظیم ترکیب سلول - ماتریکس نقش عمده‌ای دارد. این آنزیم‌ها در برگیرنده خانواده بزرگی از پروتئینازها هستند که اجزای عملکردی و ساختاری مشترک دارند و از ژن‌های متفاوتی تولید می‌شوند. این آنزیم‌ها در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی نرمال مثل تکوین جنینی، ریخت‌زایی، سازمان‌یابی مجدد بافت و تولید مثل دخیل‌اند.

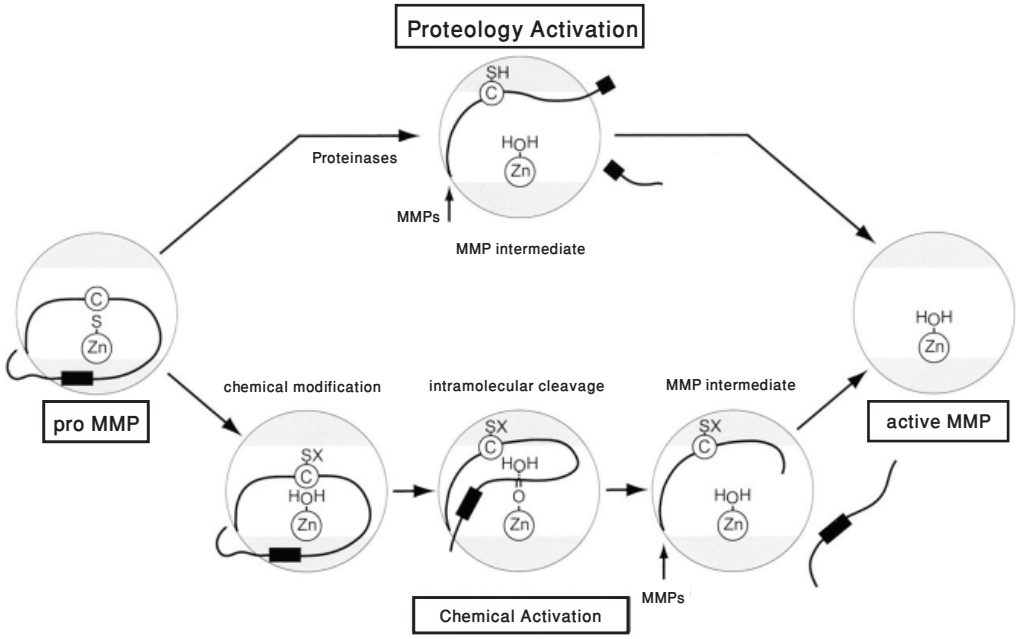
البته این آنزیم‌ها در بسیاری از فرایندهای پاتولوژیکی نیز مثل آرتریت (Arthritis)، بیماری‌های قلبی- عروقی (Cardiovascular)، رشد تومورها و متاستازشرکت دارند (۱۱-۶).

متالوپروتئینازها توسط سلول‌ها به فضای خارج سلولی به صورت پرو آنزیم ترشح می‌شوند و در خارج سلول توسط مکانیسم‌های مختلفی مثل شکسته شدن، درسطح سلول اختصاصی فعال می‌شوند(شکل ۱) (۱۲).

فعالیت کاتالیتیکی این آنزیم‌ها در شرایط نرمال در سطح رونویسی، ترشح، فعالیت زیموژن‌های پیش‌ساز (Precursor) و میان‌کنش اختصاصی با اجزای ماتریکس خارج سلولی (Extracellular Matrix)، با مهار کننده‌های داخلی اندوژن تنظیم می‌شود (۱۵-۱۳). این مهار کننده‌های بافتی (Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase: TIMP) و آلفا ماکروگلوبولین (Alpha- Macroglobulins) هستند (۱۶) که در حال حاضر چهار TIMP (TIMP1,2,3,4) شناخته شده‌اند؛ همه آنها پروتئین‌هایی با وزن مولکولی پایین (در حدود ۲۱ دالتون) بوده و شباهت‌های ساختاری به هم دارند (۱۷، ۱۸). یک عضو واحد از خانواده TIMP تاثیر انتخابی بر اعضای مختلفی از MMP ها دارد (۱۴). مثلا TIMP-1 فعالیت اکثر MMPها را کنترل می کند به خصوص MMP-1 را در حالی که TIMP-2 مهار کننده اصلی MMP-2 است (۱۴). اما طبق نظر بعضی از دانشمندان همه TIMPها می‌توانند همه MMPها را مهار کنند (۱۹). TIMPها از سلول‌های مختلفی ترشح می‌شوند و گاه ترشح آنها همراه با MMPهاست و یک اتورگولاتور محلی (Local Auto Regulator) برای فعالیت MMPها هستند. اتصال TIMPها به دومین کاتالیتیکی در مهار فعالیت آنزیمی MMPها بسیار موثراست. در مورد ژلاتینازها، نشان داده شده است که TIMPها به فرم زیموژن این آنزیم‌ها متصل می‌شوند و در حقیقت با جلوگیری از فعالیت این آنزیم نقش تنظیمی خود را ایفا می‌کنند (۱۸، ۲۰). هر چند که به تازگی نشان داده شده است که TIMP-2 یک ساختار ۳ مولکولی در سطح سلولی با MMP–MT1 و ProMMP-2 تشکیل می‌دهد و شکل‌گیری و میزان غلظت MMP-2 را تنظیم می‌کند (۲۱)TIMPها را که امروزه به عنوان یک پروتئین چند عملکردی می‌شناسند، استروئیدوژنز را تحریک و آنژیوژنز را مهار کرده و باعث القای تغییر شکل سلولی می‌شود (۱۴). بیان TIMP در تومورها از گسترش و متاستازی شدن آنها جلوگیری می‌کند و دیده شده است که در اثر تزریق داخل صفاقی TIMP 2، سلول‌های ملانومای (Melanoma B16) ریه قادر به تشکیل کلونی نخواهند بود (۲۲). البته لازم به ذکر است که تاثیر TIMP بر تومورها، چند عملکردی و ضد و نقیض است به این صورت که:

۱. هرچند که این پروتئین‌ها بر رشد تومور و متاستاز اثر مهارکنندگی دارد ولی دیده شده است که بیان بیش از حد ژن TIMP باعث تحریک رشد و اثرات ضد آپوپتوتیکی (Anti Apoptotic) می‌شود و با در نظر گرفتن این نکته که MMPها در مراحل آخر پیشرفت تومور باعث متاستاز می‌شوند، این اثرضد آپوپتوتیکی TIMPها می‌تواند باعث رشد تومور در مراحل اولیه شود.

۲. تاثیرات ضدآنژیوژنزی TIMP بر تومورها هنوز به طور کامل روشن نشده است.



شکل ۱: فعالیت مرحله به مرحله ProMMPها. ProMMPها به صورت زیموژن‌های غیرفعال ترشح می‌شوند و می‌توانند توسط پروتئینازها (مسیر بالا) و مواد غیرپروتئولیتیکی (مسیر پایین) فعال شوند. دومین کاتالیتیکی توسط دایره نشان داده شده است که شامل سایت کاتالیتیکی روی می‌باشد. پروپپتیدها نیز به صورت شماتیک به شکل خط سیاه که شامل ناحیه برش پروتئین (Bait) (مستطیل سیاه) و سوییچ سیستئین می‌باشد (C). SH نشان دهنده سولفهیدریل سیستئین است. فعالیت با پروتئینازها توسط شکست در ناحیه برش پروتئین، انجام می‌شود که MMP را به صورت ناقص فعال می‌سازد. فعالیت کامل با برداشتن کامل پرو پپتید توسط فرایندهای بین مولکولی به دست می‌آید. فعالیت شیمیایی بر پایه تغییرات سوییچ سولفهیدریل سیستئین (SX) باعث فعالیت ناقص MMP وشکست بین مولکولی پرو پپتید می‌شود. فعالیت کامل با بر داشته شدن بقایای پرو پپتید توسط فرایندهای بین مولکولی است (۵).

۳. TIMP رشد سلولی را هم تحریک می‌کند. این اثر زمانی شناخته شد که TIMP-1, 2 پتانسیل تحریک و تکثیر اریتروئیدی را نشان دادند و هم‌اکنون مشخص شده است که این دو بر سلول‌های غیراریتروئیدی مثل کراتینوسایت‌های (Keratinocyte) نرمال، فیبروبلاست‌ها (Fi-broblast)، آدنوکارسینومای (Adenocarcinoma) ریه و سلول‌های ملانوما نیز اثر میتوژنیکی (Mitogenic) دارد.

۴. در مورد فعالیت ضدآپوپتوتیکی هم در میان TIMPها تضاد وجود دارد زیرا TIMP-1, 2, 4 فعالیت ضد و TIMP-3 فعالیت القاگری در مورد آپوپتوسیز دارد.

TIMPها توانایی این را دارند که بر بقای سلول از طریق حداقل دو مکانیسم مختلف تاثیر بگذارند:

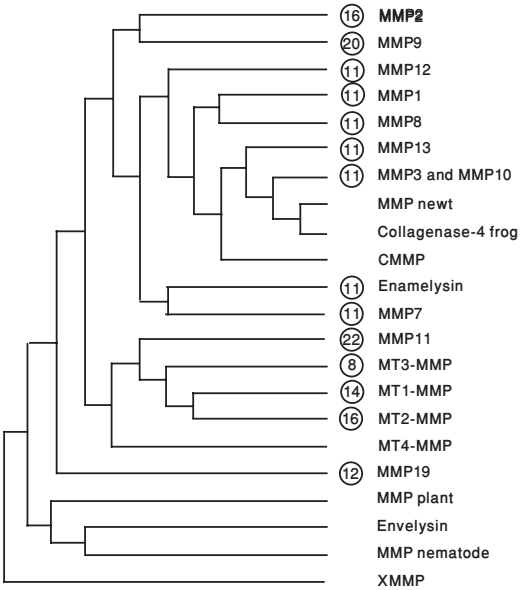
۱. مسیر فعالیت بر ضد MMP

۲. مسیر مستقل از MMP

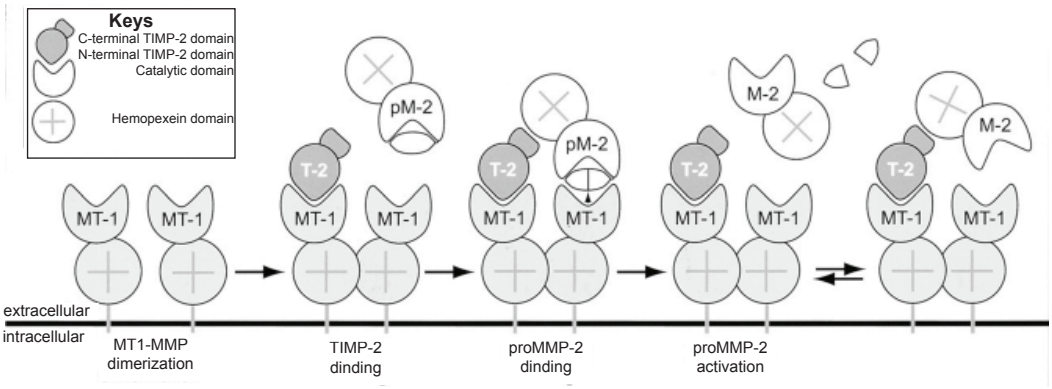
در مورد مکانیسم اول باید گفت از آنجا که میانکنش میان ماتریکس – سلول بر قدرت زنده ماندن سلول‌ها تاثیر دارد، مثلا جدا کردن سلول‌های وابسته به لنگر (Anchoring Dependent) از اجتماع آنها با ماتریکس خارج سلولی با عث آپوپتوسیز آنها می‌شود، بنابراین با مهار این فعالیت MMPها، TIMPها می‌توانند بر زنده ماندن سلول‌ها نقش داشته باشند. ازطرفی بسیاری از اعضای خانواده MMPها عملکرد پرو آپوپتوتیکی از خود نشان می‌دهند، بنابراین، همه TIMPها به جز TIMP-3 می‌تواند سلول‌ها را با مهار MMPها از آپوپتوسیز نجات دهند (۲۲).

رده‌بندی MMPها

خانواده MMPها بر اساس پیش ماده‌ای که بر آن موثرند به خانواده‌های زیر، دسته‌بندی می‌شوند (۵، ۱۶) (شکل۲):



شکل ۲: دندرو گرام تکاملی خانواده MMP. دندرو گرام ساده‌ای براساس توالی ژنی و دومین‌های مختلف توالی یابی شده در اعضای این خانواده رسم شده است که به بررسی اعضای این خانواده از لحاظ نزدیکی ژن‌ها در این آنزیم‌های قدیمی و به شدت حفظ شده در طول تکامل می پردازد.آنزیم‌هایی که در کنار اسامی آنها دایره وجود دارد به صورت اصلی در کروموزوم انسانی وجود دارد (۱۶).



شکل ۳: مدل فعال‌سازی ProMMP-2 توسط MMP-MT1 و MT1-MMP (TIMP-2.MT-1)- فعال شده بر روی غشا با یک مولکول (T-2) TIMP-2 و فعالیتش مهار می‌شود. MT1-MMP می‌تواند با استفاده از میانکنش دومین هموپکسین تشکیل دایمر و یا مولتی مر بر سطح سلولی دهد.pro-MMP-2 متعاقبا از طریق دومین هموپکسین به دومین C– ترمینال -2 TIMP متصل می‌شود. دومین فعال MT1-MMP ناحیه برش پروتئین proMMP-2 را می‌شکند و به صورت ناقص آن را فعال می‌سازد. (M-2) MMP-2 از غشا جدا شده و به صورت کامل توسط فرایندهای بین مولکولی فعال می‌شود (۵).

