

AKTYWNOŚĆ METALOPROTEINAZ W ŚCIANIE TĘTNIAKA AORTY BRZUSZNEJ

The activity of metalloproteinases in the wall of abdominal aortic aneurysm

SKÓRA JAN^{1,2 A,E},
PUPKA ARTUR^{2 B},
BARĆ PIOTR^{2 D},
DAWISKIBA TOMASZ^{2 F}

¹Institut Pielęgniarstwa, Państwowa Medyczna Wyższa Szkoła Zawodowa w Opolu
Dyrektor Instytutu: dr n. med. Lucyna Sochocka
²Katedra i Klinika Chirurgii Naczyniowej, Ogólnej i Transplantacyjnej AM Wrocław
Kierownik : Prof. dr. hab. Piotr Szyber

A- przygotowanie projektu badania (study design), **B-** zbieranie danych (data collection), **C-** analiza statystyczna (statistical analysis), **D-** interpretacja danych (data interpretation), **E-** przygotowanie maszynopisu (manuscript preparation), **F-** opracowanie piśmiennictwa (literature search), **G-** pozyskanie funduszy (funds collection)

Streszczenie

Aktywność metaloproteinaz w ścianie tętniaka aorty brzusznej

Tętniaki aorty brzusznej (AAA, abdominalaorticaneurysm) stanowią jedną z głównych przyczyn wykonywania zabiegów naczyniowych. W procesie destrukcji ściany naczyń i powstania tętniaka istotną rolę spełniają metaloproteinazy. Metaloproteinazy macierzy posiadają zdolność trawienia kolagenu, fibronektyny, elastyny, lamininy. Wzrost aktywności metaloproteinaz powoduje destrukcję macierzy pozakomórkowej. W następstwie oddziaływania ciśnienia tętniczego na osłabioną ścianę aorty brzusznej dochodzi do jej dylatacji i powstania tętniaka. W wielu pracach doświadczalnych i klinicznych wykazano wzrost ekspresji genów dotyczących metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej w ścianie tętniaków aorty brzusznej. Uzyskane wyniki służą do porównania z wynikami ekspresji genów metaloproteinaz w innych tkankach lub zdrowej aorty. Dokładne poznanie roli metaloproteinaz w patogenezie tętniaków aorty brzusznej może zostać wykorzystane w profilaktyce i leczeniu tętniaków aorty

Słowa kluczowe : tętniak, aorta, kolagen, metaloproteinazy

Summary

The activity of the metalloproteinases in the wall of the abdominal aortic aneurysm

The abdominal aortic aneurysms (AAA) constitute one of the main reasons for performing a vascular surgery. The metalloproteinases play an important role in the process of the aorta wall destruction and the aneurysm formation. The matrix metalloproteinases possess the ability to digest collagen, elastin, fibronectin and laminin. The increased activity of the matrix metalloproteinases causes the destruction of the extracellular matrix. In consequence of the blood pressure on the damaged wall of the abdominal aorta, it becomes dilated and the formation of the aneurysm occurs. In a series of experimental and clinical works an increased expression of genes for matrix metalloproteinases in the wall of abdominal aortic aneurysms has been demonstrated. These results are used to compare with the results of metalloproteinase gene expression in other tissues or the healthy aorta. The precise knowledge of the role of MMPs in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysms can be used in the prevention and treatment of aortic aneurysms.

Key words: aneurysm, aorta, collagen, matrix metalloproteinases

Tętniaki aorty brzusznej (AAA, abdominalnaorticaneurysm) stanowią jedną z głównych przyczyn wykonywania zabiegów naczyniowych na poziomie aorty i tętnic biodrowych.

Na podstawie dotychczasowych badań epidemiologicznych wykazano częstość występowania tętniaków aorty brzusznej od 4 do 10% w przypadku populacji osób w wieku powyżej 75 lat [1,2,3].

W obrazie histologicznym ściana tętniaka aorty brzusznej charakteryzuje się

oznakami przewlekłego zapalenia, zmniejszeniem liczby komórek mięśni gładkich, destrukcją włókien elastyny i przebudową macierzy zewnątrzkomórkowej przez komórki zapalne: granulocyty, makrofagi [4,5,6].

Efektom tych procesów jest znaczna redukcja grubości warstwy środkowej ściany naczynia. Uwalniane przez granulocyty i makrofagi mediatory zapalenia, aktywne rodniki tlenowe, enzymy proteolityczne powodują stałe niszczenie ściany naczynia, skutkiem czego jest osłabienie na działanie sił związanych z ciśnieniem panującym w świetle aorty [7,8,9]. Wzmoczonej produkcji cytokin zapalnych w tym VEGF towarzyszą procesy wytwórcze w postaci neowaskularyzacji warstwy zewnętrznej [8,9].

