

Активность матриксных металлопротеиназ у больных с аневризмой восходящего отдела аорты различной этиологии

О.Б. Иртыуга¹, И.В. Воронкина², Л.В. Смагина², В.Е. Успенский¹, Н.В. Цой¹,
М.Л. Гордеев¹, О.М. Моисеева¹

¹ Федеральное государственное учреждение «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития России, Санкт-Петербург, Россия

² Институт Цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Иртыуга О.Б. — старший научный сотрудник НИЛ кардиомиопатий, Федеральное государственное учреждение «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития России (ФГУ ФЦСКЭ им В.А. Алмазова), кандидат медицинских наук; Воронкина И.В. — старший научный сотрудник отдела клеточных культур Института цитологии Российской академии наук (РАН), кандидат биологических наук; Смагина Л.В. — младший научный сотрудник отдела клеточных культур Института цитологии РАН; Успенский В.Е. — младший научный сотрудник НИЛ пороков и ишемической болезни сердца ФГУ ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова; Цой Н.В. — младший научный сотрудник НИЛ кардиомиопатий ФГУ ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова; Гордеев М.Л. — заведующий НИО хирургии сердца и сосудов ФГУ ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова, доктор медицинских наук; Моисеева О.М. — заведующая НИО некоронарогенных заболеваний ФГУ ФЦСКЭ им. В.А. Алмазова, доктор медицинских наук.

Контактная информация: ФГУ «Федеральный Центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова» Минздравсоцразвития России, ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, Россия, 197341. Email: olgir@yandex.ru (Иртыуга Ольга Борисовна).

Резюме

Цель исследования — оценить влияние матриксных металлопротеиназ (ММП), качественного и количественного состава экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) на структурные изменения аорты у больных с аневризмой восходящего отдела различной этиологии. **Материалы и методы.** В исследование включено 32 пациента: 26 больных с аневризмой восходящего отдела аорты и 6 пациентов с ишемической болезнью сердца без патологии аорты. В интраоперационных биоптатах оценивалось содержание и активность ММП-2, -9, а также содержание фибриллина, эластина и коллагена. **Результаты и заключение.** Развитие аневризмы восходящего отдела аорты связано с повышением активности ММП. Максимальные значения ММП-2, -9 выявлены у больных с бicuspidальным аортальным клапаном по сравнению с пациентами с патологией трикуспидального аортального клапана и атеросклеротическим поражением аорты. Повышение активности ММП сопряжено с увеличением соотношения коллаген/эластин в тканях аорты.

Ключевые слова: аневризма восходящего отдела аорты, матриксные металлопротеиназы, белки экстрацеллюлярного матрикса.

Matrix metalloproteinase activity in patients with ascending aortic aneurysm of different etiology

О.В. Irtyuga¹, I.V. Voronkina², L.V. Smagina², V.E. Uspensky¹, N.V. Tsoy¹,
M.L. Gordeev¹, O.M. Moiseeva¹

¹ Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre, St Petersburg, Russia

² Research Institute of Experimental Medicine, St Petersburg, Russia

Corresponding author: Almazov Federal Heart, Blood and Endocrinology Centre, 2 Akkuratov st., St Petersburg, Russia 197341. Email: olgir@yandex.ru (Olga B. Irtyuga, MD, PhD, Senior Researcher).

Abstract

Objective. To study the impact of matrix metalloproteinases (MMP) and extracellular matrix proteins on the ascending aorta structural changes in patients with ascending aortic aneurysms of different etiology. **Design and methods.** 32 patients were included: 26 patients with ascending aortic aneurysm and 6 controls. Both the content and activity of MMP-2, -9 were estimated in the intraoperative biopsies together with the amount of fibrillin, elastin and collagen. **Results and conclusion.** The development of ascending aortic aneurysm is associated with increased MMP activity. The ascending aortic dilatation in bicuspid aortic valve is associated with increased MMP-2, -9 and collagen/elastin ratio in aortic tissue.

Key words: ascending aortic aneurysms, matrix metalloproteinases, proteins of extracellular matrix.

Статья поступила в редакцию: 07.10.10. и принята к печати: 20.11.10.

