

Ю. И. Кузык

Использование матричной металлопротеиназы-9 (ММП-9) и её тканевого ингибитора (ТИМП-1) в патоморфологической диагностике каротидной патологии: анализ научной литературы и собственные наблюдения

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

Ключевые слова: ММП-9, ТИМП-1, каротидный атеросклероз, фибромышечная дисплазия, извитость артерий.

Матричные металлопротеиназы (ММП) являются деградативными ферментами экстрацеллюлярного матрикса. В настоящее время доказана роль ММП-2 и ММП-9 в прогрессировании атеросклероза. Вопрос возможного участия ММП-9 в деградации эластина при фибромышечной дисплазии (ФМД) и патологической извитости (ПИ) остаётся малоизученным.

Цель работы – анализ современной научной литературы по вопросу роли деградативных ферментов в развитии каротидной патологии, а также исследование экспрессии коллагена I, III, IV типов, ММП-9 и ТИМП-1 в стенке сонных артерий при ФМД, ПИ и атеросклерозе.

Материалы и методы. Проведены обзор научной литературы и собственные исследования; иммуногистохимическое исследование коллагенов I, III и IV типов, ТИМП-1 и ММП-9 операционного материала больных при основных каротидных заболеваниях: три наблюдения при атеросклерозе, два – при ФМД и два – при ПИ сонных артерий. Уровень экспрессии оценивался полуквантитативным методом.

Результаты. Собственные наблюдения показали, что при ФМД содержание коллагена I и III типов как в меди, так и в адвентиции остаётся неизменным. Экспрессия ММП-9 достигала самого высокого уровня интенсивности в атеросклеротических бляшках, особенно в макрофагах, составляющих основную часть атероматозных масс. Умеренная интенсивность экспрессии отмечена при ФМД и ПИ. При ПИ экспрессия превалировала в нижней трети меди на границе с адвентицией, включая адвентицию, при ФМД – преимущественно в меди. Уровень ТИМП-1 – слабопозитивный при ПИ и ФМД, негативный – при атеросклерозе.

Выводы. Результаты свидетельствуют о возможности использования ММП-9 и ТИМП-1 в качестве морфологического маркера определения патологических процессов при каротидной патологии. Данные иммуногистохимического исследования коллагенов I, II, IV типов указывают на умеренную экспрессию коллагена I типа при ПИ и ФМД, выраженную экспрессию коллагена III при ФМД и умеренную – при ПИ. Коллаген IV типа выражено экспрессировался в атеросклеротических бляшках. Для атеросклероза характерна выраженная экспрессия ММП-9 в атеросклеротических бляшках. При неатеросклеротических заболеваниях – ФМД и ПИ наблюдалась умеренная интенсивность экспрессии. Уровень экспрессии ММП-9 коррелировал с уровнем ТИМП-1: слабопозитивный – при ПИ и ФМД, негативный – при атеросклерозе.

Використання матричної металопротеїнази-9 (ММП-9) та її тканинного інгібітора (ТИМП-1) у патоморфологічній діагностиці каротидної патології: аналіз наукової літератури та власні спостереження

Ю. І. Кузык

Матричні металопротеїнази (ММП) – це деградативні ферменти екстрацелюлярного матриксу. Нині доведено роль ММП-2 та ММП-9 у прогресуванні атеросклерозу. Питання можливої участі ММП-9 у деградації еластину при фібром'язовій дисплазії (ФМД) і патологічній звивистості (ПЗ) залишається відкритим і маловивченим.

Мета роботи – аналіз сучасної наукової літератури з питання ролі деградативних ферментів у розвитку каротидної патології, а також дослідження експресії колагену I, III, IV типів, ММП-9 і ТИМП-1 у стінці сонних артерій при ФМД, ПЗ та атеросклерозі.

Матеріали та методи. Здійснили огляд наукової літератури й власні дослідження. Виконали імуногістохімічне дослідження колагенів I, III та IV типів, ТИМП-1 та ММП-9 операційного матеріалу хворих при основних каротидних захворюваннях: три спостереження при атеросклерозі, два – при ФМД і два – при ПЗ сонних артерій. Рівень експресії оцінювали напівкількісним методом.

Результати. Власні спостереження показали, що при ФМД вміст колагену I та III типів як у меді, так і в адвентиції залишається незмінним. Рівень експресії ММП-9 досягав найвищого рівня інтенсивності в атеросклеротичних бляшках, особливо в макрофагах, що становили основну частину атероматозних мас. Помірна інтенсивність експресії відзначена при ФМД і ПЗ. При ПЗ експресія преваливала в нижній третині меді на межі з адвентицією, включаючи адвентицію, при ФМД – переважно в меді. Рівень ТИМП-1 – слабопозитивний при ПЗ і ФМД, негативний – при атеросклерозі.

Висновки. Результати, що отримали, свідчать про можливість використання ММП-9 і ТИМП-1 як морфологічних маркерів визначення патологічних процесів при каротидній патології. Дані імуногістохімічного дослідження колагенів I, II, IV типів вказують на помірну експресію колагену I типу при ПЗ і ФМД, виражену експресію колагену III при ФМД і помірну при ПЗ. Колаген IV типу виражено експресувався в атеросклеротичних бляшках. Для атеросклерозу характерна виражена експресія ММП-9 в атеросклеротичних бляшках. При неатеросклеротичних захворюваннях – ФМД і ПЗ – спостерігали помірну інтенсивність експресії. Рівень експресії ММП-9 корелював із рівнем ТИМП-1: слабо позитивний – при ПЗ і ФМД, негативний – при атеросклерозі.

Ключові слова: ММП-9, ТИМП-1, каротидний атеросклероз, фібром'язова дисплазія, звивистість артерій.**Патологія.** – 2016. – №1 (36). – С. 37–44

Use of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its tissue inhibitor (TIMP-1) in the pathomorphological diagnosis of carotid pathology: literature review and own observations

Yu. I. Kuzyk

Matrix metalloproteinases (MMPs) are the degradative enzymes of the extracellular matrix. Currently, the role of MMP-2 and MMP-9 in the progression of atherosclerosis (AS) is proved. The question of possible involvement of MMP-9 into elastin degradation in fibromuscular dysplasia (FMD) and pathological tortuosity (PT) remains open and insufficiently explored.