۱. کلاژنازها (Collagenase): کلاژن‌های بافت هم‌بند را تخریب (Neutrophil) MMP-1، (Interstitial Collagenase) MMP-18، MMP-13، MMP-8 (Collagenase) (در زنوپوس). MMP-8 و MMP-13 و کلاژن‌های تیپ یک، دو و سه را تجزیه می‌کنند (۲۳).

۲. ژلاتینازها (Gelatinase): کلاژن‌های نوع چهار، پنج، هفت و ده و الاستین (Elastin) را تجزیه می‌کنند (۲۳) MMP-2 (ژلاتیناز A) MMP-9 (ژلاتیناز B). این آنزیم‌ها در توالی پروتئینی خود علاوه بر دومین‌های موجود در همه MMPها، دومینی نیز دارند که به ژلاتین و یا فیبرونکتین نوع دو متصل می‌شوند و ژلاتین یا کلاژن را دناتوره می‌کنند (۲۴).

۳. استرومیلیسین‌ها MMP-3: (Stromelysins) استرومیلیسین ۱)، MMP-10 (استرومییلسین ۲)، MMP-11 (استرومیلیسین ۳ که این آنزیم یک استثنا بوده و هیچ کدام از اجزای اصلی ماتریکس خارج سلولی را تجزیه نمی کند) (۲۳).

۴. ماتریلیسین‌ها (Matrilysin): هسته پروتینی پروتئوگلیکان‌های لامینین، فیبرونکتین، الاستین، ژلاتین وکلاژن‌های غیر مارپیچ را تخریب می‌کنند: MMP-7 و MMP-26 (۲۳).

۵. MMPهای غشایی
(Membrane type MMP): MMP-14(MT1-MMP)، MMP-15(MT2-MMP)، MMP-16(MT3-MMP)، MMP-24

که همگی پروتین هستند و MMP-17 (MT4-MMP) و MMP-25 که گلیکوفسفاتیدیل اینوزیتول هستند.

۶. سایر MMPها: MMP-12 (Macrophage Metalloelastase) که در ماکروفاژها برای مهاجرت بیان می‌شود و الاستین‌های نا محلول، کلاژن نوع چهار، فیبرونکتین، لامینین، انتاکتین (Entactin) و پروتئوگلیکان‌ها را تخریب می‌نماید (۲۳)، MMP-19 (Plant Metalloprotease) در کبد و گیاهان، MMP-20 و MMP-22 که در فیبروبلاست جوجه، MMP-23 در بافت‌های تولیدمثلی بیان می‌شود و MMP-28 در اپی‌لایزین بیان شده در کراتینو سایت‌هاست.

MMP و TIMPها و نقش آنها در ایجاد و بهبود فیبروز کبد

در حالت آرامش و به صورت نرمال، سلول‌های ستاره‌ای کبد (Hepatic Stellet Cell) در فضای دیس (Diss) و پری سینوزوئیدال پورتال (Portal Presinosuidal) (که ناحیه‌ای در کبد بین اندوتلیوم سینوزوییدال و هپاتوسیت‌هاست) هستند و علاوه بر ذخیره کردن ویتامین آ، در حد بسیار کمی ماتریکس خارج سلولی ترشح کرده و با ساختارهای خارج سلولی شامل تیپ چهار کلاژن، لامینین و پروتئوگلیکان‌ها در ارتباط هستند (۱۲، ۲۵، ۲۶). اما در هنگام آسیب‌ها یا تحریکات، این سلول‌ها از این فضاها خارج شده، آلفا اکتین عضلات صاف (α-SMA و Alpha Smooth Muscle Actin) را بیان کرده، تغییر فنوتیپ داده و با فنوتیپی شبیه فنوتیپ میو فیبروبلاست‌ها وارد پارانشیم کبد شده و سبب ایجاد فیبروز می‌شوند (۱۲). سلول‌های ستاره‌ای کبدکه در اثر آسیب فعال شده‌اند، تکثیر شده و با افزایش شبکه‌ای این سلول‌ها میزان سنتز ماتریکس توسط آنها نیز افزایش یافته و فیبروز کبدی پیشرفت می‌کند. فعالیت این سلول‌ها در دوره آسیب التهابی نکروتیک مثل آسیب‌های توکسیک یا التهابات ویروسی در انسان، ایجاد مسمومیت با تتراکلرید کربن، با آزاد کردن میانجی‌هایی از سلول‌های تخریب شده و یا هپاتوسیت‌های آپوپتوسیز شده یا ترشحات التهابی تحریک می‌شود. از طرفی تغییر در ماتریکس خارج سلولی که تا حدی توسط خود این سلول‌ها ترشح می‌شود، بر تکثیر و بقای سلول‌های ستاره‌ای تاثیر دارد (۲۶).

بعضی از دانشمندان در مورد نقش TIMP, MMPها در ایجاد و پیشرفت فیبروز کبدی عقیده دارند در مراحل اولیه ایجاد آسیب فعالیت MMPها غالب بوده و باعث از هم گسیخته شدن ماتریکس خارج سلولی می‌شود و در مراحل آخرپس از فعال شدن سلول‌های ستاره‌ای و ترشح ماتریکس فیبروتیک فعالیت TIMPها غالب شده و باعث رسوب و پایداری کلاژن‌ها در ماتریکس از هم گسیخته خارج سلولی می‌شود. این تغییرات ایجاد شده نشان می‌دهد که تخریب ماتریکس کبد نرمال ممکن است با پاتوژنز فیبروز کبدی به خصوص در مراحل اولیه پاسخ به آسیب کبدی هم‌سو باشد (۲۷).

شواهدی بر انجام این واکنش‌ها وجود دارد که اصلی‌ترین آن بر پایه مشاهده توانایی MMPها بر تجزیه و تخریب ماتریکس خارج سلولی کبد نرمال است که در کبد آسیب دیده و فیبروزه بیان می‌شود. از مهم‌ترین این آنزیم‌ها می‌توان به MMP-9، MMP-2 و MMP-3 اشاره کرد که همه آنها در کبد مطالعه شده است (۱۲):

• پروژلاتینیاز A: این آنزیم در محیط کشت توسط سلول‌های ستاره‌ای که فعال شده‌اند ترشح می‌شود. این پرو آنزیم در سطح سلول در یک میانکنش سه مولکولی که در آن MMP-14، MMP-MT1 TIMP-2، حضور دارند، فعالیت خود را نشان می‌دهد (شکل ۳). مطالعات نشان داده است که سلول‌های ستاره‌ای کبد که در محیط فعال می‌شوند، این سه جز را بیان می‌کنند. تشکیل ژلاتیناز A توسط بیان MMP-MT1 و فعالیت آن تنظیم می‌شود. چون MMP-MT1 یک مولکول ترا غشایی است و شکل فعال ژلاتیناز در سطح سلول‌های ستاره‌ای کبد بیان می‌شود، مکان خوبی برای ایجاد مزاحمت در میان‌کنش‌های ماتریکس سلولی نرمال پدید می‌آورد. مشاهدات اخیر نشان می‌دهد که فعالیت پروژلاتیناز A با میانجی‌گری سلول‌های ستاره‌ای کبد در حضور کلاژن نوع یک (پروتین اصلی ماتریکس خارج سلولی در کبد فیبروتیک) به طرز معنی‌داری القا می‌شود. این مسئله باعث تخریب ماتریکس نرمال کبدی شده و کبد را به سمت فعالیت بیشترسلول‌های ستاره‌ای سوق داده و سنتز کلاژن نوع یک را افزایش می‌دهد. این چرخه ایجاد شده باعث پیشرفت فیبروز می‌شود. در مطالعاتی که در آن افراد مبتلا به بیماری‌های کبدی ومدل‌های حیوانی فیبروز کبدی بررسی می‌شوند، شواهدی مبنی بر بیان پروژلاتیناز A و شکل‌گیری نوع فعال آن دیده شده است (۲۸، ۲۹). در بیماران با هپاتیت مزمن و یا سیروزی، mRNAی MMP-MT1 و ژلاتیناز A در مکان‌هایی بیان می‌شوند که سلول‌های ستاره‌ای فعال شده حضور دارند (۲۸). مطالعات دیگر نشان داده است که در مدل حیوانی فیبروز کبدی که با استفاده از تتراکلرید کربن ایجاد شده است، رابطه واضحی بین پیشرفت فیبروز کبدی و افزایش بیان پرو ژ لاتیناز A و افزایش میزان ژلاتیناز A فعال شده وجود دارد (۲۹). به نظر می‌رسد این آنزیم در سازمان‌یابی مجدد بافت غشا پایه نیز نقش مهمی را ایفا می‌کند زیرا کلاژن‌های مختلفی مثل کلاژن نوع چهار، لامینین و فیبرونکتین را تجزیه می‌کند (۱۴). در زمان فیبروژنز در بافت‌های دیگر مثل ریه، قلب و کلیه نیز این آنزیم بیان می‌شود و در طول پیشرفت فیبروز بیان آن افزایش می‌یابد. مطالعات اخیر نشان داده است که مهار فعالیت MMP-2 یا بلوکه شدن سنتز MMP-2 ممکن است اثر باز دارندگی بر تکثیر سلول‌های مزانژیال

و سنتز کلاژن نوع یک در محیط آزمایشگاه شود و این خود می‌تواند دلیلی بر نقش احتمالی MMP-2 به عنوان فاکتور رشد و فعال‌کننده در سلول‌های مزانژیال باشد. این نقش را احتمالا MMP از طریق مسیرهای اتوکرینی انجام می‌دهد. در فیبروز کبدی یا در مدل حیوانی رت‌هایی که با تتراکلریدکربن دچار فیبروز کبدی شده‌اند، بیان mRNA این آنزیم چندین برابر زیاد می‌شود. هم‌چنین افزایش بیان آن در محیط کشت سلول‌های ستاره‌ای فعال شده هم گزارش شده است (۱۴).

• پرو ژلاتئیناز B: یا MMP-9 نیز در کبد یافت می‌شود و منبع اصلی سلولی آنها سلول‌های کوپفر است (۳۰). بیان این آنزیم با افزایش فعالیت سلول‌های کوپفر به طور معنی‌دار افزایش می‌یابد ولی بخش عمده این آنزیم به صورت پرو آنزیم ترشح می‌شود. پروژلاتیناز B توسط پلاسمین و استرومیلیسین فعال می‌شود. از طرفی به دلیل آنکه سلول‌های ستاره‌ای کشت شده فعال‌کننده پلاسمینوژن از نوع یورو کیناز (uPA) (شکل ۴) و گیرنده و uPA که در حضور پلاسمینوژن، پلاسمین را تولید می‌کنند بیان می‌شود (۳۱)، از نظر تئوریک می‌توان فعالیت پرو ژلاتیناز B را در سطح سلول‌های ستاره‌ای فرض کرد. اثر فعال‌کنندگی به این صورت است که با تنظیم کاهشی (Down regulation)TIMP-1، پلاسمین که فعال کننده بالا دست ProMMP-3 (upstream) است به راه افتاد که این پرو آنزیم توانایی فعال‌کنندگی ProMMP-9 را داراست (۵). MMP-9 در تمایز بین رده‌ای سلول‌های ستاره‌ای نقش اساسی دارد. در رت‌هایی که مجرای صفراوی آنها بسته شده بود، افزایش فعالیت ژلاتیناز B دیده شده است (۳۲) که این مسئله موید آن است که این آنزیم نیز نقش مهمی درایجاد فیبروز کبدی دارد.

• پرو استرومیلیسین یک: این آنزیم یا MMP-3 در محیط کشت اولیه سلول‌های ستاره‌ای ترشح می‌شود، ولی بر خلاف ژلاتیناز A، بیان آن بسیار گذرا بوده و در طول ۷۲-۴۸ ساعت بعد به اوج خود می‌رسد (۱۲). تا کنون هیچ داده‌ای مبنی بر بیان این آنزیم در آسیب‌های مزمن و فیبروز کبدی پیشرفته منتشر نشده است. هرچند که این آنزیم توانایی از بین بردن ماتریکس طبیعی کبد بعد از آسیب کبدی یا به صورت پیشرفت فیبروز کبدی را دارد.