Введение

Среди наиболее распространенных причин смерти у пациентов всех возрастных групп аневризма аорты занимает 18-е место, что по частоте летальных исходов превосходит смертность среди пациентов со СПИДом [1]. В частности, в США количество выданных свидетельств о смерти по причине заболеваний аорты и ее ветвей варьирует от 43000 до 47000 случаев в год [2]. По мнению экспертов, даже 30000 смертей в год говорит о социальной значимости проблемы и требует ее оперативного решения [3].

Среди основных этиологических факторов развития аневризм грудного отдела аорты следует назвать атеросклероз, артериальную гипертензию (АГ), наследственные нарушения соединительной ткани и, в первую очередь, синдром Марфана, при котором дилатация грудного отдела аорты диагностируется у 60–80 % пациентов [4]. Кроме вышеперечисленных заболеваний, у 45 % пациентов с врожденным двустворчатым аортальным клапаном через 9 лет после верификации порока диагностируется дилатация синуса и/или восходящей части аорты [4–5]. К более редким причинам развития аневризмы восходящего отдела аорты относятся коарктация аорты, синдром Тернера (которые нередко сочетаются с двустворчатым аортальным клапаном), идиопатический медионекроз и такие воспалительные заболевания, как неспецифический аортоартериит, гигантоклеточный артрит, сифилитический мезоартрит [6–9].

Патогенетические механизмы, лежащие в основе развития аневризмы грудного отдела аорты, до сих пор остаются не достаточно изученными. Существует ряд гипотез формирования аневризмы аорты, одна из которых связана с повышением активности тканевых протеаз. Хорошо известно, что матриксные металлопротеиназы (ММП) принимают активное участие в процессах ремоделирования внеклеточного матрикса за счет деградации коллагена, эластина, фибронектина и глюкозаминогликанов [7, 10–13]. Однако открытым остается вопрос, существует ли связь между структурными изменениями восходящего отдела аорты, активностью ММП, составом белков экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ) и этиологией заболевания.

Материалы и методы

В исследование включено 32 пациента. В основную группу вошли 26 больных, преимущественно мужчины (65 %), с аневризмой аорты различной этиологии. Средний возраст основной группы составил $54,7 \pm 2,2$ года. В контрольную группу отобраны 6 пациентов ишемической болезнью сердца (из них 66 % мужчин) без расширения восходящего отдела аорты, которым было выполнено коронарное шунтирование. Средний возраст пациентов контрольной группы составил $56,5 \pm 3,5$ года. Пациенты контрольной группы не имели клапанной патологии, признаков соединительнотканной дисплазии и АГ в анамнезе. Исследуемые группы были сопоставимы по полу и возрасту. Пациенты с инфекционным эндокардитом и ревматической болезнью сердца в исследование не включались. Этиология поражения аорты

и аортального клапана была верифицирована в процессе интраоперационного гистологического исследования. В зависимости от этиологии поражения аорты пациенты были разделены на 3 подгруппы: в первую подгруппу вошли пациенты с атеросклерозом, во вторую — пациенты с врожденным пороком сердца — двустворчатым аортальным клапаном (БАК) и в третью — пациенты с трехстворчатым клапаном (ТАК).

В качестве объекта исследования у пациентов основной группы была использована стенка аневризматически расширенной восходящей аорты. У больных контрольной группы в качестве объектов исследования использовались участки стенки восходящей аорты, забранные на этапе формирования проксимальных анастомозов шунтов с аортой. Биопсийный материал у больных основной и контрольной групп забирался интраоперационно и помещался в жидкий азот до проведения исследования. Перед началом исследования фрагменты аорты размером $0,5 \times 1,0$ см гомогенизировали в 400 мкл трис-буфера. После центрифугирования гомогенизированного образца содержание белка в супернатанте оценивали по методу Брэдфорда для стандартизации проб [14]. Активность ММП, расщепляющих желатин, определяли методом зимографии [15]. Активность ММП-2 и -9 выражали в условных единицах (усл. ед.). Содержание ММП-2 и -9, а также белков ЭЦМ (коллаген I типа, фибриллин и эластин) в биоптатах аорты определяли методом вестерн блоттинга. Подготовка проб осуществлялась по методу Лэммли [15]. В качестве первых антител использовали моноклональные антитела к фибриллину (Chemicon, USA, MAB 2503), моноклональные антитела к эластину (Chemicon, USA, MAB 2503), поликлональные антитела к коллагену I типа (Chemicon, USA, AB745), моноклональные антитела к ММП-2 (Chemicon, USA, MAB13407) и моноклональные антитела к ММП-9 (Chemicon, USA, MAB13416), в качестве вторых — антитела, меченные щелочной пероксидазой (Chemicon, USA, AP160A). Содержание определяемых белков выражали в условных единицах, принятых в программе QuantiScan (произведение количества окрашенных пикселей на интенсивность окраски).