The aim of the study – analysis of the current literature on the role of degradative enzymes in the development of carotid pathology and study of the expression of type I, III, IV collagens, MMP-9 and TIMP-1 in the wall of the carotid arteries in FMD, PT and AS.

Materials and methods included literature review and own research. Immunohistochemical study of type I, III and IV collagens, TIMP-1 and MMP-9 was carried out on surgical material of patients with main carotid diseases: three observations with AS, two – with FMD, two – with PT. The level of expression was assessed by semiquantitative method.

Results. Own observations showed that in FMD types I and III collagen content in the media and in the adventitia remains unchanged. MMP-9 expression level reached the highest level of intensity in atherosclerotic plaques, particularly in macrophages, constituting the main part of the atheromatous mass. Moderate intensity of expression is noted in FMD and PT. In PT expression prevailed in the lower third of the media on the border with adventitia, including the adventitia, in FMD – mainly in the media. The level of TIMP-1 is weakly positive in PT and FMD, negative in AS.

Conclusions. These results demonstrate the possibility of using MMP-9 and TIMP-1 as a morphological marker determining pathological processes in carotid pathology. Data of immunohistochemical study of type I, II, IV collagens indicate moderate expression of collagen type I in FMD and PT, severe expression of collagen III in FMD, moderate in PT. Type IV collagen is highly expressed in atherosclerotic plaques. For AS high expression of MMP-9 in atherosclerotic plaques is characteristic. In cases of nonatherosclerotic diseases – FMD and PT – expression intensity was moderate. MMP-9 expression level was correlated with the level of TIMP-1 – weakly positive in PT and FMD, negative in AS.

Key words: Matrix Metalloproteinase 9, TIMP-1, Carotid Atherosclerosis, Fibromuscular Dysplasia, Arterial Tortuosity.

Pathologia. 2016; №1 (36): 37–44

Матриксные металлопротеиназы (ММП) относятся к семейству Zn²⁺- и Ca²⁺-зависимых эндопептидаз, участвующих в ремоделировании соединительной ткани посредством разрушения её органических компонентов при физиологических значениях pH. Своё название ММП получили за способность специфически гидролизовать основные белки межклеточного матрикса [26].

Классификация ММП [14]:

- ММП секреторного типа (классические, растворимые): коллагеназы (ММП-1, ММП-8, ММП-13); желатиназы (ММП-2, ММП-9, ММП-14); стромелизины (ММП-3, ММП-10, ММП-15); матрилизины (ММП-7).
- ММП, связанные с клеточными мембранами (мембранный тип МТ-ММП-14, -15, -16, -17).
- ММП не классифицированные, не относящиеся к известным подсемействам (ММП-7, -12, -19, -20).

Все ММП обладают относительной субстратной специфичностью: представители подсемейства коллагеназ главным образом ответственны за деградацию коллагена I, II и III типов, желатиназы и стромелизины расщепляют коллаген IV, V типов, а также эластин, фибронектин, ламинин и желатин. ММП-9 или желатиназа В имеет высокое сродство с денатурированным коллагеном (желатином), но способна расщеплять и нативный коллаген VI, V и XI типов, эластин, а также IL-8, активирующий пептид соединительной ткани III, тромбоцитарный фактор-4, субстанцию Р, амилоидный пептид β. В зависимости от места расщепления этих молекул ММП-9 может понижать или повышать их биологическую активность [16,27]. Активность ферментов зависит от уровня экспрессии их генов и от наличия активаторов и ингибиторов. ММП относят к «индуцируемым» ферментам, транскрипция которых подчиняется

целому ряду факторов (стероидные и тиреоидные гормоны, цитокины, факторы роста, химические агенты и другие). Экспрессия ММП сходна с экспрессией белков острой фазы и регулируется противовоспалительными цитокинами, такими как ФНО-α, ФНО-γ и ИЛ-1β [8,11], бактериальными липополисахаридами [17]. Регуляция активности ферментов на посттрансляционном уровне осуществляется активацией зимогенов или взаимодействием с тканевыми ингибиторами ММП (ТИМП) [22,27]. К настоящему времени в геноме человека найдены четыре гена белков ТИМП, каждый из которых обладает специфичностью к определённым типам ММП. В то же время любой из белков ТИМП может ингибировать практически любую коллагеназу, но с разным уровнем ингибирования в разных тканях. Полиморфизм nt⁺434 и интрон-5g/t гена ТИМП-1 ассоциированы с аневризмой брюшной аорты, а также с дегенерацией люмбальных дисков. Полиморфизм 418G/C гена ТИМП-2 был ассоциирован с параметрами реполяризации миокарда и с прогрессирующим периодонтитом. Полиморфизм T-1296C гена ТИМП-3 был ассоциирован с вариабельностью толщины интимы каротидной артерии и с аневризмой брюшной аорты. Все это указывает на генетическую детерминированность ММП [14].

Предшественники ММП активируются в межклеточной среде преимущественно плазмином и другими протеиназами, в том числе и ММП, а также тиолмодифицирующими агентами (4-аминофенилмеркуриевый ацетат, HgCl₂ и N-этималеимид). Регулирование активности ММП-9 осуществляется не только под воздействием цитокинов, но и под влиянием неустойчивости антиоксидант-оксидантной системы. В качестве возможных стимулов для повышения активности ММП описывают артериальную гипертензию, механическое повреждение интимы (при баллонной ангиопластике и эндартерэк-

томии), влияние никотина и других повреждающих факторов [7]. Уровень ММП-9 зависит и от других металлопротеиназ – ММП-3 и регулируется проактивными генами. Полиморфизм гетерозиготного генотипа 5А/6А играет важную роль в регулировании уровня ММП-3 и, соответственно, ММП-2, ММП-9. Установлен факт связи полиморфизма генов, ответственных за регулировку ММП-3, ММП-2, ММП-9, с развитием атеросклероза артерий, аневризмой аорты, инфарктом миокарда [15].