Wyniki badań przeprowadzonych w ostatnich latach wskazują, że w procesie destrukcji ściany naczynia istotną rolę spełniają enzymy proteolityczne, takie jak metaloproteinazy macierzy – MMP (ang. matrix metalloproteinases) [10,11,12]. Wiele badań wskazuje na zwiększoną ekspresję MMP w pierwotnych układowych zapaleniach naczyń i tętniakach, zarówno o małej, średniej, jak i dużej średnicy tętnic [12,13,14].

Celem pracy jest przedstawienie roli metaloproteinaz oraz ich inhibitorów w patogenezie tętniaków aorty brzusznej. W wielu pracach wykazano wzrost ekspresji genów dla metaloproteinaz oraz ich wzmoczoną aktywność enzymatyczną w macierzy zewnątrzkomórkowej tkanki łącznej, która jest tkanką podporową dla tętnic. [12,13,14,15].

Efektom tego procesu jest znaczne zmniejszenie odporności tkanki łącznej na działanie sił fizycznych, jakim jest w przypadku tętnic ciśnienie krwi tętnicznej. Stałe oddziaływanie ciśnienia tętniczego na zmienioną tkankę ściany aorty sprzyja jej dylatacji i stopniowemu zwiększaniu średnicy aorty brzusznej. [12,13,14,15].

Metaloproteinazy (Metalloproteinases-MMPs) stanowią rodzinę metalozależnych endopeptydaz degradujących macierz zewnątrzkomórkową. Metaloproteinazy uczestniczą w wielu fizjologicznych i patologicznych procesach dotyczących reakcji zapalnej w macierzy zewnątrzkomórkowej tkanki łącznej. Zwiększona aktywność metaloproteinaz zanotowana została w rozrostach nowotworów i ich przerzutach, w zawale serca oraz w tętniakach aorty [12,13,14,15].

W warunkach fizjologicznych odpowiedzialne są za prawidłowy skład tkanki łącznej. Ich stężenie wzrasta w chorobach związanych z zaburzeniami w tworzeniu i degradacji macierzy tkanki łącznej, ta-

kich jak: reumatoidalne zapalenie stawów, miażdżycy, tętniaki, choroby skóry [12,13,14].

Macierz pozakomórkowa /ECM/ tworzy ruszowanie dla komórek i stabilizuje struktury tkanek budujących narządy. Jej składowe uczestniczą w procesach proliferacji komórek, różnicowaniu i migracji. Spełnianie tych funkcji umożliwia stan dynamicznej równowagi między syntezą a degradacją zawartych w ECM cząsteczek.

Metaloproteinazy macierzy posiadają zdolność trawienia kolagenu, fibronektyny elastyny, lamininy i innych proteoglikanów, odpowiadających za prawidłowy skład macierzy [15,16,17,18,19,20].

Ekspresja genów metaloproteinaz występuje w wielu komórkach: fibroblastach, miofibroblastach, makrofagach, komórkach endotelialnych. Wykazano, że komórki mięśni gładkich naczyń, monocyty oraz komórki śródbłonna naczyń produkują metaloproteinazy /MMPs/, które uczestniczą w przebudowie macierzy pozakomórkowej ułatwiając w ten sposób migrację i infiltrację przez komórki żerne ściany aorty [21,22,23]. W szeregu pracach doświadczalnych i klinicznych wykazano, że dominującą rolę w patogenezie tętniaka aorty pełni metaloproteinaza – 2 i 9 /MMP-9/ [23,24].

W warunkach fizjologicznych stężenie MMPs jest regulowane przez naturalne niespecyficzne inhibitory proteaz: alfa2- makroglobulina/ $\alpha 2M$ / i alfa1-antyproteaza oraz specyficzne tkankowe inhibitory metaloproteinaz. Inhibitory produkowane są przez komórki tkanki łącznej. Tkankowe inhibitory proteinaz obecne są w przestrzeniach międzykomórkowych, w osoczu krwi i w płynach ustrojowych [15,16,23,24].

Głównym inhibitorem MMPs jest glikoproteina - TIMP-1. Drugim jest nieglikozylowana proteina, wytwarzana przez fibroblasty i komórki endotelialne - TIMP-2 [13,15,24]. Ekspresja TIMP-1 jest regulowana przez interleukinę (IL-1) i czynnik martwicy nowotworów (TNF- α). Nie wykazano wpływu cytokin na TIMP-2 [13,14,24].