در حقیقت، پروتئین‌های وابسته به ماتریکس مثل کلاژن نوع چهار، لامینین و پروتیو گلیکان‌ها در کبد فیبروتیک تجمع پیدا می‌کنند. توجیهات مختلفی برای این تناقض وجود دارد (۳۳):

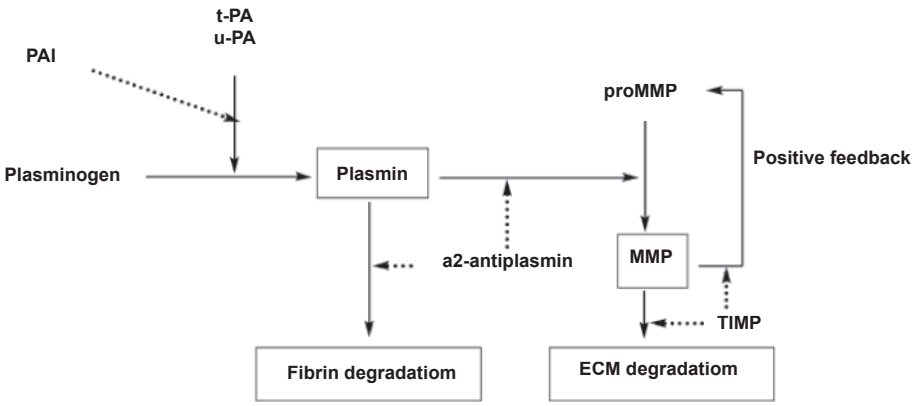
۱. ممکن است تخریب ماتریکس در جای مخصوصی اتفاق بیفتد که نتیجه آن عملکرد مهم سلول‌های ستاره‌ای یعنی رسوب ماتریکس در مکان دورتری است.

۲. افزایش میزان کلاژن نوع چهار، لامینین و پروتئوگلیکان‌ها در کبد فیبروتیک سبب ایجاد ماتریکسی می‌شود که نمی‌تواند میانکنش سلول – ماتریکس را با سلول‌های ستاره‌ای به همان صورتی انجام دهد که ماتریکس کبد نرمال انجام می‌دهد.

۳. ممکن است عملکرد این آنزیم‌ها متفاوت از آن شکل مورد نظر باشد. برای مثال، سوبستراها در ماتریکس هدف، کبد فیبروتیک، ممکن است شامل پروتئین‌های ماتریکسی متفاوت یا شاید فعالیت پروتیولیتیکی ضد دسته دیگری از سوبستراها همراه با هم جهت‌دهی باشد. در سیستم‌های سلولی دیگر (کراتینوسایت‌ها و سلول‌های توموری) واکنش بین مولکول سطحی سلول CD44 و ژلاتیناز B فعال شده، مثالی از این پدیده است. در این واکنش CD44 به عنوان عرشه‌ای روی سطح سلول برای ژلاتیناز B عمل می‌کند و این ساختار در فعالیت TGF-β1, 2, 3 در شکل نهفته به شکل پروفیبروژنیک آنها شرکت می‌کند. گروه مشابهی نیز فعالیت TGF-β را در شکل نهفته آن که با ژلاتیناز A فعال شده توصیف می‌کنند. هر چند مشخص نیست واقعا چنین سیستمی در فعالیت کبد نقش دارد یا خیر؟ اما ممکن است مکانیسم‌های پرو فیبروژنتیکی بالقوه دیگری که با فعالیت متالو پروتیئنازها شروع می‌شود، وجود داشته باشد. مثلا ژلاتیناز A فعال شده در تحریک تکثیر سلول‌های ستاره‌ای از طریق مکانیسم ناشناخته‌ای که به فعالیت متالوپروتینازها وابسته است، عمل کند (۳۴). در آزمایشی نشان داده شده است که در میان ۸۰۰ ژنی که در آزمایش ریز آرایه (Microarray) پس از تحریک سلول‌های ستاره‌ای تنظیم افزایشی (Upregulation) نشان دادند، ژن‌های زیر نیز دیده شده‌اند: MMP-3, MMP-9, MMP -10, MMP-12, MMP-13 (۵).

تخریب ماتریکس فیبروتیک در کبد

در کبد فیبروتیک شبکه‌ای از ماتریکس فیبریلار غالبا شامل کلاژن‌های داخلی نوع ۱ و ۳ است، این مولکول‌های پروتئینی مارپیچی سه رشته‌ای نسبتا به فعالیت پروتئینازها مقاومند ولی ناحیه‌ای اختصاصی (GLY-Ile/Leu) در زنجیره آلفایشان دارند که با کلاژناز نوتروفیل MMP-8 و MMP-13 در رت و MMP-1 در انسان شکسته می‌شود.



شکل۴: نمای شماتیک از میان‌کنش بین سیستم فیبرینولیتیک (fibrinolytic) (پلاسمینوژن/پلاسمین) و ماتریکس متالوپروتئینازها. سیستم فیبرینولیتیک شامل یک پرو آنزیم و پلاسمینوژن است که توسط نوع بافتی (t-PA) یا یوروکیناز (u-PA) فعال‌کننده پلاسمینوژن تبدیل به آنزیم فعال می‌شود. پلاسمین فیبرین را تجزیه کرده و نوع نهفته ماتریکس متالوپروتئینازها proMMP را به فرم فعال تبدیل می‌کند. که می‌تواند ماتریکس خارج سلولی را تجزیه نماید. فعالیت همچنین توسط فیدبک مثبت به طوری که MMP فعال شده می‌تواند سایر MMPها را نیز فعال نماید تنظیم می‌شود. اثرات میانجی‌گری شده با پلاسمین توسط آلفا-۲ آنتی پلاسمین و میانجی‌گری شده با MMP با TIMP مهار می‌شوند (۲۳).

MMPهای دیگری هم می‌توانند در تجزیه کلاژن فیبریلار شرکت کنند. شکل فعال این MMPها می‌تواند با تمام TIMPها مهار شود که مولکول مهم وتنظیم کننده‌ای در تعمیر و سازمان‌یابی مجدد بافت است (۱۲).

پیشرفت فیبروز کبدی همراه با مهار تجزیه ماتریکس است

با مطالعاتی که برروی MMPها و TIMPهای مرتبط با هم در کشت سلول‌های ستاره‌ای کبد انجام شده است، به شدت پیشنهاد می‌شود که پیشرفت فیبروز کبدی همراه با مهار تجزیه ماتریکس در کبد است. در سلول‌های ستاره‌ای کبد کشت شده رت، MMP-13 به طور گذرا در مراحل اولیه کشت پایه (روز ۴-۱ دقیقا مثل استرومیلیسین) بیان می‌شود ولی بعد کاهش می‌یابد. به طوری که در مراحل آخر کشت غیر قابل ردیابی می‌شود. برخلاف اینکه بیان TIMP-1 و TIMP-2 در طول کشت سلول‌های ستاره‌ای کبد به طور ناگهانی افزایش می‌یابد. نتایج مشابهی نیز در مورد کشت سلول‌های ستاره‌ای کبدهای انسانی به دست آمده است اما بیان MMP-1 تنها در سلول‌هایی دیده شده است که در معرض TNF-α بوده‌اند (۱۲).

در مطالعاتی که بر روی عملکرد آزاد شدن TIMPها با زیموگرافی انجام شده است، نشان داده که TIMP در مهار تجزیه ماتریکس بسیار مهم است و با جداسازی TIMPها از MMPها در سرباره (Supernatant) کشت سلولی افزایش ۲۰ برابری فعالیت MMP را نشان دادند (۱۲).

در بیماری‌های مزمن کبدی و مدل‌های حیوانی فیبروز افزایش معنی‌داری در TIMP-1 و TIMP-2 نیز دیده شده است. در مورد بیمارانی که بیماری‌های زیر را داشته‌اند در نمونه‌های کبد برداشته شده نیز افزایش معنی‌دار در بیان این دو آنزیم دیده شده است (۳۴، ۳۵):
Sclerosing cholagitis, Biliary atresia, Primary biliary, Cirrhosis , Autoimmune chronic active hepatits.

نتایج حاصل از تست الیزا (ELISA) افزایش بیان TIMP-1 mRNA افزایش پروتین TIMP-1 را هم نشان می‌دهد که در کبد فیبروزه تا ۵ برابر بیشتر از کبد نرمال است (۱۲).

با مطالعاتی که با استفاده ازهیبریداسیون درجا (In Situ hybridization) و ردیابی رو نوشت‌های TIMP-1 و TIMP-2 انجام شده است، مکان آنها را معمولا با سلول‌های ستاره‌ای کبد در یک جا دیده‌اند. این مطالعات چه در کبد فیبروتیک انسان و چه در مدل فیبروزی حیوانی همین نتیجه را داشته است (۳۶).

در مطالعات بر روی مدل‌های حیوانی، وقایع مولکولی را نشان داده‌اند که TIMP-1 و TIMP-2 سریع و به طور معنی‌داری ۳-۶ ساعت بعد از آسیب افزایش می‌یابد و در فاز مزمن هر دو مدل تتراکلریدکربن و بستن مجرای صفراوی در حالت افزایش باقی می‌ماند.

این تغییر در TIMPها با آنچه که در مورد MMP-1 و MMP-13 در کبد فیبروتیک مشاهده می‌شود، در تضاد است، زیرا بیان آنها با آنچه که در کبد سالم دیده می‌شود در هر مرحله‌ای از فرایند فیبروز تغییر نکرده باقی می‌ماند. این مسئله هم‌چنین به طور چشم‌گیری با تغییرات گزارش شده در مورد ژلاتیناز A و MT1-MMP نیز متضاد است (۳۶).

بیان TIMP بر پرو کلاژن یک مقدم است و این نشان می‌دهد که پروتئین‌های ماتریکس فیبریلار در محیط خارج سلولی رسوب می‌کنند؛ یعنی همان جایی که در این لحظه از تخریب ماتریکس جلوگیری می‌شود. علاوه بر مهار ماتریکس خارج سلولی، TIMها به تازگی نقش مهمی در تنظیم آپوپتوسیز بعضی از سلول‌ها ایفا می‌کند. TIMP-1 آپوپتوسیز لنفوسیت‌های B و سلول‌های اپیتلیالی پستان را مهار می‌کند. در هر دو مطالعه نشان داده شده است که این تاثیر از مهار فعالیت MMP و هر تاثیری بر میانکنش‌های سلول – ماتریکس مستقل است (۳۷، ۳۸). اگر TIMP-1، همان تاثیر را بر فعالیت سلول‌های ستاره‌ای کبد داشته باشد، مکانیسم دیگری که مطرح می‌شود این است که TIMP ها در پاتوژنز کبد فیبروزه نقش دارند. برای تعیین دقیق نقش TIMP ها نیاز به استفاده از ابزارهای ژنتیکی و سایر تکنیک‌های پیشرفته است. تحلیل رفتن فیبروز کبدی همراه با افزایش تجزیه ماتریکس است.

به تازگی نشان داده شده است که بهبود یافتن از فیبروز هپاتیک در مدل‌های آسیب کبدی تتراکلرید کربن و بستن مجرای صفراوی شکل می‌گیرد و دو کلید مهم این رویداد یکی آپوپتوسیز سلول‌های ستاره‌ای و دیگری تخریب ماتریکس فیبروتیک کبد است (۲۶).

بهبود کبد بلافاصله بعد از مثلا از بین رفتن ویروس هپاتیت C، درمان بیماری مزمن کبدی و یا برداشتن آسیب مزمن در مدل‌های حیوانی شروع می‌شود (۲۶).

در رت‌هایی که با تتراکلرید کربن دوبار در هفته و به مدت ۴ هفته تیمار شده بودند، فیبروز با تشکیل سپتا و نودول‌های اولیه ایجاد شد. باتوقف تزریق پس از ۴ هفته فیبروز کاملا از بین رفته و ساختار کبد طبیعی دوباره تشکیل شد اما اگر تزریق تتراکلرید کربن به مدت چهار هفته دیگر ادامه می یافت ، فیبروز به سیروز مبدل می شد (۳۹)؛ سیروز مرحله نهایی پیشرفت فیبروز کبد است که با به بهم ریختگی ساختار کبد و ایجاد نودول‌های رژنراتیو توصیف می‌شود (۴۰).

آزمایش‌ها نشان داده است که نوع یک کلاژن، شکل فعال سلول‌های ستاره‌ای را تحریک و یا پایدار می‌سازد، از طرفی ترمیم یا تعویض هپاتوسیت‌های آسیب دیده باعث انحلال فیبروز می‌شود. این مسئله پیشنهاد می‌کند که ترمیم هپاتوسیت‌ها باعث تغییرات مهمی در تبادلات بین سلولی می‌شود که با عث کاهش یافتن تعداد سلول‌های ستاره‌ای توسط آپوپتوسیز است اما خود سلول‌های ستاره‌ای کبد هم می‌توانند کلاژن‌های داخلی مثل نوع یک را تخریب نمایند. زیرا ممکن است این سلول‌ها ی فعال شده مقدار کمی کلاژناز موشی MMP-13 و MMP-14 (MT1-MMP) و ژلاتیناز A (MMP-2) را آزاد کنند که فعالیت کلاژناز داخلی دارند (۲۶). تخریب کلاژن نوع یک در پیشرفت فیبروز به طرز چشم‌گیری توسط بیان زیاد TIMP مهار می‌شود. در این موردآزمایشی به این صورت طراحی و انجام شد:

موشی طراحی و تولید شد که کلاژن‌های آن به تخریب با خانواده MMPها مقاوم بودند. میزان کلاژن MMPها در طول دوره آسیب و بهبود آن اندازه‌گیری شد تا پاسخ سؤالات زیر داده شود:

آیا در طول دوره بهبود میزان کلاژن در کبد کم خواهد شد یا خیر؟ آیا MMPها در دوره بهبود باعث تخریب کلاژن می‌شوند؟ در مقایسه‌ای که بین موش طراحی شده و موش طبیعی انجام شد، میزان هیدروکسی پرولین (که نشان دهنده میزان پروتئین کلاژن موجود در بافت است) و بیان کلاژن نوع یک، TIMP-1 و SMA-α (که اندیکاتور میزان حضور سلول‌های ستاره‌ای فعال شده در کبد است) در موش‌های طراحی شده در دوره بهبود هم‌چنان در حالت افزایش معنی‌دار باقی می‌ماند. لذا می‌توان نتیجه گرفت MMPها تا حد زیادی در تخریب کلاژن در دوره بهبود نقش دارند. نتیجه دیگر این است که تخریب کلاژن نوع یک با تسهیل برداشتن سلول‌های ستاره‌ای فعال به بهبود کبد کمک می‌کند و به نظر

می‌رسد که کلیدی ترین نقش در تخریب کلاژن‌ها درزمان بهبود در موش‌های طبیعی را، MMP-13 بازی می‌کند. بنابراین با توجه به اینکه وقتی هپاتوسیت‌ها مجروح می‌شوند از خودشان فاکتورهای بهبودی مثل (Insulin Like Growth Factor: IGF-1) ترشح می‌کنند که باعث بقای سلول‌های ستاره‌ای فعال می‌شود و فعالیت این سلول‌ها باعث تولید کلاژن و ادامه آسیب می‌گردد، مدلی که نتواند کلاژن‌ها را تخریب نماید، نمی‌تواند هپاتوسیت‌هایش را تکثیر و از فیبروز نجات پیدا کند (۲۶).