Основная биологическая функция ММП заключается в устранении компонентов внеклеточного матрикса. ММП регулируют действие ростовых факторов: сосудистого эндотелиального фактора роста, рецептора фактора роста фибробластов, эпителиального фактора роста и инсулиноподобного фактора роста [17]. ММП-2, -3, -7, -9 способствуют активации трансформирующего фактора роста β , являющегося хемоаттрактантом для моноцитов, высвобождая его из матрикса [9].

Цель работы

Анализ современной научной литературы по вопросу роли деградативных ферментов в развитии каротидной патологии, а также исследование экспрессии коллагена I, III, IV типов, ММП-9 и ТИМП-1 в стенке внутренней сонной артерии при фибромышечной дисплазии, патологической извитости и атеросклерозе.

Материалы и методы исследования

Кроме анализа научной литературы с провизорной целью проведено исследование операционного материала семи пациентов, прооперированных в отделении сосудистой хирургии Львовской областной клинической больницы по поводу каротидного стеноза. Был взят операционный материал больных при основных каротидных заболеваниях: три наблюдения при атеросклерозе, два наблюдения при фибромышечной дисплазии (ФМД) и два случая при патологической извитости (ПИ) сонных артерий. Среди больных с атеросклерозом – все мужчины возрастом 55, 60 и 64 года; с ФМД – две женщины возрастом 27 и 38 лет. ПИ была у одного мужчины 23 лет и женщины 42 лет. Операционный материал – фрагменты сонных артерий – фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине и заливали в парафин. Для гистологического исследования срезы толщиной 3–4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование проводили по стандартной методике [12] с использованием первичных моноклональных антител к коллагену I типа (клон RAN C11-0,1), коллагену III типа (клон RAN C33), коллагену IV типа (клон CIV 22), ингибитору матриксных металлопротеиназ-1 (ТИМП-1) (клон 102D1), поликлональных антител к матриксной металлопротеиназе-9 (ММП-9 (92kDa Collagenase IV), а также системы детекции EnVision FLEX с диаминобензидином (ДАКО, США). Срезы докрашивали гематоксилином Майера и заключали в бальзам. Препараты исследовали с помощью световой микроскопии. Результаты ИГХ-исследования оценивали полуколичественным методом: (-) – отсутствие экспрессии, (+) – слабая, (++) – умеренная, (+++) – выраженная интенсивность реакции.

Результаты и их обсуждение

В настоящее время доказана роль ММП-2 и ММП-9 в прогрессировании атеросклероза. Макрофаги атеросклеротических бляшек продуцируют значительное количество ММП, которые участвуют в деградации коллагена IV типа. Протеазы инициируют процесс разрушения структуры атероматозной бляшки, увеличивают вероятность её отрыва от сосудистой стенки и появление эмбола, развитие внутрибляшечных кровоизлияний [14]. Поскольку основными продуцентами ММП являются воспалительные клетки – макрофаги, лейкоциты, лимфоциты, то наиболее изученными являются воспалительные заболевания сосудов, в то же время невоспалительные заболевания, такие как ФМД и ПИ сонных артерий, остаются вне поля зрения исследователей. Несмотря на активное изучение ФМД и ПИ, на сегодняшний день не существует единой теории возникновения данных заболеваний [1,2,18,20,25]. Известно, что в основе данных патологий лежит нарушение эластичного каркаса сосудов, вопрос, что же является пусковым моментом, остаётся открытым. Эластин и коллагены играют ключевую роль в определении механических свойств стенки сосуда, обеспечивая прочность при её растяжении. Это достигается с помощью трёхмерного строения сети окончатых эластических мембран меди, между которыми расположены веретенообразные гладкомышечные клетки (ГМК) и коллагеновые волокна. Высокое содержание коллагенов, особенно I и III типов, в адвентиции также способствует предотвращению разрыва сосуда при резких колебаниях артериального давления. Процессы повышения жёсткости сосудов, обусловленные снижением содержания эластина и повышения коллагена, лежат в основе ремоделирования сосудистой стенки в ответ на различные патологические стимулы. Низкое содержание эластина приводит к пролиферации ГМК с прогрессированием сосудистого стеноза. Снижение содержания коллагена III типа и повышения коллагена I и IV типов приводит к повышению жёсткости сосуда, увеличению хрупкости и склонности к разрыву. ГМК выполняют контрактильную и синтетическую функции, продуцируя коллаген и эластин, цитокины и протеазы. Изменение их количества и превалирование синтетической функции над контрактильной приводят к нарушению нормального соотношения внеклеточного матрикса [23]. Одним из регулировщиков процесса перехода гладкомышечных клеток из контрактильного фенотипа в синтетический являются ММП-2, ММП-9 и ТИМП-1 [15,20,21]. Поэтому возникает вопрос о возможной ведущей роли ММП в развитии ремоделирования сосудистой стенки как при атеросклеротической каротидной патологии, так и при ПИ и ФМД.

В наших исследованиях, сравнив содержание коллагена I типа при атеросклерозе, ФМД и ПИ, выявили, что при ПИ и ФМД экспрессия была умеренной, преимущественно в меди и адвентиции, при атеросклерозе – слабой. Коллаген III типа проявлял самую высокую экспрессию при ФМД в меди и адвентиции, умеренную – при ПИ в меди, слабую – при атеросклерозе в меди. Коллаген IV типа преимущественно экспрессировался

в атеросклеротических бляшках, умеренная экспрессия отмечалась в меди и адвентиции при ФМД, слабая – при ПИ.