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программ Statistica for Windows ver. 6.0. Результаты представлены в виде среднего арифметического значения (M), средней арифметической ошибки (m) и количества признаков в группе. Достоверность различий показателей в группах оценивалась с помощью непараметрических критериев Вилкоксона и Манна-Уитни для независимых групп. Различия считались достоверными при значениях $p < 0,05$. Для оценки корреляций между признаками применялся однофакторный корреляционный анализ Спирмена. Степень корреляции рассматривалась как «выраженная» при значении $r > 0,66$, «умеренная» — при r от 0,33 до 0,66 и «незначительная» — при $r < 0,33$.

Результаты

Клиническая характеристика пациентов основной группы, в зависимости от этиологии, представлена в

Таблица 1

КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭТИОЛОГИИ ПОРАЖЕНИЯ АОРТЫ

	Подгруппа 1 М ± m	Подгруппа 2 М ± m	Подгруппа 3 М ± m
N (%)	8 (30,7)	12 (46)	6 (23,3)
Средний возраст, лет	57,1 ± 6,7	56,5 ± 5,9	46 ± 21,5
АГ, n (%)	7 (87)	7 (58)	3 (50)
Максимальные цифры САД, мм рт. ст.	190 ± 11*	145 ± 5	150 ± 15
Максимальные цифры ДАД, мм рт. ст.	107 ± 89**	85 ± 3	80 ± 5
Фиброзное кольцо, мм	28,3 ± 0,5	25,4 ± 1,3	28,5 ± 1,0
На уровне синусов Вальсальвы, мм	54,6 ± 4,2***	43,4 ± 2,8	46,1 ± 4,2
Синотубулярное соединение, мм	64,4 ± 5,3	55,7 ± 2,6	59,1 ± 5,8
АР, отсутствует	2 (25 %)	3 (25 %)	0
АР, 1 степени	1 (12,5 %)	1 (8,3 %)	0
АР, 2 степени	0	4 (33,3 %)	1 (16,6 %)
АР, 3 степени	5 (62,5 %)	4 (33,3 %)	5 (83,3 %)
Максимальный градиент на АК, мм рт. ст.	13,5 ± 2,6	20,3 ± 6,1	10 ± 1,5

Примечание: АГ — артериальная гипертензия; АР — аортальная регургитация; САД — систолическое артериальное давление; ДАД — диастолическое артериальное давление; АК — аортальный клапан; * — $p < 0,01$ в сравнении с подгруппой больных с бicuspidальным аортальным клапаном (БАК) и по отношению к пациентам с трикуспидальным аортальным клапаном; ** — $p < 0,05$ по сравнению с подгруппой 2 и подгруппой 3; *** — $p = 0,03$ в сравнении с пациентами с БАК.

таблице 1. Среди включенных в исследование пациентов 46 % имели БАК, у 30,7 % по результатам гистологического исследования как причина аневризмы восходящего отдела аорты диагностирован атеросклероз. Оставшиеся 23,3 % составили пациенты с ТАК, у которых при гистологическом исследовании аорты выявлен кистозный медионекроз. У двух пациентов (33 %) данной подгруппы диагностирована мезенхимальная дисплазия. Средний возраст в подгруппах не различался.

У 65 % больных с аневризмами восходящего отдела аорты в анамнезе присутствовала АГ, что указывает на роль гемодинамического фактора в патогенезе данного заболевания. Следует отметить, что максимальные цифры как систолического, так и диастолического артериального давления (САД и ДАД соответственно) отмечались в подгруппе пациентов с атеросклерозом: 190 ± 11 и 107 ± 9 мм рт. ст. соответственно. В этой подгруппе выявлена выраженная положительная корреляция между САД и диаметром синотубулярного соединения ($r = 0,71$, $p = 0,04$).