Zmiany ekspresji lub aktywności poszczególnych metaloproteinaz oraz ich inhibitorów powodują zachwianie równowagi pomiędzy degradacją a syntezą składników macierzy zewnątrzkomórkowej. Metaloproteinazy macierzy są enzymami, które uczestniczą w rozkładzie białek strukturalnych tkanki łącznej (macierzy) [13,14,24].

W przypadku niskiej aktywności inhibitorów a wzmoczonej aktywności metaloproteinaz dochodzi do niekontrolowanej destrukcji macierzy pozakomórkowej przez proteolizę kolagenu i elastyny w obrębie błony wewnętrznej, prowadząc do osłabienia ściany naczynia i jej ścięnięcia [7,25]. W następstwie działania sił mechanicznych na osłabioną ścianę dochodzi do jej dylatacji uwypuklenia. W konsekwencji prowadzi to do powstania tętniaka [24,26,27].

Badania ostatnich lat wskazują na udział przedstawionych enzymów i ich inhibitorów w etiopatogenezie tętniaków aorty brzusznej [24,25,26,27,28]. W szeregu pracach doświadczalnych i klinicznych analizuje się ekspresję genów dotyczących metaloproteinaz

macierzy zewnątrzkomórkowej w ścianie tętniaków aorty brzusznej. Uzyskane wyniki służą do porównania z wynikami ekspresji genów metaloproteinaz w innych tkankach lub zdrowej aorty uzyskanej od dawców narządów [24,25,26,27,28].

Integralność strukturalna aorty oparta jest się na równowadze między syntezą i degradacją białek macierzy pozakomórkowej. Procesy enzymatyczne zachodzące w macierzy pozakomórkowej są wykładnią ścisłego oddziaływania pomiędzy metaloproteinazami a ich tkankowymi inhibitorami [10,11]. W patogenezie tętniaków aorty brzusznej /AAA/ bardzo ważną rolę odgrywają metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej, których aktywność powoduje osłabienie ściany naczynia.

W wielu badaniach wykazano, że w degradacji cząsteczek protein znaczącą rolę odgrywa MMP-2 i MMP-9. Podwyższone stężenia MMP-2 i MMP-9 zaobserwowano w tętniakach, zarówno na poziomie mRNA, jak i białka [22,23,24,25]. W badaniach stwierdzono wielokrotny wzrost mRNA dla MMP-2 i MMP-9 w tętniakach w porównaniu do zdrowej aorty [16,17].

W pracach doświadczalnych wykazano, że wzmoczona ekspresja genu MMP-2 i MMP-9 jest bezwzględnie warunkiem do wywołania tętniaka aorty u zwierząt doświadczalnych [27,28]. Dodatkowo do zwiększanej ekspresji MMP-2 i MMP-9 wykazano wzrost aktywności innych metaloproteinaz.

W wielu pracach obserwowano także wzrost ekspresji tkankowych inhibitorów metaloproteinaz w ścianie tętniaka [15,16,17,18]. Dane z piśmiennictwa przedstawiają znamienne znaczący wzrost ekspresji i aktywności proteolitycznej metaloproteinaz MMP9 w ścianie tętniaka w porównaniu do wyników uzyskanych w przypadkach zdrowej aorty brzusznej, obserwowanych w grupie dawców narządów.

Należy podkreślić, że procesowi wzmoczonej aktywności MMP-2 i MMP-9 nie towarzyszy wzrost ekspresji ich biologicznego inhibitora TIMP-1 w ścianie tętniaków aorty.

Naszym zdaniem ta zaobserwowana i obecna we wszystkich przypadkach dysproporcja w ekspresji genów doprowadza do degradacji macierzy [21,21,25,27].

Efektym klinicznym zaobserwowanego zjawiska nierównowagi w ekspresji genów pomiędzy metaloproteinazami a ich inhibitorami jest osłabienie ściany aorty i stworzenie warunków do powstania tętniaka [14,24,25,27].

Rola MMP i ich inhibitorów w patogenezie tętniaków aorty nie jest jeszcze do końca określona. Z tego powodu prace doświadczalne i kliniczne dotyczące zmian aktywności MMP w macierzy pozakomórkowej stanowią poważny krok w wyjaśnianiu natury wielu procesów leżących u podstaw destrukcji i zmian zapalnych tętnic [10,13,14,20].