Таким образом, выявлено, что при ПИ и ФМД внутренних сонных артерий отмечается нарушение эластических свойств сосуда за счёт разрушения эластических волокон, что согласуется с данными других авторов [15,25]. При этом содержание коллагена I и III типов как в медиальной оболочке, так и в адвентиции остаётся неизменным. Уменьшение количества ГМК может приводить как к ухудшению механических свойств артерии, так и к нарушению синтеза ими компонентов внеклеточного матрикса. Это подтверждается работами G. La Barbera [5], в которых продемонстрировано уменьшение количества эластических волокон и ГМК при ПИ внутренней сонной артерии. D. P. Slovut [24] указывает на преимущественное накопление именно коллагена III в меди сосудов при ФМД и считает его возможным маркером данного заболевания.

Экспрессия ММП-9 достигала самого высокого уровня интенсивности в атеросклеротических бляшках, особенно в макрофагах, составляющих основную часть атероматозных масс. Умеренная интенсивность экспрессии отмечена при ФМД и ПИ. При ПИ экспрессия превалировала в нижней трети меди на границе с адвентицией, включая адвентицию, при ФМД – преимущественно в меди. Уровень ТИМП-1 – слабоположительный при ПИ и ФМД, негативный – при атеросклерозе.

Повышение уровня ММП при атеросклерозе ассоциируется с миграцией ГМК и формированием бляшек [6,16]. Источником синтеза металлопротеиназ в атеросклеротических бляшках считают макрофаги, особенно пенистые макрофаги, моноциты и реже – лимфоциты. Макрофаги секретируют несколько классов нейтральных экстрацеллюлярных протеаз, включая ММП (коллагеназы, желатиназы, стромелизины) и другие эластолитические ферменты (такие как катепсины S и K), которые вызывают разрушение волокон коллагена, уменьшая толщину покрышки и снижая её механическую устойчивость к разрыву. Активность ММП в бляшке параллельна увеличению в ней воспалительной клеточной инфильтрации и повышению уровня апоптоза клеток [19]. Повышение уровня ММП-2 и ММП-9 коррелирует со снижением уровня коллагенов I, III типов при атеросклерозе, что приводит к прогрессированию стеноза и интимальной гиперплазии.

Деградация коллагенов в сочетании с усиленной миграцией ГМК считается основой патогенеза повреждения сосудистой стенки. Повышенная экспрессия ММП-9 приводит не только к миграции ГМК, но и к росту соединительной ткани [8,15,19]. В то же время повышенная экспрессия ТИМП-1, показанная в экспериментальном мышинном атеросклерозе, является результатом множественной дивергенции, включающей снижение пролиферации и миграции ГМК, индукции апоптоза ГМК, уменьшение интимальной гиперплазии и повышение аккумуляции элементов экстрацеллюлярного матрикса [4,13]. Повышение ММП-9 отмечается при изъязвлении бляшек, внутрибляшечных кровоизлияниях и в атероматозных бляшках. Доказано, что ММП-9 про-

мотирует неоангиогенез, пролиферацию со следующей миграцией пенистых макрофагов и ГМК, приводя к деградации экстрацеллюлярного матрикса и разрыву покрышки бляшек. Поэтому повышение в плазме крови ММП-2, -9 служат маркером нестабильности бляшек [19]. ММП-9 и ММП-2 обладают способностью разрушать внутреннюю эластичную мембрану артерии и собственную базальную мембрану гладкомышечных клеток меди, тем самым способствуя миграции гладкомышечных клеток в интиму, где они приобретают качественно новый синтетический фенотип и таким образом стабилизируют атерому [13,17].

Z. S. Galis et al. [9] установили, что при отсутствии функционирующего гена ММП-9 у мышей развиваются более крупные атеросклеротические бляшки со значительной макрофагальной инфильтрацией. В результате исследований, проведённых Е. В. Шляхто с соавт., обнаружено, что в условиях экспериментально индуцированного воспаления в атеросклеротической бляшке мышей уровень ММП-9 снижался. Вышеперечисленные данные подтверждают неоднозначность патогенетической роли ММП в атерогенезе, что требует дальнейшего изучения.

Работ по исследованию уровня экспрессии ММП-9 либо других металлопротеиназ при ФМД и ПИ сонных артерий крайне мало. Поскольку эти заболевания давно признаны невоспалительными, то и возможность экспрессии сомнительна. В исследовании Е. М. Пальцевой и соавт. [3] выявлена экспрессия ММП-9 только в трети случаев при ПИ сонных артерий. Автор допускает, что снижение количества ГМК и нарушение их синтетической функции обуславливает усиление активности ММП-9 и деградацию тканевого матрикса. В то же время остаётся открытым вопрос, что же является пусковым фактором в уменьшении количества синтетического фенотипа ГМК [26].

Многие авторы показывают, что металлопротеиназы, наоборот, инициируют переход ГМК из сократительного в синтетический тип, увеличивая количество активизированных клеток, способных к процессам ремоделирования сосуда [10]. В обзоре P. Chelladurai et al. [8], посвящённом роли металлопротеиназ в развитии лёгочной гипертензии, акцентировано, что основная их роль состоит в реабсорбции сосудистого коллагена в процессе ремоделирования сосуда в фазе постгипоксического восстановления. Авторами предложена новая концепция первичной лёгочной гипертензии, в соответствии с которой металлопротеиназы имеют эндотелин-опосредованное регулирование. Повышенная активность ММП-9 была обнаружена у эндотелин-В-рецептор-дефицитных крыс в модели индуцированной гипоксии. Данная модель демонстрирует также повышение уровня эластаз сосудистой стенки в сочетании с активизацией металлопротеиназ [8]. По аналогии с вышесказанным, можно предположить невоспалительное происхождение ММП-9 при ФМД и ПИ сонных артерий. Возможно, повреждение эластического каркаса с активизацией эластаз и повышением уровня ММП-9 является следствием фенотипического моделирования гладкомышечных клеток в ответ на повреждение сосудистой стенки. Вопрос возможного участия металлопротеиназ

в деградации эластина при неатеросклеротических заболеваниях сосудов остаётся открытым и требующим дальнейших исследований.