این وضعیت باعث می‌شود تا یافته‌های با ارزشی در مورد وقایع سلولی و مولکولی در موقع بهبود فیبروز کبدی به دست آید:

۱. سلول‌های ستاره‌ای کبدهای فعال شده شبه میوفیبروبلاست دچار آپوپتوسیز می‌شوند. میزان آپوپتوسیز سلول‌های ستاره‌ای کبدها بسته به تکثیر سلول‌ها به سرعت بعد از برداشتن آسیب افزایش و تعداد سلول‌های فعال ستاره‌ای کبد به ۵۰ درصد کاهش می‌یابد. تقریبا ۷۲ ساعت بعد از برداشتن آسیب، وقایع فوق اتفاق می‌افتد.

۲. فعالیت کلاژنازهای کبدی به طرز چشم‌گیر و قابل ردیابی افزایش می‌یابد مثلا در حدود ۵ برابر بیشتر. از لحاظ زمانی این افزایش همراه با کاهش معنی‌دار در بیان TIMP-1 و TIMP-2 هم‌زمان است. بر خلاف آن، سطح بیان MMP-13 تغییر نمی‌کند ولی در سطح ثابتی در فاز تحلیل فیبروز باقی می‌ماند.

کاهش در بیان TIMP-1 ممکن است به سادگی با افزایش آپوپتوسیز سلول‌های فعال شده ستاره‌ای کبد مرتبط باشد (که این سلول‌ها منبع سلولی تولید این پروتین‌ها هستند). حتی می‌توان فرض کرد که کاهش TIMP-1 می‌تواند در آپوپتوسیز سلول‌های ستاره‌ای کبد نقش داشته باشد. ثابت ماندن MMP-13 نشان می‌دهد که سلول‌های فعال شده ستاره‌ای کبد منبع سلولی تولید این آنزیم نیستند مگر گروهی از سلول‌های ستاره‌ای کبد که به آپوپتوسیز مقاومند و بیان MMP-13 را ادامه می‌دهند. توجیه قابل ارایه و جالب‌تر این است که این آنزیم‌ها منشا دیگری به جز سلول‌های ستاره‌ای کبد مثلا سلول‌های کوپفر داشته باشند (۴۱).

فرضیه دیگری مطرح است که تجزیه ماتریکس فیبریلار در کبد (یعنی کلاژن‌های نوع یک و سه) توسط کلاژنازهای داخلی (MMP-13 در رت و MMP-1 در انسان) میانجی‌گری می‌شود. مطالعات اخیر نشان داده است که در شرایط *In vivo* امکان دارد MMP های دیگری در این زمینه نقش داشته باشند. در مطالعه‌ای که بر روی موش‌هایی که ژن MT1-MMP را حذف کرده بودند، نتیجه گرفتند که این موش‌ها دچار مشکلاتی نظیر Skeletal Dysplasia, Ar-thritis, Osteopenia و مشکلات عمومی مربوط به ناهنجاری بافت نرم شدند (۴۲). این ناهنجاری‌ها همراه با افزایش فیبروز در لایه‌های Periosteal Ostegenic در استخوان‌های دراز هستند که نشان دهنده تجزیه نا مناسب انجام شده توسط کلاژنازهای داخلی است. آنالیزهای بیوشیمیایی نشان داده است که MT1-MMP می‌تواند به عنوان کلاژنازی که قادر به تجزیه کلاژن یک و سه است قلمداد شود (۴۳). علاوه بر این ژلاتیناز A نیز می‌تواند زنجیره آلفاکلاژن را از همان جایی که محل عمل کردن MMP-13, MMP-1 است، بشکند (۴۴). شواهدی بر نقش کلاژنازی ژلاتیناز یک به عنوان کلاژناز داخلی در همه بافت‌ها با مطالعه بر روی کشت بافت Periosteal خرگوش به دست آمده است. در این آزمایش کلاژن نوع یک وابسته به فعالیت ژلاتیناز A (نه MMP-1) کاملا نابود می‌شود. در حضور مهار کننده‌های اختصاصی ژلاتیناز A این مطالعه این امکان را ایجاد می‌کند که مکانیسم جایگزینی برای تخریب ماتریکس فیبروتیک در کبد قایل شوند (۴۴). بر خلاف MMP-1 و MMP-13 بیان ژلاتیناز A و MT1-MMP در کبد فیبروتیک افزایش می‌یابد. همه این آنزیم‌ها در سطح سلولی سلول‌های ستاره‌ای کبد در شکل فعال خود قرار دارند، جایی که برای ایفای نقش مهم (تجزیه ماتریکس کبد فیبروتیک) بهترین جاست. در دوره بهبودی و تحلیل رفتن فیبروز کبدی، بیان ژلاتیناز A و MT1-MMP به صورت تدریجی به سطح اولیه خود برمی‌گردد به همان ترتیبی که در TIMP-1 و TIMP-2 نیز دیده شده است. اگر ژلاتیناز A و MT1-MMP در تحلیل ماتریکس کبد فیبروتیک دخیل باشد، ایجاد تعادل محلی بین شکل فعال آنها و TIMP در محیط دور سلولی در تعیین سر نوشت ماتریکس فیبروتیک بسیار مهم است.

نقش ماتریکس متالوپروتئینازها در تکوین نرمال سیستم صفراوی کبد انسان (Human Intra Hepatic Biliary System)

آنزیم‌های پروتئولیتیک که در کل به نام پروتئینازهای ماتریکس نامیده می‌شوند، نقش مهمی در مهاجرت سلولی در سرطان‌ها و طول تکوین اندام‌ها با تحلیل ماتریکس خارج سلولی دارند. پروتینازهای ماتریکس به ماتریکس متالوپروتوینازها (MMP)، سرین پروتینازها (Serine Proteinase)، سیستئین پروتینازها (Cystein Proteinase)، و آسپارات پروتینازها (Aspartic pro-teinase) دسته‌بندی می‌شوند (۴۵). در سیستم صفراوی اولیه سلول‌های مزانشیم پورتی (Portal Mesenchyme) در مرحله سازمان‌یابی مجدد بافت در تکوین سیستم صفراوی ازصفحه لوله‌ای (Ductal Plate) مهاجرت و شرکت می‌کنند هر چند مکانیسم آن هنوز ناشناخته است. نشان داده شده که MMP-1 در صفحه لوله‌ای و سلول‌های اولیه مهاجر صفراوی (۴۶)، MMP-2 و MMP-3 و MMP-9 در صفحه لوله‌ای و TIMP-1 و TIMP-2 در صفحه لوله‌ای و سلول‌های مهاجر صفراوی بیان می‌شود. کیموتریپسینوژن/ کیموتریپسین (Chmotrypsinogen/Chymotrypsin) و کاتپسین B(Cathepsin) که پروتینازهای ماتریکسی و فعال‌کننده‌های MMP هستند، در سلول‌های اولیه صفراوی نیز بیان می‌شوند. این داده‌ها نشان می‌دهد که MMP و کیموتریپسینوژن/کیموتریپسین و کاتپسین‌ب نقش مهمی در مهاجرت سلول‌های صفراوی در طول تکوین سیستم صفراوی با تخریب ماتریکس خارج سلولی بازی می‌کنند و مهار کننده‌های (TIMP) (MMP) و فعال‌کننده MMP (کیموتریپسین و کاتپسین B) نقش مهمی در مهاجرت سلول‌های صفراوی دارند. بیان هم‌زمان MMP، مهارکننده و فعال‌کننده آنها برای تکوین طبیعی سیستم صفراوی انسان لازم است (۴۷).

نقش ماتریکس متالوپروتینازها در کارسینومای هپاتوسلولار (Hepatocellular Carcinoma)

فعالیت سیستم ماتریکس متالوپروتینازها و پلاسمینوژن (PA) نقش مهمی در فرایند حمله سرطان و متاستاز دارد. بیان این آنزیم‌ها با برگشت و بهبودی بعد از کارسینومای هپاتوسلولار همبستگی دارد (۴۸). MMP-9، MMP-2 و مهارکننده بافتی آنها یعنی TIMP-1,2 در تشخیص کارسینومای هپاتوسلولار معنی‌دار هستند. میزان بیان MMP-2 و MMP-9 در کارسینومای هپاتوسلولار به قدری بالاست که در پارانشیم کبد می‌تواند به عنوان شاخص مهمی برای قضاوت در مورد رخ دادن، حمله و متاستاز سرطان باشند (۴۹). سطح MMP-9 در

پلاسما می‌تواند به عنوان کاندیدای یک مارکر عالی برای کارسینومای هپاتوسلولار باشد و سطح آن نشان‌دهنده پتانسیل و فعالیت پیشرونده حمله عروقی است (۵۰).

نقش MMPها در رفت و آمد، لانه‌گزینی، تمایز و صفات بیولوژیکی سلول‌های مغز استخوان

پیشرفت‌های ایجاد شده اخیر در درک حرکت سلول‌های بنیادی، میانکنش ماتریکس – سلول وتوزیع زیستی (Biodistribution) استراتژی‌های جدید درمان را کامل کرده است (۵۱). هر چند که به تازگی از پیوند سلول‌های استرومایی مشتق از مغز استخوان (Bone Marrow-Derived Stromal Stem Sell: BMSC) (استرومای مغز استخوان پستانداران ریز محیط یگانه‌ای را برای حضور حوضچه‌ای از سلول‌های بنیادی که به عنوان سلول‌های استرومایی مشتق از مغز استخوان شناخته می‌شوند، است. (۵۲)) در مطالعات کلینیکی مورد استفاده قرار گرفته‌اند، در همین فرصت کوتاه نیز جستجو برای روش‌های پیوندی هر چه کمتر تهاجمی انجام شده است. در حقیقت امروزه کاربردهای کلینیکی متفاوتی برای استفاده از تجویز داخل سیاهرگی BMSCها که تحت مهندسی ژنتیک قرار گرفته‌اند، به عنوان حامل مناسب برای جابه‌جایی و دخول ژن‌ها و یا رسانش پروتین‌های نوترکیب درمانی ایجاد شده است (۵۷-۵۳). سلول‌های تزریق شده بایستی به سیگنال‌های رها شده در سرم و مشتق از سرم پاسخ‌گو باشد تا به سمت سرنوشت نهایی خود هدایت گردند. واسطه‌های مولکولی، حرکت، شیموتاکسی و بقای سلولی سلول‌های BMSC را تنظیم می‌کنند (۵۸). در میان این میانجی‌های شناخته شده، چیزی که اثر شیموتاکسی سلولی قوی دارد، اسفنگوزین ۱ فسفات (S1P) است که یکی از مهم‌ترین لیزوفسفولیپید (Lysophospholipids)هایی است که در پلاسمای خون بر اساس فعالیت پلاکت‌ها (۵۹) یا از سلول‌های گلیوما ی مشتق از تومور مغزی (۶۰) تولید می‌شود. در حقیقت نشان داده شده است که پاسخ BMSC به شیموتاکسی S1P بسیار قوی است و نیاز به شناسایی اکتین سیتواسکلتی و سازمانیابی مجدد بافت ماتریکس خارج سلولی از طریق شبکه پیچیده سیگنال مشترک شامل ماتریکس متالوپروتینازهای سطح سلولی MMP دارد (۵۲). صفات مولکولی MMP که مربوط به تنظیم شیموتاکسی BMSCها و هم میانکنش با ریزمحیط پروتینی ماتریکس خارج سلولی است هنوز به درستی شناسایی نشده است. اما مدارکی بر این نکته که سیگنال‌دهی MMP سطحی سلول برای شیمیوتاکسی BMSC ضروری است مشاهده شده است (۵۲) .