Przedstawione wyniki i teorie wymagają dalszych badań. Wynika to z faktu, że ekspresji genów metaloproteinaz występującej w warunkach *In vitro*, niekoniecznie towarzyszą analogiczne procesy zachodzących *in vivo*.

Badania jednoznacznie dowodzą, że destrukcja składników macierzy pozakomórkowej w warunkach *in vivo* nie wynika z aktywności proteolitycznej pojedynczego enzymu [10,22,25,28].

Dlatego ustalenie roli i udziału MMP w poszczególnych etapach powstawania tętniaka aorty sprawia wiele trudności. Wydaje się jednak, że współoddziaływanie następujących czynników, takich jak: predyspozycje genetyczne, infekcje śródbrzoń, miejscowe zaburzenia hemodynamiczne, fragmentacja białek ściany tętnicy sprzyja nadmiernej adhezji komórek zapalnych do ściany aorty [18,19,20,21,25,28].

Komórki zapalne uwalniając cytokiny aktywują proteazy, w tym metaloproteinazy. [8,9,10]. Wynikiem zmian aktywności enzymatycznej w macierzy pozakomórkowej jest przebudowa i osłabienie ściany aorty.

Z tego względu układ MMP/TIMP należy traktować jako mechanizm nie tylko efektorowy, ale również regulujący odpowiedź komórek na reakcję zapalną w obrębie naczyń tętnicznych.

Wykazany w pracach klinicznych udział metaloproteinaz w patogenezie tętniaka aorty brzusznej stanowi przesłankę do prób farmakologicznego leczenia tętniaków aorty brzusznej o małej średnicy/poniżej 45mm/ [28,29,30].

W tym celu wykorzystują się antybiotyki z grupy tetracyklin, które wykazują bardzo duże właściwości hamujące aktywność metaloproteinaz w tkance łącznej. Dotychczasowe wyniki zastosowania tetracyklin w ograniczeniu ekspansji tętniaka aorty brzusznej są pozytywne, ale wymagają dalszych badań klinicznych [28,29,30].

Piśmiennictwo:

1. Jamrozik K, Norman PE, Spencer CA, et al. Screening for abdominal aortic aneurysm: lessons from a population-based study. *Med J Aust* 2000;173:345-350.
2. Blanchard JF. Epidemiology of abdominal aortic aneurysms. *Epidemiol Rev* 1999;21:207-221
3. Gillum RF. Epidemiology of aortic aneurysm in the United States. *J Clin Epidemiol* 1995;48:1289-1298.
4. Wasseff M, Baxter BT, Chisholm RL, Dalman RL, Fillinger MF, Heinecke J. Pathogenesis of abdominal aortic aneurysm: a multidisciplinary research program supported by the National Heart, Lung and Blood Institute. *J Vasc Surg.* 2001; 34: 730-738.
5. Ailawadi G, Eliason JL, Upchurch GR Jr, Arbor A. Current concepts in the pathogenesis of abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 2003; 38: 584-588.
6. Sandrord RM, Bown MJ, London NJ, Sayers RD. The genetic basis of abdominal aortic aneurysms: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007;33(4):381-390.
7. Thompson RW, Geraghty PJ, Lee JK. Abdominal aortic aneurysms: basic mechanisms and clinical implications. *Curr Probl Surg* 2002;39:110-230.
8. Charo IF, Ransohoff RM. The role of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med* 2006; 354:610-621.
9. Yajima N, Masuda M, Miyazaki M, Nakajima N, Chien S, Shyy J. Oxidative stress is involved in the development of experimental abdominal aortic aneurysm: a study of the transcription profile with complementary DNA microarray. *J Vasc Surg* 2002; 36: 379-385.
10. Thompson AR, Drenos F, Hafez H, Humphries SE. Candidate gene association studies in abdominal aortic aneurysm dise-