Доказано, что различные типы клеток сосудистой стенки: эндотелий, гладкомышечные клетки и фибробласты – могут являться дополнительными источниками ММП [10]. Эндотелиальные клетки (ЭК) могут выступать в качестве источника ММП во время ангиогенеза или заживления раневых процессов. В неизменённой сосудистой стенке ЭК могут экспрессировать ММП-1, ММП-2, ТИМП-1 и ТИМП-2 [8,27]. Хотя экспрессия ММП в ЭК является низкой, несколько проангиогенных факторов, провоспалительных медиаторов и органических соединений (например, форболовые эфиры) могут индуцировать экспрессию ММП и активировать скрытые ММП [27]. Описывается наблюдение повышения активности ММП-2 и существенного снижения ТИМП-1 и ТИМП-2 в ЭК микрососудов в ответ на возрастание уровня фактора роста эндотелия сосудов (VEGF). VEGF-индуцированная деактивация уровней ТИМП впоследствии позволяет активировать ранее существовавшие коллагеназы, которые в совокупности могли бы способствовать эндотелиальному вторжению [11].

Гладкомышечная экспрессия ММП отчётливо модулируется различными факторами роста и цитокинами. Воздействие на ГМК провоспалительных молекул, таких как интерлейкин (IL)1A, фактор некроза опухоли (ФНО), способны значительно увеличить экспрессию и активность ММП-2 [9]. Тем не менее ещё одно исследование не показало, что возможна аутокринная экспрессия и активация перехода ГМК в сократительный фенотип

путём модулирования ММП. В совокупности эти данные иллюстрируют дифференциальную регуляцию экспрессии ММП различными факторами роста и цитокинами.

Адвентициальные фибробласты являются преобладающим типом клеток адвентиции. Они активны во время роста, но, как правило, находятся в состоянии покоя в нормальной сосудистой стенке. В частности, значительное увеличение уровня ММП-2, ТИМП-1 и ТИМП-2 наблюдалось при гипоксическом стимуле по сравнению с нормоксическими фибробластами [10]. Было показано, что активная форма кислорода – (ROS)-индуцированный окислительный стресс повышает активность ММП и потенциально модулирует пролиферацию фибробластов и синтез коллагена [27]. Нормальные фибробласты подвергаются фенотипическому переключению на миофибробласты через ММП-2/ТИМП-опосредованный путь [11]. В частности, PDGF, TGF- β 1, тенасцин-С (TN-C), фибронектин и ET-1 проявляют митогенную активность и вызывают переход в миофибробластный фенотип как *in vitro*, так *in vivo* [10], вероятно, путём регулирования баланса ММП/ТИМП. Вышеизложенное даёт основание предположить, что ММП при ФМД и ПИ активизируются вследствие генетических факторов, гипоксии, окислительного стресса, гипертензии, курения. Следует отметить, что этиология и патогенез этих заболеваний до конца неизвестны, в научной литературе обсуждаются врождённые и приобретённые причины развития, включающие отмеченные ранее причины [1,2,18].

Анализ данных литературы и собственные исследования позволяют сформулировать возможную гипотезу ремоделирования сосудов при каротидной патологии (рис. 1).

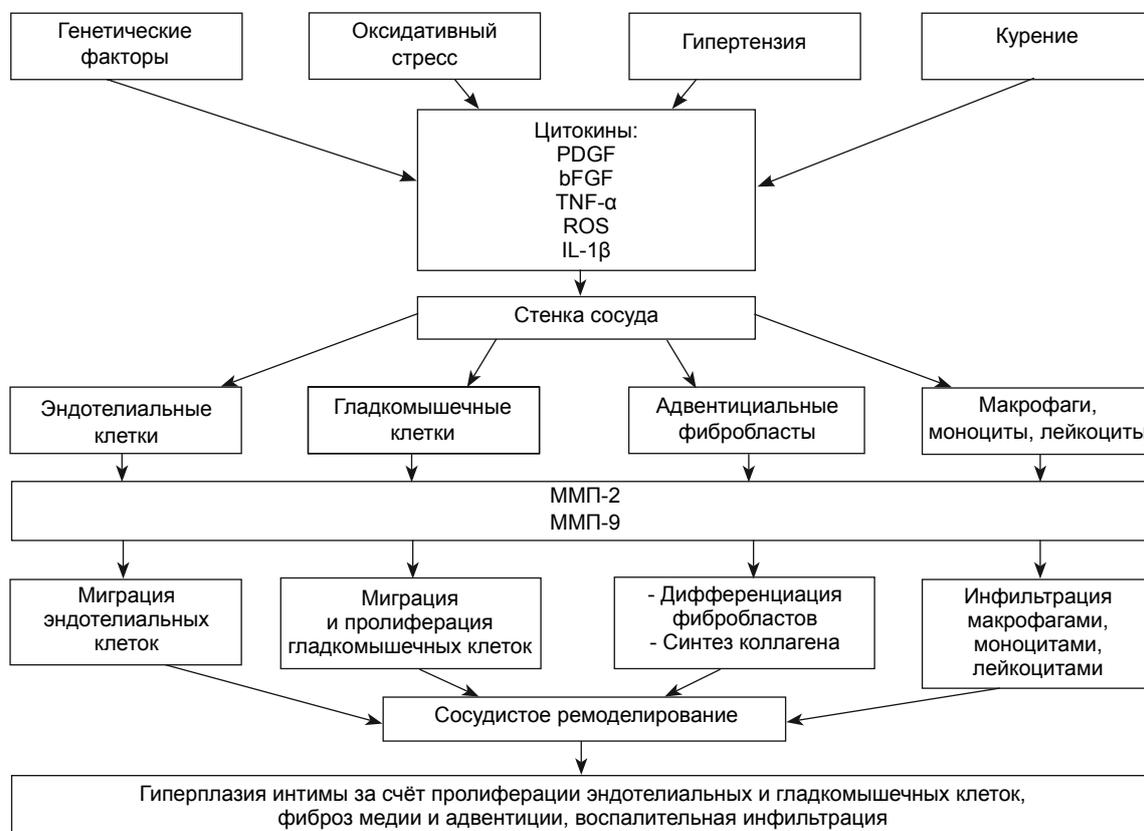


Рис. 1. Роль металлопротеиназ в патогенезе каротидной патологии.