Все пациенты с аневризмой восходящего отдела аорты получали терапию бета-адреноблокаторами. Больные с атеросклеротическим поражением аорты дополнительно получали терапию статинами и ингибиторами ангиотензин-превращающего фермента (АПФ) или антагонистами рецепторов к ангиотензину II (АРА). В терапии больных контрольной группы также присутствовали бета-адреноблокаторы и статины.

Практически у всех обследованных чаще встречалось расширение синотубулярного соединения. Однако значимая дилатация на уровне синусов Вальсальвы выявлена только у больных с атеросклеротическим поражением аорты ($p = 0,03$). Наряду с этим, у пациентов с атеросклеротическим поражением аорты и ТАК регистрировалась тяжелая аортальная регургитация, в то время как у больных с БАК она присутствовала только у трети пациентов.

Рисунок 1. Сравнение содержания металлопротеиназ 2 типа в стенке аорты пациентов в основной и контрольной группах

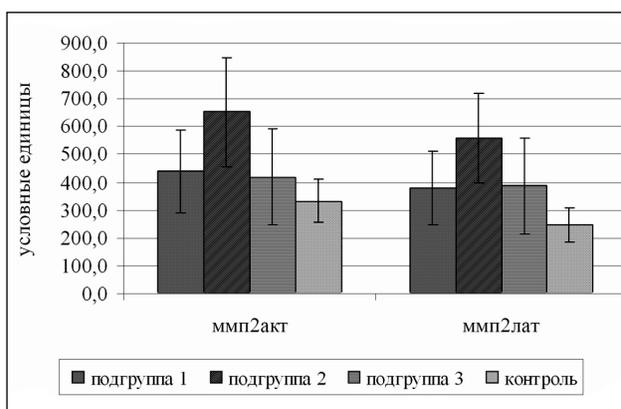
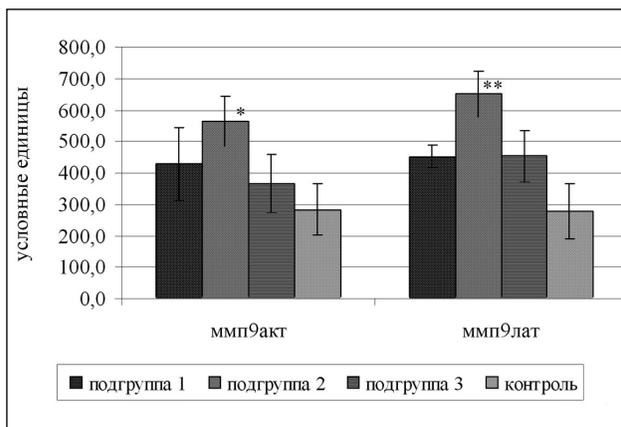


Рисунок 2. Содержание металлопротеиназ 9 типа в стенке аорты пациентов с атеросклерозом, бicuspidальным и трикуспидальным аортальным клапаном и пациентов контрольной группы

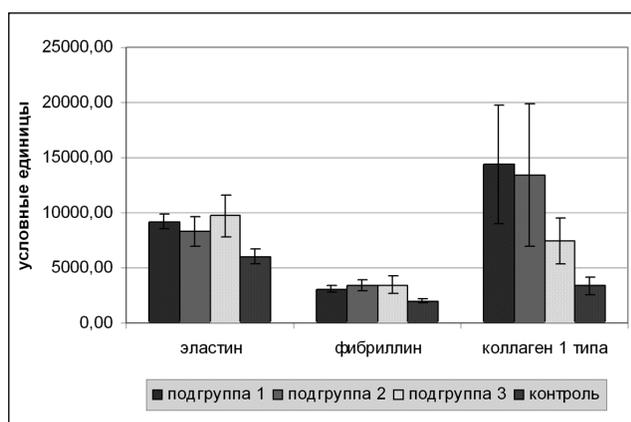


Примечание: * — $p = 0,04$; ** — $p = 0,01$ в сравнении с контрольной группой.