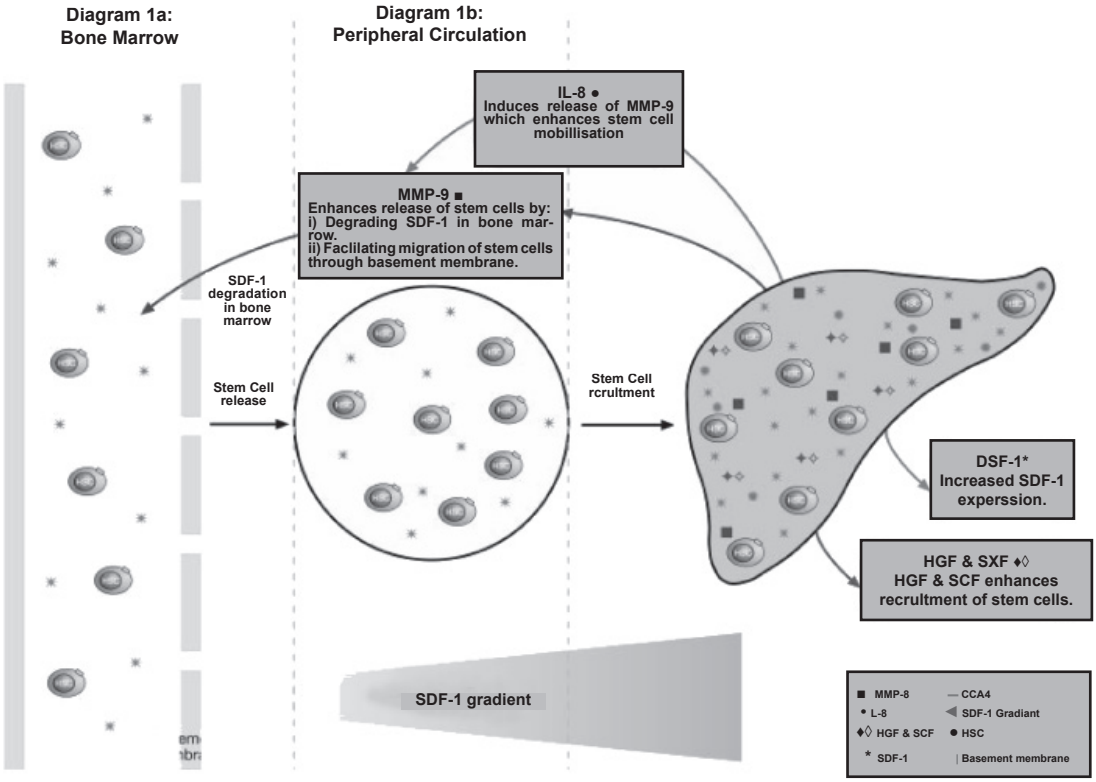
سلول‌های مغز استخوان (Bone Marrow)، خون‌ساز (Hematopoietic Stem Cell) و مزانشیمی (Mesenchy-mal stem cell)، به عنوان سلول‌هایی که توانایی خود نوسازی (Self-renewal) و تمایز به رده‌های خونی و مزانشیمی دارند قبلا گزارش شده‌اند (۴۰، ۶۳-۶۱). توانایی این سلول‌ها برای تمایز به رده‌های غیرخونسازی مثل سلول‌های اوال کبدی (Hepatic Oval Cell)، هپاتوسیت‌ها (Hepatocyte)، کلانژیوسیت‌ها (Cholangiocyte) (۶۱، ۶۴، ۶۵)، سلول‌های عضله اسکلتی (۶۶)، نورون (۶۷)، سلول‌های اپیتلیالی ریه، لوله گوارش و پوست (۶۷) نیز گزارش شده است. فرایند ترمیم رده‌های اپیتلیالی از طریق مکانیسم فیوژن سلولی (Spontanneous Cell Fusion)، تمایز بین رده‌ای (Transdifferentiation) انجام می‌گیرد. مطالعاتی که در زمینه ترمیم سلول‌های قلبی وجود دارد، نشان داده است که ورود سلول‌های بنیادی به این بافت می‌تواند علاوه بر شرکت در ترمیم بافتی از طریق تحریک‌رگزایی جدید (Neoangiogenesis) آپوپتوسیز سلول‌های قلبی را نیز به حداقل برساند (۶۸). همه این فرایندها بستگی به این دارد که سلول‌های بنیادی هماتوپوتیک از مغز استخوان حرکت کرده و به بافت هدف برسند (۶۹).

سلول‌های بنیادی بزرگسالان و ترمیم کبدی

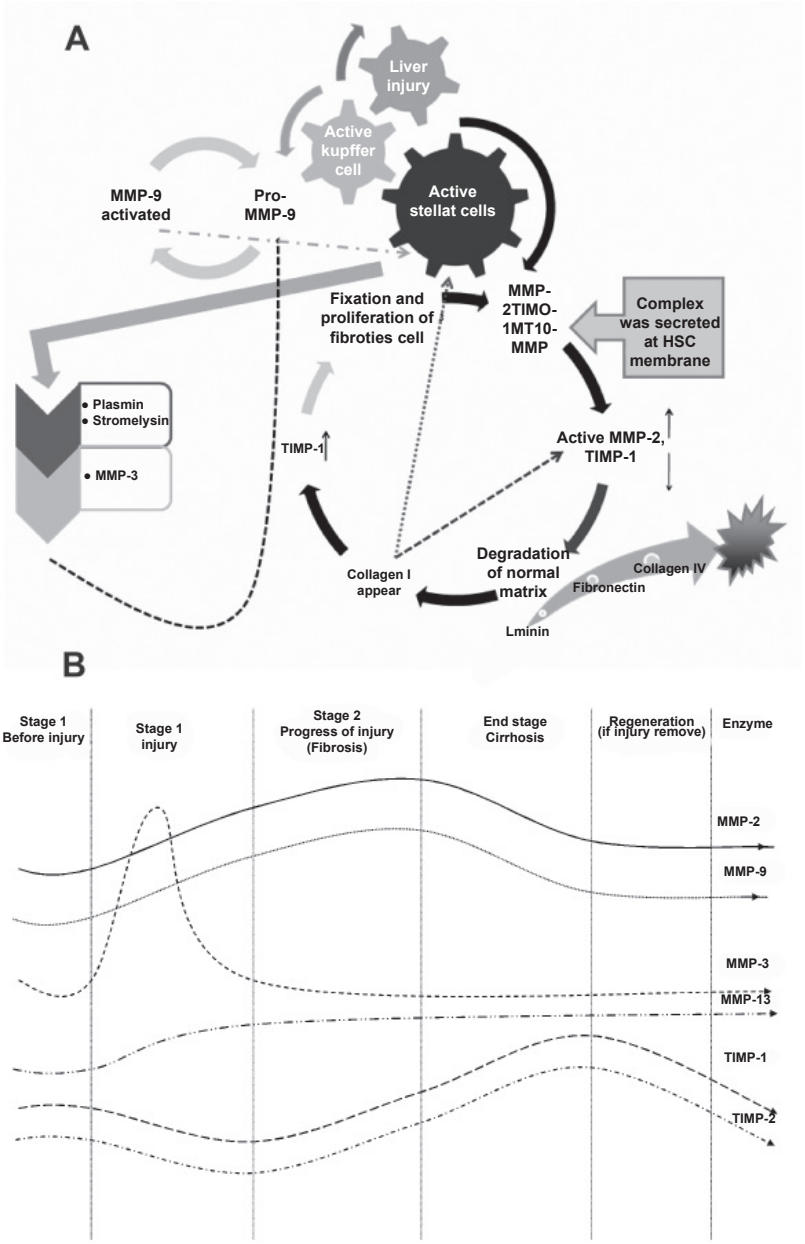
با وجود آنکه کبد از لحاظ میتوزی اندام ساکنی در انسان‌ها و جانوران بالغ می‌باشد (۶۴) اما هپاتوسیت‌ها توانایی قابل ملاحظه‌ای برای جایگزینی در زمان مورد نیاز یعنی مواقع از دست رفتن سلولی دارند (۷۰، ۷۱). زمانی که آسیب مزمن یا گسترده‌ای به کبد وارد شود ویا به هر علتی از تکثیر سلول‌های کبدی جلوگیری شود، نوعی از سلول‌های اوال کبدی (HOC) که مقیم کوچک‌ترین انشعابات صفراوی بین کبدی (Intra Hepatic Biliary Tree) هستند فعال شده و برای ترمیم کبد هدایت می‌شود (۷۲). در تحقیقات دیگر نشان داده شده است که سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک مشتق از مغز استخوان ممکن است در ترمیم کبد نقش داشته باشد (۶۱، ۶۵، ۷۳، ۷۴). میزان مشارکت سلول‌های بنیادی خون‌ساز در ترمیم کبد متنوع بوده و به نوع و شدت آسیب بستگی دارد. پاسخی که کبد در مواجه با آسیب‌های مختلف برای بازگرداندن خود به حالت اول می‌دهد شامل سه سطح تکثیر سلولی است: ۱. هپاتوسیت‌ها، ۲. سلول‌های پیش‌ساز داخل لوله‌ای (Endogenous Ductular Progenitor Cell)، ۳. سلول‌های بنیادی پرتوان که از سلول‌های سرگردان مغز استخوان نشأت می‌گیرند (۷۰). اما ذکر این نکته که مشارکت سلول‌های بنیادی خون‌ساز در ترمیم هپاتوسیت‌ها از طریق تمایز بین رده‌ای صورت می‌گیرد و یا از طریق انطباق با فنوتیپ هپاتوسیت‌ها در اثر فیوژن ناگهانی سلول، بایستی مورد بررسی قرار گیرد (۷۵). گزارش‌های اخیر نشان داده است که سلول‌های بزرگسالان می‌توانند از طریق فیوژن با سلول‌های بنیادی جنینی (Embryonal) به همین ترتیبی که هپاتوسیت‌های مشتق از مغز استخوان با همین مکانیسم در بدن تولید می‌شوند، با فنوتیپ سایر رده‌های سلولی منطبق شوند (۷۸-۷۶). از طرف دیگر در حمایت از تمایز بین رده‌ای گروه‌های مختلف نشان دادند که سلول‌های بنیادی خون‌ساز می‌توانند به هپاتوسیت (۷۹، ۸۰)، سلول‌های اندوکرینی پانکراس (۸۱) بدون هیچ شاهدی مبنی بر فیوژن سلولی تمایز یابند. مکانیسم تمایز کبدی و ترمیم سلول‌های بنیادی خون‌ساز هنوز حل نشده است و بایستی مطالعات آینده بر تفکیک تمایز بین رده‌ای از فیوژن متمرکز شود (۶۹). مکانیسم مشارکت سلول‌های بنیادی خون‌ساز در رده‌های هپاتوسیت در انسان و جوندگان بسیار بحث بر انگیز باقی مانده است که ممکن است به دلیل نوع متفاوت سلول‌ها، مدل‌های آسیبی متفاوت و روش‌های مورد استفاده برای ردیابی سلول‌های بنیادی (Progeny) در این مطالعات باشد. نقش درمانی سلول‌های بنیادی خون‌ساز در آسیب کبدی جوندگان گزارش شده است (۷۳، ۸۲) اما باز هم بین تمایز بین رده‌ای و فیوژن بحث وجود دارد . در مدل‌های دیگر، به ویژه در انسان‌ها، مشارکت سلول‌های بنیادی خون‌ساز در ترمیم کبد در حدود ۲۰-۱۱درصد از طریق تمایز بین رده ای صورت می گیرد (۶۵، ۶۷، ۸۶-۸۳).در راستای این مطالعات لازم است بدانیم چه دسته‌ای از سلول‌های بنیادی از مغز استخوان به اندام آسیب دیده حرکت می‌کند.

حرکت سلول‌های بنیادی بزرگسالان و شرکت در بازسازی آسیب کبدی

مطالعات انسانی نشان داده است که افزایشی در سطح سلول‌های بنیادی خون‌ساز گردان در بدن در پاسخ به یک آسیب سیستمیک مثل سلول‌های داسی شکل (Sickle Cell Crisis) و ترومای بعد از عمل (Surgical Trauma) دیده می‌شود (۸۷). میزان سلول‌های بنیادی خون‌ساز در خون محیطی بعد از جراحی و برداشتن مقداری از کبد افزایش می‌یابد (۸۸) در بیماران هپاتیت الکلی نیز این افزایش دیده می‌شود (۶۹). مطالعات بر موش و انسان نشان داده است که کمو کاین مشتق از سلول‌های استرومایی (Stromal Cell-Derived Factor-1: SDF-1) و گیرنده آن (CXCR4) در جهت دادن سلول‌های التهابی به کبد آسیب دیده همانند القای تکثیر سلول‌های پیش‌ساز داخل لوله‌ای اندوژنوس نقش دارند (۸۹، ۹۰). میان‌کنش SDF-1/CXCR4 باعث حرکت سلول‌های بنیادی از مغز استخوان شده و آنها را به کبد هدایت می‌کند (۹۱، ۹۲). در مغز استخوان بالغ، بخشی از رهش سلول‌های بنیادی خون‌ساز به درون گردش محیطی توسط گرادیان غلظتی از SDF-1 که در ریزمحیط مغز استخوان تثبیت شده است انجام می‌پذیرد (۹۳، ۹۴) کاهش سطح SDF-1 مغز استخوان باعث رها شدن سلول‌های بنیادی خون‌ساز به درون گردش محیطی می‌شود که تا قسمتی توسط (G-CSF) Granulocyte Colony-Stimulating Factor) میانجی‌گری می‌شود. این وضعیت باعث القای رهش و تکثیر نوتروفیل پروتئاز (Neutrophil Protease)هایی مثل الاستاز (Elastase)، کاتپسین (Cathepsin G) و ماتریکس متالوپروتئینازها می‌شود(۹۲). تصور می‌شود که آزادسازی آنزیم‌های پروتئولیتیک و کموکاین‌ها از کبد آسیب دیده به درون گردش خون می‌تواند حرکت و به کارگیری سلول‌های بنیادی خون‌ساز را تسهیل نماید (۷۴). مطالعاتی که بر روی G-CSF انجام شده است، نشان داده که آنزیم‌های پروتئولیتیک نوتروفیل مثل الاستاز، کاتپسین G و MMP شامل MMP-9, MMP-2، باعث تخریب پروتئولیتیکی SDF-1 در مغز استخوان می‌شود، بنابراین رها شدن سلول‌های بنیادی را تسهیل می‌سازد (۹۲، ۹۵). MMPهایی که پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی را تخریب می‌کنند، نقش مهمی در التهابات بافتی، رشد تومور وسازمان‌یابی مجدد بافت اندام‌ها دارند (۵، ۹۶). MMPها به صورت زیموژن (Pro-MMP) ترشح می‌شوند که به وسیله پروتئینازهای مختلفی فعال و به وسیله مهار کننده‌های بافتی متالوپروتینازها (TIMP) وآلفا ۲- ماکروگلوبولین مهار می‌شوند (۹۷). در انسان‌ها، MMP-9 توسط دامنه گسترده‌ای از انواع سلول‌ها مثل نوتروفیل‌ها، سلول‌های پیش‌ساز (Progenitor)، سلول‌های اندوتلیالی (Endothelial)، فیبروبلاست، سلول‌های بافت هم‌بند (Connective tissue)، سلول‌های توموری و سلول‌های پارانشیمی مثل کبد تولید می‌شود (۹۷، ۹۸).