Выводы

1. Анализ научной литературы по вопросу роли ММП в развитии каротидного атеросклероза демонстрирует неоднозначные подходы. ММП-9 признана маркером нестабильности бляшки, её повышенная экспрессия отмечается при изъязвлении бляшек, внутрибляшечных кровоизлияниях и в осложнённых атероматозных бляшках. В то же время в условиях экспериментально индуцированного воспаления в атеросклеротической бляшке мышей уровень ММП-9 снижался.

2. В патогенезе неатеросклеротических заболеваний ФМД и ПИ можно предположить невоспалительное происхождение ММП, связанных с генетически детерминированным и стресс-индуцированным повреждением сосудистой стенки, приводящим к фенотипическому моделированию гладкомышечных клеток и последующей активизации ММП.

3. Полученные данные иммуногистохимического исследования коллагенов I, II, IV типов указывают на умеренную экспрессию коллагена I типа при ПИ и ФМД, выраженную экспрессию коллагена III при ФМД и умеренную – при ПИ. Коллаген IV типа выражено экс-

прессировался в атеросклеротических бляшках.

4. Для атеросклероза характерна выраженная экспрессия ММП-9 в атеросклеротических бляшках. При неатеросклеротических заболеваниях – ФМД и ПИ наблюдалась умеренная интенсивность экспрессии. Уровень экспрессии ММП-9 коррелировал с уровнем ТИМП-1: слабоположительный при ПИ и ФМД, негативный – при атеросклерозе.

5. Полученные результаты собственных наблюдений, а также анализ специальной литературы дают основания для возможного использования ММП-9, ТИМП-1 в качестве морфологических маркеров определения патологических процессов при каротидной патологии.

Перспективы дальнейших исследований. Определение участия металлопротеиназ в сочетании с нарушением элементов экстрацеллюлярного матрикса в развитии неатеросклеротических заболеваний сонных артерий является предметом дальнейшей научной работы по вопросу раскрытия патогенеза фибромышечной дисплазии и патологической извитости сонных артерий.

Конфликт интересов: отсутствует.

Список литературы

1. Кузык Ю.И. Патологические деформации сонных артерий: этиология, патогенез, клинические и патоморфологические изменения / Ю.И. Кузык // *Ангиология и сосудистая хирургия*. – 2014. – №3(20). – С. 123–127.
2. Кузык Ю.И. Фибром'язова дисплазія внутрішніх сонних артерій / Ю.И. Кузык // *Патологія*. – 2015. – №1(33). – С. 35–38.
3. Структура стенки внутренней сонной артерии при патологической извитости / Е.М. Пальцева, С.А. Осколкова, В.О. Полякова и др. // *Архив патологии*. – 2015. – Т. 77. – №5. – С. 3–8.
4. Влияние индуцированного воспаления на метаболизм коллагена в атеросклеротических бляшках у мышей / Е.В. Шляхто, Н.А. Гавришева, О.А. Овчинникова, Г.К. Ханссон // *Медицинская иммунология*. – 2008. – Т. 10. – №6. – С. 507–512.
5. Anomalies of the extracranial internal carotid artery: anatomoclinical and histologic study / G. La Barbera, G. La Marca, F. Cappello et al. // *International Angiology*. – 2006. – №28. – P. 573–580.
6. Association of Circulating Matrix Metalloproteinases With Carotid Artery Characteristics The Atherosclerosis Risk in Communities Carotid MRI Study / J.W. Gaubatz, C.M. Ballantyne, B.A. Wasserman et al. // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2010. – Vol. 30. – P. 1034–1042.
7. Associations of matrix metalloproteinase-9 and monocyte chemoattractant protein-1 concentration with carotid atherosclerosis, based on measurements of plaque and intima-media thickness / C. Tan, Y. Liu, W. Li et al. // *Atherosclerosis*. – 2014. – Vol. 232. – P. 199–203.
8. Chelladurai P. Matrix metalloproteinase and their inhibitors in pulmonary hypertension / P. Chelladurai, W. Seeger, S.S. Pullamsetti // *Eur. Resp. J.* – 2012. – Vol. 40. – P. 766–782.
9. Galis Z.S. Matrix Metalloproteinases in Vascular Remodeling and Atherogenesis The Good, the Bad, and the Ugly / Z.S. Galis, J.J. Khatri // *Circ Res*. – 2002. – Vol. 90. – P. 251–262.
10. Coen M. Myofibroblast-mediated adventitial remodeling: an underestimated player in arterial pathology / M. Coen, G. Gabbiani, M.L. Bochaton-Pierrat // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2011. – Vol. 31. – P. 2391–96.
11. Cowan K.N. Elastase and matrix metalloproteinase inhibitors induce regression, and tenascin-C antisense prevents progression, of vascular disease / K.N. Cowan, P.L. Jones, M. Rabinovitch // *J Clin Invest*. – 2000. – Vol. 105. – P. 21–34.
12. Dabbs D.J. Diagnostic Immunohistochemistry / D.J. Dabbs. – 3rd ed. – N.Y. : Ch. Livingstone, 2010. – 941 p.
13. Increased Matrix Metalloproteinase-9 Activity in Unstable Carotid Plaques. A potential Role in Acute Plaque Disruption / I.M.L. Loftus, A.R. Naylor, S. Goodall et al. // *Stroke*. – 2000. – Vol. 31. – P. 40–47.
14. Matrix Metalloproteinase-9: Many Shades of Function in Cardiovascular Disease / A. Yabluchanskiy, Y. Ma, R.P. Iyer et al. // *Physiology*. – 2013. – Vol. 28. – P. 391–403.
15. Matrix Metalloproteinase (MMP)-3 Activates MMP-9 Mediated Vascular Smooth Muscle Cell Migration and Neointima Formation in Mice / J.L. Johnson, A. Dwivedi, M. Somerville et al. // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2011. – Vol. 31. – P. 35–44.
16. MMP-9 microsatellite polymorphism and susceptibility to carotid arteries atherosclerosis / N. Fiotti, N. Altamura, M. Fiscaro et al. // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2006. – Vol. 26. – P. 1330–1336.
17. Newby A.C. Metalloproteinase expression in monocytes and macrophages and its relationship to atherosclerotic plaque instability / A.C. Newby // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2008. – Vol. 28. – P. 2108–2114.
18. Olin J.W. Recognizing and managing fibromuscular dysplasia / J.W. Olin // *Cleve. Clin. J. Med.* – 2007. – Vol. 74. – P. 273–82.
19. Overexpression of matrix metalloproteinase-9 is correlated with carotid intraplaque hemorrhage in a swine model / X.-B. Jiang, J.-S. Wang, D.-H. Liu et al. // *Neuro Intervent Surg*. – 2012. – Vol. 10. – P. 1–5.
20. Plaque rupture is a determinant of vascular events in carotid artery atherosclerotic disease: involvement of matrix metalloproteinases 2 and 9 / S.H. Heo, C.H. Cho, H.O. Kim et al. // *J Clin Neurol*. – 2011. – Vol. 7. – P. 69–76.
21. Ponticos M. Extracellular matrix synthesis in vascular disease: hypertension and atherosclerosis / M. Ponticos, B. Smith // *J Biomed Res*. – 2014. – Vol. 28(1). – P. 25–39.
22. Quantitation and Localization of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Carotid Endarterectomy Tissues / S. Choudhary, C.L. Higgins, I.Y. Chen et al. // *Arterioscler*