По результатам анализа содержания ММП-2, -9 выявлена тенденция к повышению уровня латентной и активной форм ММП-9 у больных с аневризмой восходящего отдела по сравнению с контрольной группой (рис. 1, 2). Сравнительный анализ латентных и активных ММП-2 и -9 в исследуемых подгруппах продемонстрировал наибольшее повышение данных показателей в подгруппе с БАК (ММП-9 активная $563,9 \pm 79,9$ усл. ед. при БАК и $283,4 \pm 82,0$ усл. ед. в контрольной группе, $p = 0,04$; ММП-9 латентная $650,7 \pm 74,5$ и $277,9 \pm 87,0$ усл. ед. соответственно, $p = 0,01$). У больных с ТАК и атеросклерозом различий в содержании и активности ММП выявлено не было (рис. 2).

По данным исследования биопсийного материала аорты подгруппы не различались по содержанию фибриллина (рис. 3). Выявлено увеличение соотношения коллаген/эластина в сторону увеличения содержания коллагена у больных с атеросклерозом и БАК (1:1,5).

Рисунок 3. Содержание фибриллина, эластина и коллагена тип I в тканях аорты при различных нозологических формах



Обсуждение

Частота выявления аневризмы грудного отдела аорты в среднем составляет 5,9 случаев на 100000 человек в год [1]. Существует мнение, что количество пациентов с патологией аорты будет расти по мере увеличения продолжительности жизни населения планеты [3]. Большинство исследований, посвященных изучению молекулярных механизмов патогенеза аневризмы аорты, в основном базируются на анализе материала, выделенного после ее диссекции. Однако характер изменений, происходящих в стенке аорты до ее диссекции, до сих пор остается до конца не изученным.

Диссекция аорты связана с дегенеративными изменениями в средней оболочке сосуда, при которых уменьшается количество гладкомышечных клеток (ГМК), фрагментация эластических волокон и аккумуляция мукополисахаридов [22]. Фрагментация эластических волокон — одна из наиболее важных причин диссекции аорты. Этот процесс ассоциирован с локальным увеличением продукции протеолитических ферментов, включая сериновые, цистеиновые протеазы и ММП. Источниками ММП могут быть клетки различного происхождения, в том числе ГМК, фибробласты, лимфоциты, макрофаги и тучные клетки [17]. Продукция ММП контролируется

многочисленными факторами, включая оксидативный стресс, гипоксемию, вазоактивные пептиды (ангиотензин II, эндотелин), факторы роста, провоспалительные цитокины, а также качественный и количественный состав белков ЭЦМ. Активация ММП жестко регулируется эндогенными ингибиторами ММП и другими протеиназами [18].

В настоящем исследовании, наряду с гистологическими признаками дегенерации коллагена и эластина в стенке аорты при аневризматическом ее расширении, выявлено повышение активности ММП. При этом максимальных значений эти показатели достигали в подгруппе больных с БАК, что согласуется с ранее опубликованными работами [10, 16]. Анализ полученных нами данных не подтвердил наличие связи активности ММП-2, -9 с размерами аневризмы аорты, а также с возрастом обследованных больных, что соответствует докладам других исследователей [6, 16]. Ранее показано, что у пациентов с синдромом Марфана увеличение экспрессии ММП и, в первую очередь ММП-2 и -9 происходит главным образом в ГМК на участках дегенерации сосудистой стенки [10]. В то же время у пациентов с атеросклеротически обусловленной диссекцией аорты увеличение экспрессии ММП-9 выявлено преимущественно в макрофагах на местах разрыва интимы [20]. Эти данные позволяют предположить наличие внутреннего дефекта ГМК и у больных с БАК. Об этом свидетельствует и работа F.X. Schmid et al. (2003), в которой показано резкое увеличение числа ГМК аорты, находящихся в апоптозе, у больных с БАК по сравнению с тканями трикуспидальной аорты. Кроме того, дилатации восходящей аорты у больных с БАК также способствует локальная активация клеток воспаления в ответ на апоптоз ГМК с повышенной продукцией эндогенных протеаз, приводящей к дегенерации белков ЭЦМ [19]. В отличие от больных с БАК, апоптоз ГМК при атеросклеротическом поражении аорты связан прежде всего с микроциркуляторными нарушениями в стенке сосуда [22].