شکل ۵: A) رهش سلول‌های بنیادی خون‌ساز بدرون گردش عمومی که از طریق گرادیان غلظت ایجاد شده توسط SDF-1 میانجی‌گری شده است. B) رهش سلول‌های بنیادی خون‌ساز به درون گردش عمومی که توسط MMP, IL-8 افزایش یافته است. C) به کارگیری سلول‌های بنیادی خون‌ساز در کبد آسیب دیده که از طریق SDF-1, HGF, SCF میانجی‌گری شده است (۶۹).



شکل ۶: A. مکانیسم آنزیمی ایجاد فیبروز، سیروز و ترمیم. ایجاد آسیب کبدی باعث فعالیت سلول‌های ستاره‌ای و سلول‌های کوپفر می‌شود. ترشح ماتریکس متالوپروتئینازها و مهار کننده‌های بافتی آنها پس از فعالیت دو سلول قید شده باعث می‌شود تا فرض شود سلول‌های ستاره‌ای MMP-2, MMP-3 و سلول‌های کوپفر احتمالا MMP-9 را ترشح می‌کنند. MMP_3 با توجه به حضور گذرا یش در مراحل اولیه آسیب به عنوان فعال‌کننده ترشح MMP-9 در نظر گرفته می‌شود. پلاسمین و استروملیسین نیز که از سلول‌های ستاره‌ای فعال شده ترشح می‌شوند با توجه به مسیرهای القایی وابسته به پلاسمین نقش مشابهی دارند. دو آنزیم MMP_2,MMP-9 معمولا ترشح و فعالیت افزایشی تا مراحل میانی ایجاد فیبروز دارند و همراه با کاهش فعالیت TIMPها باعث فرو پاشی ماتریکس نرمال کبدی می‌شوند و در نتیجه سلول‌های وابسته به لنگر ماتریکس نرمال نیز دسخوش آسیب می‌شوند. به هم ریختگی ساختار کبد از این مرحله شروع شده و با به هم خوردن ساختار فعالیت سلول‌های ستاره‌ای و کوپفر تقویت می‌شود. در این شرایط که ماتریکس نرمال کبد با تخریب کلاژن نوع چهار، لامینین و فیبرونکتین از هم گسیخته است، کلاژن نوع یک که عضو اصلی ماتریکس خارج کبدی فیبروتیک است، احتمالا توسط همین دو سلول به ماتریکس خارج کبدی معرفی می‌شود، پروتیئنی که دو آنزیم پروتئیناز فعال حاضر حتی اگر هم بخواهند تاثیری بر تخریب آن ندارند. افزایش فعالیت TIMPها نیز به ثبات استقرار کلاژن یک کمک می‌کند و در نتیجه فعالیت سلول‌های ستاره‌ای کبد و MMP-2 را تقویت می‌کند و این چرخه سرانجام باعث گسترش ماتریکس فیبریلار، ترمیم بلا اثرو پی‌درپی سلولی و ایجاد نودول‌های رژنراتیو محصوردر میان فیبروزهای پل زننده به هم ، سیروز، می‌گردد. لازم به ذکر است که ایجاد آسیب باعث افزایش ترشح و فعالیت آنزیم MMP-13 نیز می‌شوند. که تنها کلاژناز ترشح شده از خانواده ماتریکس متالوپروتئینازها ست که می‌تواند باعث تخریب کلاژن نوع یک شود اما بالا رفتن فعالیت TIMPها ا زفعالیت این آنزیم که در سطح کم ترشح می‌شود جلوگیری می‌کند. لذا در شرایطی که آسیب کبدی کاهش می‌یابد و یا اقدامات موثر درمانی شروع می‌گردد تنها نیروی شروع کننده چرخه ترمیم که کلاژن‌های سخت نوع یک را می‌شکند MMP-13 است که همچنان آهسته و پیوسته در ماتریکس خارج سلولی ترشح می‌گردد. پس از ورود به فاز ترمیم تخریب ماتریکس فیبریلار شروع می‌شود. با تخریب این ماتریکس سلول وابسته به آن (سلول‌های ستاره‌ای) وارد مرحله آپوپتوز می‌شود. B. نمودار میزان ترشح و فعالیت ماتریکس متالوپروتئینازها و مهار کننده‌های بافتی آنها.

مطالعات انسانی و حیوانی نشان داده است که MMP-9 رهش سلول‌های پیش‌ساز را از مغز استخوان به درون گردش خون توسط عوامل زیر تحریک می‌کند:

۱. تحریک رهایی لیگاند-کیت محلول (sKit l) Soluble kit- ligand از سلول‌های استرومایی مغز استخوان که تکثیر و مهاجرت سلول‌های بنیادی خون‌ساز را شتاب می‌دهد.

۲. تسهیل میان‌کنش بین مولکول‌های اتصال VLA-4 و مولکول‌های اتصال سلولی رگی نوع Vascular Cell Adhesion 1 (VCAM-1) molecule-1

۳. افزودن توان القایی مهاجرت سلول‌های بنیادی خون‌ساز در طول غشا پایه مربوط به ساب اندوتلیال (Sub Endothelial)

علاوه بر این به‌کارگیری سلول‌های بنیادی خون‌ساز که توسط MMP-9 القا می‌شود، از طریق ریزش فاکتورهای متصل شونده به غشا سلول‌های بنیادی و ترشح MMP-9 به وسیله سلول‌های پیش‌ساز در پاسخ به تحریک SDF-1 نیز فعال می‌شود.

MMP-9 نقش فعالی در سازمان‌یابی مجدد بافت کبد سیروزی و التهابات مثل تنظیم ترمیم هپاتوسیت بعد از برداشتن بخشی از کبد دارد (۹۹، ۱۰۰). مطالعات انسانی میزان بالا و متنوعی از MMP-9 را در پلاسمای سرم در مواقع آسیب کبدی شامل پس زدن حاد پیوند (۱۰۱)، آسیب ایسکمیک ریپر فیوژن (Reperfusion ischemic injury) (۱۰۲، ۱۰۳)، هپاتیت‌های ویروسی مزمن (۱۰۳)، سیروز الکلی کبد (۱۰۳) نشان داده است که این شواهد حاکی از وجود همبستگی بین شدت بیماری/ پیشرفت و بیان MMP-9 است. در این مطالعات، ۸۰-۷۰ درصد MMP-9 سرم و پلاسما که اندازه‌گیری شده است، بیشتر به صورت شکل فعال دیده شده و می‌تواند در نمونه‌های سرم در ۳۰ دقیقه اول تا کمتر ازیک هفته پس از آسیب حاد ردیابی شود. در بیماری‌های مزمن کبدی بالا رفتن دایمی فعالیت MMP-9 در پلاسما گویای فرایند در حال پیشرفت سازمان‌یابی مجدد بافت ماتریکس خارج سلولی است. افزایش در بیان و فعالیت MMP-9 در کبد رت و موش‌های NOD/SCID که توسط تتراکلریدکربن (Carbon tetracholoride) دچار آسیب کبدی شده‌اند، نشان دهنده این است که این فاکتور به صورت بالقوه می‌تواند در به‌کارگیری سلول‌های بنیادی خون‌ساز از مغز استخوان در شرایط القای استرس سهیم باشد(۱۰۴). اگر با استفاده از مونوکروتالین (Monocrotaline) از تکثیر هپاتوسیت‌ها جلوگیری و پاسخ HOC تحریک گردد، افزایشی در فعالیت MMP-9 دیده می‌شود که این افزایش به تولید این آنزیم از سلول‌های اندو تلیالی و به فعالیت یا نفوذ سلول‌های التهابی به پارانشیم کبد آسیب دیده نسبت داده می‌شود (۱۰۵). در مطالعه دیگری نیز با استفاده از آنتی‌بادی فاز [Anti-fas (JO2)] در کبد موش‌ها هپاتیت حاد القا شد و پس از این کار افزایش در بیان MMP-9 در گردش خون و افزایش سلول‌های بنیادی خون‌ساز در خون دیده شد (۱۰۶). بررسی میان‌کنش بین MMP-9 و سایر کموکاین‌ها مثل اینتر لوکین ۸ نشان داده است که اگر نوتروفیل‌ها را در معرض اینترلوکین ۸ قرار دهیم بلافاصله MMP-9 در این سلول‌ها القا شود باعث رهش سلول‌های بنیادی خون‌ساز به درون گردش خون محیطی می‌گردد (۱۰۷، ۱۰۸). (شکل ۵).

همان‌طور که در بسیاری از بیماری‌های مزمن مانند هپاتیت الکلی، هپاتیت ویروسی و رد پیوند افزایش در سطح اینترلوکین ۸ در گردش خون دیده می‌شود. بنابراین می‌توان گفت که اینترلوکین ۸ که یک جاذب شیمیایی (Chemoattractant) نوتروفیل در بیماری‌های کبدی شناخته می‌شود، از طریق مکانیسم غیرمستقیم که نیاز به فعالیت نوتروفیل‌های گردان و رهایی MMP-9 دارد، توان القای رهش سلول‌های بنیادی خون‌ساز به درون گردش خون عمومی را یافته است (۱۰۸).

نتیجه گیری

ابهام‌های زیادی در فرایند ایجاد فیبروز، سیروز و ترمیم وجود دارد. پس از آسیب دیدن کبد در صورت برداشته شدن عامل آن یا اقدامات درمانی به موقع، سرنوشت فیبروزایجادی می‌تواند ترمیم و در غیر این صورت سیروز شود. ایجاد این دوراهی توسط شبکه گسترده‌ای از اتفاقات نظیر فعالیت بعضی سلول‌های خاص، تولید و ترشح سیتوکاین‌های اختصاصی، تنظیمات کاهشی و افزایشی بعضی آنزیم‌ها صورت می‌گیرد که تناقض‌های مشهودی در سیر این اتفاقات دیده می‌شود. ایجاد آسیب کبدی باعث فعالیت سلول‌های ستاره‌ای و سلول‌های کوپفر می‌شود. ترشح ماتریکس متالوپروتئینازها و مهار کننده‌های بافتی آنها پس از فعالیت دو سلول قید شده باعث می‌شود تا تصور شود سلول‌های ستاره‌ای MMP-3, MMP-2 و سلول‌های کوپفر احتمالا MMP-9 را ترشح می‌کنند. MMP-3، پلاسمین و استروملیسین نیز در فعال‌کنندگی این آنزیم‌ها نقش دارند. کاهش فعالیت TIMP ها نیز همراه با فعالیت آنزیم‌های فوق باعث فروپاشی ماتریکس نرمال کبدی می‌شوند. کلاژن نوع یک که عضو اصلی ماتریکس خارج کبدی فیبروتیک است، احتمالا توسط همین دو سلول به ماتریکس خارج کبدی معرفی می‌شود. افزایش فعالیت TIMPها به ثبات استقرار کلاژن یک کمک و در ادامه فعالیت سلول‌های ستاره‌ای کبد و MMP-2 را تقویت می‌کند و این چرخه سرانجام باعث گسترش ماتریکس فیبریلار، ترمیم بلا اثر و پی در پی سلولی و ایجاد نودول‌های رژنراتیو محصوردر میان فیبروزهای پل‌زننده به هم، سیروز، می‌گردد. لازم به ذکر است که ایجاد آسیب باعث افزایش ترشح و فعالیت آنزیم MMP-13 نیز می‌شود. به نظر می‌رسد این آنزیم سبب ورود کبد به فاز ترمیم می‌شود که با تخریب این ماتریکس خارج سلولی فیبریلار و انهدام سلول وابسته به آن (سلول‌های ستاره‌ای) همراه است. در نبود سلول‌های ستاره‌ای شبکه تولید ماتریکس فیبریلار خاتمه یافته و کبد به سمت بهبود پیش می‌رود (شکل ۶). به نظر می‌رسد سلول‌های بنیادی وارد شده به کبد که معمولا بر نواحی کلاژنی جای می‌گیرند، می‌توانند هم‌چون برداشته شدن عامل آسیب کبد را وارد فاز ترمیم کنند. در مطالعه اخیر که بر تاثیر سلول‌های بنیادی مزانشیمی تزریق شده به موش مدل سیروز انجام شده است، میزان MMP-9 و MMP-13 در گروه‌هایی که آسیب کبدی توسط تزریق تتراکلرید کربن هفته‌ای ۲ بار تا ۲ ماه ادامه داده شده نسبت به گروه‌هایی که ایجاد آسیب متوقف شده است، افزایش شدید و معنی‌داری نشان داده‌اند و میزان TIMP-1 در گروه‌هایی که ترمیم نداشته‌اند، افزایش معنی‌داری وجود داشته است.