- Thromb Vasc Biol. – 2006. – Vol. 26. – P. 2351–2358.
23. Relationship between matrix metalloproteinase-9 and common carotid artery intima media thickness / M. Abdelnaseer, N. Elfayomi, E.H. Esmail et al. // *Neurol Sci.* – 2016. – Vol. 37. – P. 117–122.
 24. Slovut D.P. Fibromuscular dysplasia / D.P. Slovut, J.F. Olin // *N Engl J Med.* – 2004. – Vol. 350. – P. 1862–1871.
 25. Surgical vs medical treatment for isolated internal carotid artery elongation with coiling or kinking in symptomatic patients: A prospective randomized clinical study / E. Ballotta, G. Thiene, C. Baracchini et al. // *J. Vasc. Surg.* – 2005. – Vol. 42. – P. 838–846.
 26. Van den Steen Ph. Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) / Ph. Van den Steen // *Critical. Reviews in Biochem. and Molec. Biology.* – 2002. – Vol. 37. – №6. – P. 375–536.
 27. Visse R. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry / R. Visse, H. Nagase // *Circulation Res.* – 2003. – №2. – P. 827–839.
- ### References
1. Kuzyk, Yu. I. (2014) Patologicheskie deformacii sonnykh arterij: e'tiologiya, patogenez, klinicheskie i patomorfologicheskie izmeneniya [Pathological deformities of carotid arteries: aetiology, pathogenesis, clinical and pathomorphological alterations]. *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya*, 3(20), 123–127. [in Russian].
 2. Kuzyk, Yu. I. (2015) Fibromiazovaya dysplaziiia vnutrisnichkh sonnykh arterii [Fibromuscular dysplasia of internal carotid arteries]. *Pathologia*, 1(33), 35–38. [in Ukrainian].
 3. Paltseva, E. M., Oskolkova, S. A., Polyakova, V. O., Krylova, Yu. S., Ivanova, A. G., Abramyan, A. V., & Gavrilenko, A. V. (2015) Struktura stenki vnutrennej sonnoj arterii pri patologicheskoy izvitosti [The structure of the internal carotid artery wall in pathological tortuosity]. *Archiv patologii*, 77(5), 3-8. [in Russian]. doi: 10.17116/patol20157753-8.
 4. Shlyakhto, E. V., Gavrisheva, N. A., Ovchinnikova, O. A., & Hansson, G. K. (2008) Vliyaniye induzirovannogo vospaleniya na metabolism kollagena v ateroskleroticheskikh blyashkakh u myshej [Influence of induced inflammation upon collagen metabolism of unstable atherosclerotic plaque in murine model]. *Medicinskaya immunologiya*, 10(6), 507–512. [in Russian].
 5. La Barbera, G., La Marca, G., Cappello, F., & Valentino, F. (2006) Anomalies of the extracranial internal carotid artery: anatomo-clinical and histologic study. *International Angiology*, 28, 573–580. doi: 10.1007/s00276-006-0149-1.
 6. Gaubatz, J. W., Ballantyne, C. M., Wasserman, B. A., He, M., Chambless, L. E., Boerwinkle, E., & Hoogeveen, R. C. (2010) Association of Circulating Matrix Metalloproteinases With Carotid Artery Characteristics The Atherosclerosis Risk in Communities Carotid MRI Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 30, 1034–1042. doi: 10.1161/ATVBAHA.109.195370.
 7. Tan, C., Liu, Y., Li, W., Deng, F., Liu, X., Wang, X., et al. (2014) Associations of matrix metalloproteinase-9 and monocyte chemoattractant protein-1 concentration with carotid atherosclerosis, based on measurements of plaque and intima-media thickness. *Atherosclerosis*, 232, 199–203. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.11.040.
 8. Chelladurai, P., Seeger, W., & Pullamsetti, S. S. (2012) Matrix metalloproteinase and their inhibitors in pulmonary hypertension. *Eur. Resp J.*, 40, 766–782. doi: 10.1183/09031936.00209911.
 9. Galis, Z. S., & Khatri, J. J. (2002) Matrix Metalloproteinases in Vascular Remodeling and Atherogenesis The Good, the Bad, and the Ugly. *Circ. Res.*, 90, 251–262. doi: 10.1161/hh0302.105345.
 10. Coen, M., Gabbiani, G., & Bochaton-Piallat, M. L. (2011) Myofibroblast-mediated adventitial remodeling: an underestimated player in arterial pathology. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 31, 2391–96. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.231548.
 11. Cowan, K. N., Jones, P. L., & Rabinovitch, M. (2000) Elastase and matrix metalloproteinase inhibitors induce regression, and tenascin-C antisense prevents progression, of vascular disease. *J. Clin. Invest.*, 105, 21–34. doi.org/10.1172/JCI6539.
 12. Dabbs, D. J. (2010) *Diagnostic Immunohistochemistry*. New York: Ch. Livingstone.