Развитие аневризмы восходящего отдела аорты во многом определяется состоянием ЭЦМ сосудистой стенки, качественный и количественный состав которого зависит от соотношения процессов синтеза и дегенерации основных компонентов. Поддержание баланса в ЭЦМ имеет большое значение для сохранения постоянства структуры и функции сосудистой стенки. ЭЦМ не только обеспечивает механическую поддержку ГМК сосудов, но также участвует в регуляции их функциональной активности. Количественная и качественная модификация белков соединительной ткани может приводить к фенотипической трансформации ГМК в сосудистой стенке с формированием их секреторного фенотипа. Подобные изменения, столь характерные для больных с АГ и атеросклерозом, лежат в основе процессов миграции и пролиферации ГМК сосудов, а также связаны с дальнейшим ростом соединительной ткани [21]. Снижение содержания эластина, свойственное больным с врожденной патологией соединительной ткани, также может приводить к пролиферации ГМК, увеличению накопления коллагена и повышению жесткости сосу-

дистой стенки, делая аорту уязвимой для диссекции. Дальнейшая деградация белков ЭЦМ под влиянием эндогенных протеаз может приводить к апоптозу ГМК аорты и способствовать ее разрыву [22].

В настоящее время бета-адреноблокаторы используются как препараты первой линии для лечения больных с аневризмой аорты [6]. В рандомизированных клинических исследованиях, причем в одном из них в процессе 10-летнего наблюдения, подтверждена способность этого класса лекарственных препаратов замедлять дилатацию аорты, особенно у пациентов с синдромом Марфана. Ответ на вопрос о возможности применения комбинированной терапии бета-адреноблокаторами и АРА у пациентов с синдромом Марфана с целью профилактики аневризматического расширения аорты будет дан в ходе продолжающегося клинического исследования. Однако ранее на экспериментальных моделях животных с синдромом Марфана было продемонстрировано снижение темпов дилатации аорты на фоне терапии АРА [24]. В экспериментальных исследованиях также показано, что назначение статинов активно предотвращало развитие аневризмы атеросклеротического генеза. Однако клинических подтверждений, обосновывающих их использование для профилактики дальнейшей дилатации аорты, в настоящее время нет.

Окончательные причины формирования аневризмы у пациентов с БАК до сих пор не изучены. Имеются данные, говорящие об уменьшении экспрессии гена металлотинина в тканях аорты пациентов с врожденным пороком сердца [16]. Предполагают, что дефицит металлотинина может приводить к нарушению метаболизма ЭЦМ и способствовать дегенерации сосудистой стенки в условиях гемодинамической нагрузки. Наряду с этим, существует гипотеза генетически детерминированных изменений в стенке аорты, возникающих в процессе эмбриогенеза выходного тракта левого желудочка и влияющих на функциональное состояние ГМК аорты [23].

Подводя итог выполненному исследованию, следует отметить, что развитие аневризмы восходящего отдела аорты ассоциировано с повышением активности ММП. Максимальные значения ММП-2 и -9 зарегистрированы у больных с БАК. Однако наибольшая дилатация восходящей аорты выявлена у больных с атеросклеротическим поражением, что требует дальнейшей оценки при обследовании большего числа больных. Увеличение активности ММП сопряжено с изменением количественного и качественного состава белков экстрацеллюлярного матрикса, что наглядно продемонстрировано на примере больных с БАК и атеросклеротическим поражением аорты.