باتوجه به آنچه که اشاره شد به نظر می‌رسد که ماتریکس متالوپروتئینازها نقش بسیار مهم، پیچیده و ناشناخته‌ای در فرایند آسیب کبدی، درمان و بهبود به هر روشی (چه ترمیم خودبه‌خودی کبد چه جایگزینی سلول‌های بنیادی) دارد. شناخت مکانیسم بسیار پیچیده تاثیر این آنزیم‌ها می‌تواند افق‌های تازه‌ای در روند درمان ایجاد کند. در این راستا می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

۱. این آنزیم‌ها در آزمایش‌های تشخیص پزشکی جهت تعیین مرحله پیشرفت فیبروزودر زمان درمان پیگیری شود. واضح است که این مورد نیاز به مطالعات وسیع دارد زیرا به طور هم‌زمان این آنزیم‌ها در بافت‌های دیگر بدن مثل قلب نیز بیان می‌شوند.

۲. در زمینه درمان با سلول‌های بنیادی شناخت این آنزیم‌ها، مکانیسم دقیق عملکرد آن و ژن‌های تولید کننده آنها می‌تواند درمان با سلول‌های بنیادی را با کاهش و افزایش هدفمند در بافت مورد نظر ارایه دهد و دیگر آنکه مطالعات را به سمت تولید انواعی از سلول‌ها پیش ببرد که می‌تواند با استفاده از دستکاری ژنتیکی و ایجاد یک پروموتورالقایی (Inducible) در فرا دست ژن‌های این آنزیم‌ها به صورت کاملا هدفمند تحت تاثیر دارو در منطقه و بافت مورد نظر در زمان دلخواه بیان شود.

۳. امروزه که مهندسی بافت از پتانسیل‌های خوبی جهت درمان برخوردار است، بررسی اثر این آنزیم‌ها درسازه‌های سه بعدی یا بر بسترهای مختلف مهم به نظر می‌رسد.

References

1. Kallis YN, Alison MR, Forbes SJ. Bone marrow stem cells and liver disease. Gut. 2007; 56(5): 716-724.
2. Jang YY, Collector MI, Baylin SB, Diehl AM, Sharkis SJ. Hematopoietic stem cells convert into liver cells within days without fusion. Nat Cell Biol. 2004; 6(6): 532-539.
3. Baharvand H, Hashemi SM, Kazemi Ashtiani S, Farrokhi A. Differentiation of human embryonic stem cells into hepatocytes in 2D and 3D culture systems *in vitro*. Int J Dev Biol. 2006; 50(7): 645-652.
4. Baharvand H, Azarnia M, Parivar K, Ashtiani SK. The effect of extracellular matrix on embryonic stem cell-derived cardiomyocytes. J Mol Cell Cardiol. 2005; 38(3): 495-503.
5. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. Circ Res. 2003; 92(8): 827-839.
6. Kohn EC, Liotta LA. Molecular insights into cancer invasion: strategies for prevention and intervention. Cancer Res. 1995; 55(9): 1856-1862.
7. Woodhouse EC, Chuaqui RF, Liotta LA. General mechanisms of metastasis. Cancer. 1997; 80(Suppl 8): 1529-1537.
8. Chambers AF, Matrisian LM. Changing views of the role of matrix metalloproteinases in metastasis. J Natl Cancer Inst. 1997; 89(17): 1260-1270.
9. Coussens LM, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the development of cancer. Chem Biol. 1996; 3(11): 895-904.
10. Yu AE, Hewitt RE, Connor EW, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases. Novel targets for directed cancer therapy. Drugs Aging. 1997; 11(3): 229-244.
11. Jiang Y, Vaessen B, Lenvik T, Blackstad M, Reyes M, Verfaillie CM. Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. Exp Hematol. 2002; 30(8): 896-904.
12. Arthur MJ. Fibrogenesis , Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2000; 279: G245-G249.
13. Zhang L, Shi J, Feng J, Klocker H, Lee C, Zhang J. Type IV collagenase (matrix metalloproteinase-2 and -9) in prostate cancer. Prostate Cancer Prostatic Dis. 2004; 7(4): 327-332.
14. Zhang LJ, Chen YX, Chen ZX, Huang YH, Yu JP, Wang XZ. Effect of interleukin-10 and platelet-derived growth factor on expressions of matrix metalloproteinases-2 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in rat fibrotic liver and cultured hepatic stellate cells. World J Gastroenterol. 2004; 10(17): 2574-2579.
15. Zheng YZ, Zhang L, Wang HJ, Han ZC, Takahashi TA. Differential expression of a homing-related molecule repertoire among umbilical cord blood, mobilized peripheral blood and bone marrow-derived hematopoietic stem/progenitor cells. Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi. 2004; 25(12): 736-739.
16. Massova I, Kotra LP, Fridman R, Mobashery S. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. Faseb J. 1998; 12(12): 1075-1095.
17. Borden P, Heller RA. Transcriptional control of matrix metalloproteinases and the tissue inhibitors of matrix metalloproteinases. Crit Rev Eukaryot Gene Expr. 1997; 7(1-2): 159-178.
18. Fridman R, Bird RE, Hoyhtya M, Oelkuct M, Komarek D, Liang CM, et al. Expression of human recombinant 72 kDa gelatinase and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2): characterization of complex and free enzyme. Biochem J. 1993; 289(Pt 2): 411-416.
19. Baker AH, Edwards DR, Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. J Cell Sci. 2002; 115(Pt 19): 3719-3727.
20. Goldberg GI, Strongin A, Collier IE, Genrich LT, Marmer BL. Interaction of 92-kDa type IV collagenase with the tissue inhibitor of metalloproteinases prevents dimerization, complex formation with interstitial collagenase, and activation of the proenzyme with stromelysin. J Biol Chem. 1992; 267(7): 4583-4591.
21. Butler GS, Butler MJ, Atkinson SJ, Will H, Tamura T, Schade van Westrum S, et al. TIMP2 membrane type 1 metalloproteinase "receptor" regulates the concentration and efficient activation of progelatinase A. A kinetic study. J Biol Chem. 1998; 273(2): 871-880.
22. Jiang Y, Goldberg ID, Shi YE. Complex roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in cancer. Oncogene. 2002; 21(14): 2245-2252.
23. Lijnen HR. Matrix metalloproteinases and cellular fibrinolytic activity. Biochemistry (Mosc). 2002; 67(1): 92-98.
24. Murphy G, Nguyen Q, Cockett MI, Atkinson SJ, Allan JA, Knight CG, et al. Assessment of the role of the fibronectin-like domain of gelatinase A by analysis of a deletion mutant. J Biol Chem. 1994; 269(9): 6632-6636.
25. Iredale JP. Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. J Clin Invest. 2007; 117(3): 539-548.
26. Issa R, Zhou X, Trim N, Millward-Sadler H, Krane S, Benyon C, et al. Mutation in collagen-1 that confers resistance to the action of collagenase results in failure of recovery from CCl4-induced liver fibrosis, persistence of activated hepatic stellate cells, and diminished hepatocyte regeneration. Faseb J. 2003; 17(1): 47-49.
27. Yao XX, Tang YW, Yao DM, Xiu HM. Effects of Yigan Decoction on proliferation and apoptosis of hepatic stellate cells. World J Gastroenterol. 2002; 8(3): 511-514.
28. Takahara T, Furui K, Yata Y, Jin B, Zhang LP, Nambu S, et al. Dual expression of matrix metalloproteinase-2 and membrane-type 1-matrix metalloproteinase in fibrotic human livers. Hepatology. 1997; 26(6): 1521-1529.
29. Takahara T, Furui K, Funaki J, Nakayama Y, Itoh

H, Miyabayashi C, et al. Increased expression of matrix metalloproteinase-II in experimental liver fibrosis in rats. Hepatology. 1995; 21(3): 787-795.
30. Winwood PJ, Schuppan D, Iredale JP, Kawser CA, Docherty AJ, Arthur MJ. Kupffer cell-derived 95-kd type IV collagenase/gelatinase B: characterization and expression in cultured cells. Hepatology. 1995; 22(1): 304-315.
31. Leyland H, Gentry J, Arthur MJ, Benyon RC. The plasminogen-activating system in hepatic stellate cells. Hepatology. 1996; 24(5): 1172-1178.
32. Kossakowska AE, Edwards DR, Lee SS, Urbanski LS, Stabbler AL, Zhang CL. Altered balance between matrix metalloproteinases and their inhibitors in experimental biliary fibrosis. Am J Phatol. 1998; 153(6): 1895-1902.
33. Yu Q, Stamenkovic I. Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF-beta and promotes tumor invasion and angiogenesis. Genes Dev. 2000; 14(2): 163-176.
34. Benyon RC, Hovell CJ, Da Gaca M, Jones EH, Iredale JP, Arthur MJ. Progelatinase A is produced and activated by rat hepatic stellate cells and promotes their proliferation. Hepatology. 1999; 30(4): 977-986.
35. Iredale JP, Goddard S, Murphy G, Benyon RC, Arthur MJ. Tissue inhibitor of metalloproteinase-I and interstitial collagenase expression in autoimmune chronic active hepatitis and activated human hepatic lipocytes. Clin Sci (Lond). 1995; 89(1): 75-81.
36. Herbst H, Heinrichs O, Schuppan D, Milani S, Stein H. Temporal and spatial patterns of transin/stromelysin RNA expression following toxic injury in rat liver. Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol. 1991; 60(5): 295-300.
37. Guedez L, Stetler-Stevenson WG, Wolff L, Wang J, Fukushima P, Mansoor A, et al. In vitro suppression of programmed cell death of B cells by tissue inhibitor of metalloproteinases-1. J Clin Invest, 1998; 102(11): 2002-2010.
38. Li G, Fridman R, Kim H. Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 inhibits apoptosis of human breast epithelial cells. Cancer Res. 1999; 59(24): 6267-6275.
39. Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, McCullen M, Northrop M, Pawley S, et al. Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. J Clin Invest. 1998; 102(3): 538-549.
40. Mohamadnejad M, Alimoghaddam K, Mohyeddin-Bonab M, Bagheri M, Bashtar M, Ghanaati H, et al. Phase 1 trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with decompensated liver cirrhosis. Arch Iran Med. 2007; 10(4): 459-466.
41. Hironaka K, Sakaida I, Matsumura Y, Kaino S, Miyamoto K, Okita K. Enhanced interstitial collagenase (matrix metalloproteinase-13) production of Kupffer cell by gadolinium chloride prevents pig serum-induced rat liver fibrosis. Biochem Biophys Res Commun. 2000; 267(1): 290-295.
42. Holmbeck K, Bianco P, Caterina J, Yamada S, Kromer M, Kuznetsov SA, et al. MT1-MMP-deficient mice develop dwarfism, osteopenia, arthritis, and connective tissue disease due to inadequate collagen turnover. Cell. 1999; 99(1): 81-92.
43. Ohuchi E, Imai K, Fujii Y, Sato H, Seiki M, Okada Y. Membrane type 1 matrix metalloproteinase digests interstitial collagens and other extracellular matrix macromolecules. J Biol Chem. 1997; 272(4): 2446-2451.
44. Kerkvliet EH, Docherty AJ, Beertsen W, Everts V. Collagen breakdown in soft connective tissue explants is associated with the level of active gelatinase A (MMP-2) but not with collagenase. Matrix Biol. 1999; 18(4): 373-380.
45. Reponen P, Sahlberg C, Munaut C, Thesleff I, Tryggvason K. High expression of 92-kD type IV collagenase (gelatinase B) in the osteoclast lineage during mouse development. J Cell Biol. 1994; 124(6): 1091-1102.
46. Terada T, Nakanuma Y. Expression of pancreatic enzymes (alpha-amylase, trypsinogen, and lipase) during human liver development and maturation. Gastroenterology. 1995; 108(4): 1236-1245.
47. Terada T, Kitamura Y, Nakanuma Y. Normal and abnormal development of the human intrahepatic biliary system: a review. Tohoku J Exp Med. 1997; 181(1): 19-32.
48. Sakamoto Y, Mafune K, Mori M, Shiraishi T, Imamura H, Mori M, Takayama T, Makuuchi M. Overexpression of MMP-9 correlates with growth of small hepatocellular carcinoma. Int J Oncol. 2000; 17(2): 237-243.
49. Fox SB, Taylor M, Grondahl-Hansen J, Kakolyris S, Gatter KC, Harris AL. Plasminogen activator inhibitor-1 as a measure of vascular remodelling in breast cancer. J Pathol. 2001; 195(2): 236-243.
50. Korn WM. Moving toward an understanding of the metastatic process in hepatocellular carcinoma. World J Gastroenterol. 2001; 7(6): 777-778.
51. Cottler-Fox MH, Lapidot T, Petit I, Kollet O, DiPersio JF, Link D, et al. Stem cell mobilization. Hematology (Am Soc Hematol Educ Program). 2003: 419-437.
52. Meriane M, Duhamel S, Lejeune L, Galipeau J, Annabi B. Cooperation of matrix metalloproteinases with the RhoA/Rho kinase and mitogen-activated protein kinase kinase-1/extracellular signal-regulated kinase signaling pathways is required for the sphingosine-1-phosphate-induced mobilization of marrow-derived stromal cells. Stem Cells. 2006; 24(11): 2557-2565.
53. Ding L, Lu S, Batchu R, Iii RS, Munshi N. Bone marrow stromal cells as a vehicle for gene transfer. Gene Ther. 1999; 6(9): 1611-1616.
54. Hurwitz DR, Kirchgesser M, Merrill W, Galanopoulos T, McGrath CA, Emami S, et al. Systemic delivery of human growth hormone or human factor IX in dogs by reintroduced genetically modified autologous bone marrow stromal cells. Hum Gene Ther. 1997; 8(2): 137-156.
55. Zhang XY, La Russa VF, Bao L, Kolls J, Schwarzenberger P, Reiser J. Lentiviral vectors for sustained transgene expression in human bone marrow-derived stromal cells. Mol Ther. 2002; 5(5 Pt 1): 555-565.
56. Devine SM, Cobbs C, Jennings M, Bartholomew A, Hoffman R. Mesenchymal stem cells distribute to a wide range of tissues following systemic infusion into nonhuman primates. Blood. 2003; 101(8): 2999-3001.
57. Gao J, Dennis JE, Muzic RF, Lundberg M, Caplan AI. The dynamic in vivo distribution of bone marrow-derived mesenchymal stem cells after infusion. Cells Tissues Organs. 2001; 169(1): 12-20.
58. Currie JC, Fortier S, Sina A, Galipeau J, Cao J, Annabi B. MT1-MMP down-regulates the glucose 6-phosphate transporter expression in marrow stromal cells: a molecular link between pro-MMP-2 activation, chemotaxis, and cell survival. J Biol Chem. 2007; 282(11): 8142-8149.
59. Yatomi Y. Sphingosine 1-phosphate in vascular biol-