- ase: a review and meta-analysis. *Eur J VascEndovascSurg* 2008 Jan;35(1):19-30. Epub 2007 Oct 24. Review.
11. Kadaoglou NP, Lapis CD. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis, surveillance and treatment of abdominal aortic aneurysms. *Curr Med Res Opin* 2004; 20: 419–432.
 12. Knox JB, Sukhova GK, Whittemore AD, Libby P. Evidence for altered balance between matrix metalloproteinases and their inhibitors in human aortic diseases. *Circulation* 1997;95:205-212.
 13. Bogaczewicz J, Dudek W, Zubilewicz T, Wroński J, Przywara S, Chodorowska G, Krasowska D. Rola metaloproteaz macierzy i ich tkankowych inhibitorów w angiogenezie, *Pol Merkuriusz Lek* 2006 Jul;21(121):80-85. Review. Polish.
 14. Bogaczewicz J, Sysa-Jędrzejowska A, Woźniacka A. Rola metaloproteinaz macierzy w pierwotnych układowych zapaleniach naczyń, *Pol Merkuriusz Lek* 2008 Feb;24(140):85-89. Review. Polish
 15. Tamarina NA, McMillan WD, Shively VP, Pearce WH. Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors in aneurysm and normal aorta. *Surgery* 1997; 122: 264–271.
 16. Elmore JR, Keister BF, Franklin DP, Youkey JR, Carey DJ. Expression of matrix metalloproteinases and TIMPs in human abdominal aortic aneurysms. *Ann VascSurg* 1998; 12:221–228.
 17. Tung WS, Lee JK, Thompson RW. Simultaneous analysis of 1176 gene products in normal human aorta and abdominal aortic aneurysms using a membrane-based complementary DNA expression array. *J VascSurg* 2000;34:143-150.
 18. Pan JH, Lindholt JS, Sukhova GK, Baugh JA, Henneberg EW, Bucala R, et al. Macrophage migration inhibitory factor is associated with aneurysmal expansion. *J VascSurg* 2003 Mar;37(3):628-635.
 19. Skóra J, Janczak D, Barć P, Stepiński P, Pawłowski S, Szyber P. Examination of elastase concentration in the wall of abdominal aortic aneurysms. *Pol MerkuriuszLek* 2000 Aug;9(50):552-553.
 20. Pupka A, Skóra J, Kałuża G, Szyber P. The detection of Chlamydia pneumoniae in aneurysm of abdominal aorta and in normal aortic wall of organ donors. *Folia Microbiol (Praha)* 2004;49(1):79-82.
 21. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002;90(3):251-262
 22. Keeling WB, Armstrong PA, Stone PA, Bandyk DF, Shames ML. An overview of matrix metalloproteinases in the pathogenesis and treatment of abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Endovascular Surg* 2005;39(6):457-464
 23. Jones GT, Phillips VL, Harris EL, Rossaak JI, VanRij AM. Functional matrix metalloproteinase-9 polymorphism (C-1562T) associated with abdominal aortic aneurysm. *J VascSurg* 2003;38(6):1363-1367.
 24. Wang X, Trompt G, Cole CW, Verloes A, SakalihasanN, Yoons S et al. Analysis of coding sequences for tissue inhibitor of metalloproteinases 1 (TIMP1) and 2 (TIMP2) in patients with aneurysms. *Matrix Biol* 1999;18(2):121-124.
 25. CHoke E, Cockerill G, Wilson WR, Sayed S, Dawson J, Loftus I et al. A review of biological factors implicated in abdominal aortic aneurysm rupture. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2005;30(3): 227-244.
 26. Urbonavicius S, Urbonaviciene G, Honoré B, Henneberg EW, Vorum H, Lindholt JS. Potential circulating biomarkers for abdominal aortic aneurysm expansion and rupture—a systematic review. *Eur J VascEndovascSurg* 2008 Sep;36(3):273-280; discussion 281-282. Epub 2008 Jul 17.
 27. Lesauskaite V, Epistolato MC, Castagnini M, Urbonavicius S, Tanganelli P. Expression of matrix metalloproteinases, their tissue inhibitors, and osteopontin in the wall of thoracic and abdominal aortas with dilatative pathology. *Hum Pathol* 2006 Aug;37(8):1076-1084. Epub 2006 Jun 19.
 28. Liao S, Miralles M, Kelley BJ, Curci JA, BorhaniM, Thompson RW: Suppression of experimental abdominal aorticaneurysms in the rat by treatment with angiotensin-converting enzyme inhibitors. *J VascSurg* 2001 ; 33: 1057-1064.
 29. Dodd BR, Spence RA: Doxycycline inhibition of abdominal aortic aneurysm growth: a systematic review of the literature. *CurrVascPharmacol*. 2011 Jul 1;9(4):471-8
 30. Gollledge J, Norman PE.: Current status of medical management for abdominal aortic aneurysm *Atherosclerosis*. 2011 Jul;217(1):57-63.

Adres do korespondencji:

Dr hab. n. med. Jan Skóra
Państwowa Medyczna Wyższa Szkoła Zawodowa w Opolu
ul. Katowicka 68, 45-060 Opole
Tel.0774423540
e-mail: jpskora@gmail.com

Praca wpłynęła do Redakcji: 07.03.2012

Po recenzji: 12.03.2012

Zaakceptowano do druku: 15.03.2012