 13. Loftus, I. M. L., Naylor, A. R., Goodall, S., Crowther, M., Jones, L., Bell, P. R. F., & Thompson, M. M. (2000) Increased Matrix Metalloproteinase-9 Activity in Unstable Carotid Plaques. A potential Role in Acute Plaque Disruption. *Stroke*, 31, 40–47. doi: 10.1161/01.STR.31.1.40.
 14. Yabluchanskiy, A., Ma, Y., Iyer, R. P., Hall, M. E., & Lindsey, M. L. (2013) Matrix Metalloproteinase-9: Many Shades of Function in Cardiovascular Disease. *PHYSIOLOGY*, 28, 391–403. doi:10.1152/physiol.00029.2013.
 15. Johnson, J. L., Dwivedi, A., Somerville, M., George, S. J., & Newby, A. C. (2011) Matrix Metalloproteinase (MMP)-3 Activates MMP-9 Mediated Vascular Smooth Muscle Cell Migration and Neointima Formation in Mice *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 31, 35–44. doi: 10.1161/ATVBAHA.111.225623.
 16. Fiotti, N., Altamura, N., Fiscaro, M., Carraro, N., Uxa, L., Grassi, G., et al. (2006) MMP-9 microsatellite polymorphism and susceptibility to carotid arteries atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 26, 1330–1336. doi: 10.1161/01.ATV.0000219233.31702.c9.
 17. Newby, A. C. (2008) Metalloproteinase expression in monocytes and macrophages and its relationship to atherosclerotic plaque instability. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.*, 28, 2108–2114. doi: 10.1161/ATVBAHA.108.173898.
 18. Olin, J. W. (2007) Reconciling and managing fibromuscular dysplasia. *Cleveland Clinical Journal of Medicine*, 74, 273–82. doi: 10.1016/j.jvs.2010.10.066.
 19. Jiang, X.-B., Wang, J.-S., Liu, D.-H., Yuan, W.-S., & Shi, Z.-S. (2012) Overexpression of matrix metalloproteinase-9 is correlated with carotid intraplaque hemorrhage in a swine model. *Neuro Intervent. Surg.*, 10, 1–5. doi:10.1136/neurintsurg-2012-010401.
 20. Heo, S. H., Cho, C. H., Kim, H. O., & Orland, R. T. (2011) Plaque rupture is a determinant of vascular events in carotid artery atherosclerotic disease: involvement of matrix metalloproteinases 2 and 9. *J. Clin. Neurol.*, 7, 69–76. doi: 10.3988/jcn.2011.7.2.69.
 21. Ponticos, M., & Smith, B. (2014) Extracellular matrix synthesis in vascular disease: hypertension and atherosclerosis. *J. Biomed. Res.*, 28(1), 25–39. doi: 10.7555/jbr.27.20130064.
 22. Choudhary, S., Higgins, C. L., Chen, I. Y., Reardon, M., Lawrie, G., Vick, III G. W., et al. (2006) Quantitation and Localization of Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in Human Carotid Endarterectomy Tissues. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 26, 2351–2358. doi: 10.1161/01.ATV.0000239461.87113.0b.
 23. Abdelnaseer, M., Elfayomi, N., Esmail, E. H., Kamal, M. M., Hamdy, A., Samie, R. M. A., & Elsayy, E. (2016) Relationship between matrix metalloproteinase-9 and common carotid artery intima media thickness. *Neurol. Sci.*, 37, 117–122. doi: 10.1007/s10072-015-2358-z.
 24. Slovut, D. P., & Olin, J. F. (2004) Fibromuscular dysplasia. *New England Journal of Medicine*, 350, 1862–1871. doi: 10.1056/NEJMra032393.
 25. Ballotta, E., Thiene, G., Baracchini, C., Ermani, M., Militello, C., Da Giau, G., et al. (2005) Surgical vs medical treatment for isolated internal carotid artery elongation with coiling or kinking in symptomatic patients: A prospective randomized clinical study. *Journal of Vascular Surgery*, (42), 838–846. doi: http://dx.doi.org/10.1016/j.jvs.2005.07.034.

-
26. Van den Steen, Ph. (2002) Biochemistry and molecular biology of gelatinase B or matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). *Critical. Reviews in Biochem. and Molec. Biology.*, 37(6), 375–536. doi: 10.1080/10409230290771546.
27. Visse, R., & Nagase, H. (2003) Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circulation Res.*, 2, 827–839. doi: 10.1161/01.RES.0000070112.80711.3D.
-

Сведения об авторе:

Кузык Ю. И., канд. мед. наук, доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, E-mail: juliakuzyk@mail.ru.

Відомості про автора:

Кузык Ю. І., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної анатомії та судової медицини, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, E-mail: juliakuzyk@mail.ru.

Information about author:

Kuzyk Yu. I., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Danylo Halytsky Lviv National Medical University, E-mail: juliakuzyk@mail.ru.

Надійшла в редакцію 01.04.2016 р.