ogy: possible therapeutic strategies to control vascular diseases. Curr Pharm Des. 2006; 12(5): 575-587.
60. Van Brocklyn JR, Jackson CA, Pearl DK, Kotur MS, Snyder PJ, Prior TW. Sphingosine kinase-1 expression correlates with poor survival of patients with glioblastoma multiforme: roles of sphingosine kinase isoforms in growth of glioblastoma cell lines. J Neuropathol Exp Neurol. 2005; 64(8): 695-705.
61. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. Science. 1999; 284(5417): 1168-1170.
62. Kermani S, Karbalaie K, Madani SH, Jahangirnejad AA, Eslaminejad MB, Nasr-Esfahani MH, Baharvand H. Effect of lead on proliferation and neural differentiation of mouse bone marrow-mesenchymal stem cells. Toxicol In Vitro. 2008; 22(4): 995-1001.
63. Baghban Eslaminejad M NH, Taghiyar L. Mesenchymal Stem Cell isolation from the removed medium of Rat bone marrow primary culture and their differentiation into skeletal cell lineages. Yakhteh. 2007;10: 65-73.
64. Alison MR, Poulsom R, Forbes SJ. Update on hepatic stem cells. Liver. 2001; 21(6): 367-373.
65. Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, Illei PB, Morgan G, Teperman L, et al. Liver from bone marrow in humans. Hepatology. 2000; 32(1): 11-16.
66. Ferrari G, Mavilio F. Myogenic stem cells from the bone marrow: a therapeutic alternative for muscular dystrophy? Neuromuscul Disord. 2002; 12 Suppl 1: S7-10.
67. Korbling M, Katz RL, Khanna A, Ruifrok AC, Rondon G, Albitar M, et al. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells. N Engl J Med. 2002; 346(10): 738-746.
68. Jackson KA, Majka SM, Wang H, Pocius J, Hartley CJ, Majesky MW, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. J Clin Invest. 2001; 107(11): 1395-1402.
69. Dalakas E, Newsome PN, Harrison DJ, Plevris JN. Hematopoietic stem cell trafficking in liver injury. Faseb J. 2005; 19(10): 1225-1231.
70. Alison M. Liver stem cells: a two compartment system. Curr Opin Cell Biol. 1998; 10(6): 710-715.
71. Thorgeirsson SS. Hepatic stem cells in liver regeneration. Faseb J. 1996; 10(11): 1249-1256.
72. Sell S. Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells. Hepatology. 2001; 33(3): 738-750.
73. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. Nat Med. 2000; 6(11): 1229-1234.
74. Kollet O, Shivtiel S, Chen YQ, Suriawinata J, Thung SN, Dabeva MD, et al. HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34+ stem cell recruitment to the liver. J Clin Invest. 2003; 112(2): 160-169.
75. Austin TW, Lagasse E. Hepatic regeneration from hematopoietic stem cells. Mech Dev. 2003; 120(1): 131-135.
76. Terada N, Hamazaki T, Oka M, Hoki M, Mastalerz DM, Nakano Y, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. Nature. 2002; 416(6880): 542-545.
77. Ying QL, Nichols J, Evans EP, Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. Nature. 2002; 416(6880): 545-548.
78. Wang X, Willenbring H, Akkari Y, Torimaru Y, Foster M, Al-Dhalimy M, et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. Nature. 2003; 422(6934): 897-901.
79. Ishikawa F, Drake CJ, Yang S, Fleming P, Minamiguchi H, Visconti RP, et al. Transplanted human cord blood cells give rise to hepatocytes in engrafted mice. Ann N Y Acad Sci. 2003; 996: 174-185.
80. Newsome PN, Johannessen I, Boyle S, Dalakas E, McAulay KA, Samuel K, et al. Human cord blood-derived cells can differentiate into hepatocytes in the mouse liver with no evidence of cellular fusion. Gastroenterology. 2003; 124(7): 1891-1900.
81. Ianus A, Holz GG, Theise ND, Hussain MA. In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. J Clin Invest. 2003; 111(6): 843-850.
82. Sakaida I, Terai S, Yamamoto N, Aoyama K, Ishikawa T, Nishina H, et al. Transplantation of bone marrow cells reduces CCl4-induced liver fibrosis in mice. Hepatology. 2004; 40(6): 1304-1311.
83. Alison MR, Poulsom R, Jeffery R, Dhillon AP, Quaglia A, Jacob J, et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. Nature. 2000; 406(6793): 257.
84. Hove WR, van Hoek B, Bajema IM, Ringers J, van Krieken JH, Lagaaij EL. Extensive chimerism in liver transplants: vascular endothelium, bile duct epithelium, and hepatocytes. Liver Transpl. 2003; 9(6): 552-556.
85. Idilman R, Erden E, Kuzu I, Ersoz S, Karasu Z, Karayalcin K, et al. Recipient-derived hepatocytes in sex-mismatched liver allografts after liver transplantation: early versus late transplant biopsies. Transplantation. 2004; 78(11): 1647-1652.
86. Ng IO, Chan KL, Shek WH, Lee JM, Fong DY, Lo CM, et al. High frequency of chimerism in transplanted livers. Hepatology. 2003; 38(4): 989-998.
87. Grzelak I, Olszewski WL, Zaleska M, Ziolkowska A, Durlik M, Lagiewska B, et al. Surgical trauma evokes a rise in the frequency of hematopoietic progenitor cells and cytokine levels in blood circulation. Eur Surg Res. 1998; 30(3): 198-204.
88. De Silvestro G, Vicarioto M, Donadel C, Menegazzo M, Marson P, Corsini A. Mobilization of peripheral blood hematopoietic stem cells following liver resection surgery. Hepatogastroenterology. 2004; 51(57): 805-810.
89. Hatch HM, Zheng D, Jorgensen ML, Petersen BE. SDF-1alpha/CXCR4: a mechanism for hepatic oval cell activation and bone marrow stem cell recruitment to the injured liver of rats. Cloning Stem Cells. 2002; 4(4): 339-351.
90. Terada R, Yamamoto K, Hakoda T, Shimada N, Okano N, Baba N, et al. Stromal cell-derived factor-1 from biliary epithelial cells recruits CXCR4-positive cells: implications for inflammatory liver diseases. Lab Invest. 2003; 83(5): 665-672.
91. Lapidot T, Petit I. Current understanding of stem cell mobilization: the roles of chemokines, proteolytic enzymes, adhesion molecules, cytokines, and stromal cells. Exp Hematol. 2002; 30(9): 973-981.
92. Petit I, Szyper-Kravitz M, Nagler A, Lahav M, Peled A, Habler L, Ponomaryov T, Taichman RS, Arenzana-Seisdedos F, Fujii N, et al. G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4. Nat Immunol. 2002; 3(7): 687-694.
93. Kim GB, Nakata H, Tanabe S. In vitro inhibition of hepatic cytochrome P450 and enzyme activity by butyltin compounds in marine mammals. Environ Pollut. 1998; 99(2): 255-261.
94. Bleul CC, Fuhlbrigge RC, Casasnovas JM, Aiuti A, Springer TA. A highly efficacious lymphocyte chemoat-

tractant, stromal cell-derived factor 1 (SDF-1). J Exp Med. 1996; 184(3): 1101-1109.
95. Levesque JP, Hendy J, Takamatsu Y, Simmons PJ, Bendall LJ. Disruption of the CXCR4/CXCL12 chemotactic interaction during hematopoietic stem cell mobilization induced by GCSF or cyclophosphamide. J Clin Invest. 2003;111(2):187-196.
96. Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, et al. Matrix metalloproteinases: a review. Crit Rev Oral Biol Med. 1993; 4(2): 197-250.
97. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. J Periodontol. 1993; 64(5 Suppl): 474-484.
98. Geisler S, Lichtinghagen R, Boker KH, Veh RW. Differential distribution of five members of the matrix metalloproteinase family and one inhibitor (TIMP-1) in human liver and skin. Cell Tissue Res. 1997; 289(1): 173-183.
99. Haruyama T, Ajioka I, Akaike T, Watanabe Y. Regulation and significance of hepatocyte-derived matrix metalloproteinases in liver remodeling. Biochem Biophys Res Commun. 2000; 272(3): 681-686.
100. Lichtinghagen R, Bahr MJ, Wehmeier M, Michels D, Haberkorn CI, Arndt B, et al. Expression and coordinated regulation of matrix metalloproteinases in chronic hepatitis C and hepatitis C virus-induced liver cirrhosis. Clin Sci (Lond). 2003; 105(3): 373-382.
101. Kuyvenhoven JP, Verspaget HW, Gao Q, Ringers J, Smit VT, Lamers CB, et al. Assessment of serum matrix metalloproteinases MMP-2 and MMP-9 after human liver transplantation: increased serum MMP-9 level in acute rejection. Transplantation. 2004; 77(11): 1646-1652.
102. Kuyvenhoven JP, Ringers J, Verspaget HW, Lamers CB, van Hoek B. Serum matrix metalloproteinase MMP-2 and MMP-9 in the late phase of ischemia and reperfusion injury in human orthotopic liver transplantation. Transplant Proc. 2003; 35(8): 2967-2969.
103. Chung TW, Kim JR, Suh JI, Lee YC, Chang YC, Chung TH, et al. Correlation between plasma levels of matrix metalloproteinase (MMP)-9 /MMP-2 ratio and alpha-fetoproteins in chronic hepatitis carrying hepatitis B virus. J Gastroenterol Hepatol. 2004; 19(5): 565-571.
104. Knittel T, Mehde M, Grundmann A, Saile B, Scharf JG, Ramadori G. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors during hepatic tissue repair in the rat. Histochem Cell Biol. 2000; 113(6): 443-453.
105. Hanumegowda UM, Copple BL, Shibuya M, Malle E, Ganey PE, Roth RA. Basement membrane and matrix metalloproteinases in monocrotaline-induced liver injury. Toxicol Sci. 2003; 76(1): 237-246.
106. Watanabe Y, Haruyama T, Akaike T. Liver-derived matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B) recruits progenitor cells from bone marrow into the blood circulation. Biol Pharm Bull. 2003; 26(4): 564-568.
107. Carion A, Benboubker L, Herault O, Roingeard F, Degenne M, Senecal D, et al. Stromal-derived factor 1 and matrix metalloproteinase 9 levels in bone marrow and peripheral blood of patients mobilized by granulocyte colony-stimulating factor and chemotherapy. Relationship with mobilizing capacity of haematopoietic progenitor cells. Br J Haematol. 2003; 122(6): 918-926.
108. Pruijt JF, Verzaal P, van Os R, de Kruijf EJ, van Schie ML, Mantovani A, et al. Neutrophils are indispensable for hematopoietic stem cell mobilization induced by interleukin-8 in mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002; 99(9): 6228-6233.