Литература

1. Minino A.M., Heron M.P., Murphy S.L. et al. Centers for disease control and prevention national center for Health Statistics National Vital Statistics System. Deaths: final data for 2004 // *Natl. Vital. Stat. Rep.* — 2007. — Vol. 55, № 1. — P. 1–119.
2. Svensson L.G., Rodriguez E.R. Aortic organ disease epidemic, and why do balloons pop? // *Circulation.* — 2005. — Vol. 112, № 8. — P. 1082–1084.
3. Elefteriades J.A., Farkas E.A. Thoracic aortic aneurysm clinically pertinent controversies and uncertainties // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2010. — Vol. 55, № 9. — P. 841–857.
4. Baumgartner H., Bonhoeffer P., De Groot N.M. et al. ESC Guidelines for the management of grown-up congenital heart disease (new version 2010): the task force on the management of grown-up congenital heart disease of the European Society of Cardiology (ESC) // *Eur. Heart. J.* — 2010 — [Электронный ресурс]. URL: <http://www.escardio.org/guidelines-surveys/esc-guidelines>
5. Bonow R.O., Carabello B.A., Kanu C. et al. ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease // *Circulation.* — 2006. — Vol. 114, № 19. — P. e84–e231.
6. Hiratzka L.F., Bakris G.L., Beckman J.A. et al. Guidelines for the diagnosis and management of patients with thoracic aortic disease // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2010. — Vol. 55, № 14. — P. e27–e129.
7. Ince H., Nienaber C.A. Etiology, pathogenesis and management of thoracic aortic aneurysm // *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* — 2007. — Vol. 4, № 8. — P. 418–427.
8. Ou P., Mousseaux E., Celermajer D.S. et al. Aortic arch shape deformation after coarctation surgery: effect on blood pressure response // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* — 2006. — Vol. 132, № 5. — P. 1105–1111.
9. Nuenninghoff D.M., Hunder G.G., Christianson T.J. et al. Incidence and predictors of large-artery complication (aortic aneurysm, aortic dissection, and/or large-artery stenosis) in patients with giant cell arteritis: a population-based study over 50 years // *Arthritis. Rheum.* — 2003. — Vol. 48, № 12. — P. 3522–3531.
10. Segura A.M., Luna R.E., Horiba K. et al. Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases and their inhibitors in thoracic aortic aneurysms and aortic valves of patients with Marfan's syndrome // *Circulation.* — 1998. — Vol. 98, Suppl. 19. — P. II331–II337.
11. Ikonomidis J.S., Jones J.A., Barbour J.R. et al. Expression of matrix metalloproteinases and endogenous inhibitors within ascending aortic aneurysms of patients with bicuspid or tricuspid aortic valves // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* — 2007. — Vol. 133, № 4. — P. 1028–1036.
12. Kirsch E.W., Radu N.C., Gervais M., Allaire E., Loisanse D.Y. Heterogeneity in the remodeling of aneurysms of the ascending aorta with tricuspid aortic valves // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* — 2006. — Vol. 132, № 8. — P. 1010–1006.
13. Gelse K., Pöschl E., Aigner T. Collagens-structure, function, and biosynthesis // *Adv. Drug. Deliv. Rev.* — 2003. — Vol. 55, № 12. — P. 1531–1546.
14. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // *Anal. Biochem.* — 1976. — Vol. 72, № 7. — P. 248–254.
15. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.* — 1970. — Vol. 227, № 5259. — P. 680–685.
16. Phillippi J.A., Klyachko E.A., Kenny J.P. et al. Basal and oxidative stress induced expression of metallothionein is decreased in ascending aortic aneurysms of bicuspid aortic valve patients // *Circulation.* — 2009. — Vol. 119, № 18. — P. 2498–2506.
17. Raffetto J.D., Khalil R.A. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease // *Biochem. Pharmacol.* — 2008. — Vol. 75, № 2. — P. 346–359.
18. Chow A.K., Cena J., Schulz R. Acute actions and novel targets of matrix metalloproteinases in the heart and vasculature // *Br. J. Pharmacol.* — 2007. — Vol. 152, № 2. — P. 189–205.
19. Schmid F.X., Bielenberg K., Schneider A. et al. Ascending aortic aneurysm associated with bicuspid and tricuspid aortic valve: involvement and clinical relevance of smooth muscle cell apoptosis and expression of cell death-initiating proteins // *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* — 2003. — Vol. 23, № 4. — P. 537–543.
20. Tamura K., Sugisaki Y., Kumazaki T., Tanaka S. Atherosclerosis-related aortic dissection // *Kyobu Geka.* — 2000. — Vol. 53, № 3. — P. 194–201.
21. Berk B.C. Vascular smooth muscle growth: autocrine growth mechanisms // *Physiol. Rev.* — 2001. — Vol. 81, № 3. — P. 999–1030.
22. Dobrin P.B., Mrkvicka R. Failure of elastin or collagen as possible critical connective tissue alterations underlying aneurysmal dilatation // *Cardiovasc. Surg.* — 1994. — Vol. 2, № 4. — P. 484–488.
23. Combs M.D., Yutzey K.E. Heart valve development: regulatory networks in development and disease // *Circ. Res.* — 2009. — Vol. 105, № 5. — P. 408–421.
24. Milewicz D.M., Dietz H.C., Miller D.C. Treatment of aortic disease in patients with Marfan syndrome // *Circulation.* — 2005. — Vol. 111, № 11. — P. e150–e157.