

## Profile ekspresji genów w tętniaku aorty brzusznej i w niedrożności aortalno-biodrowej, oceniane techniką macierzy cDNA Atlas

Gene expression profiles in abdominal aortic aneurysm or aortoiliac occlusive disease assessed by cDNA Atlas arrays

Aleksandra Korcz<sup>1</sup>, Joanna Mikołajczyk-Stecyna<sup>1</sup>, Katarzyna Pawlaczyk<sup>2</sup>, Marcin Gabriel<sup>2</sup>, Grzegorz Oszkinis<sup>2</sup>, Hanna Witucka-Wall<sup>3</sup>, Krzysztof Waliszewski<sup>2</sup>, Ryszard Słomski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut Genetyki Człowieka Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu (Institute of Human Genetics, Polish Academy of Sciences, Poznań, Poland)

<sup>2</sup>Klinika Chirurgii Ogólnej i Naczyń Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu (Poznan University of Medical Sciences, Poznan, Poland)

<sup>3</sup>Institute of Biochemistry and Biology, University of Potsdam, Germany

### Streszczenie

**Wstęp:** Tętniaki oraz miażdżycowe niedokrwienie kończyn dolnych z powodu zmian zlokalizowanych w odcinku aortalno-biodrowym stanowią dwie najczęstsze przyczyny wykonywania procedur naczyniowych w obrębie jamy brzusznej. Nadal nie do końca poznano czynniki genetyczne związane z indywidualnym ryzykiem powstania tych schorzeń. Celem niniejszej pracy była próba porównania tętniaka aorty brzusznej i niedrożności aortalno-biodrowej poprzez analizę profili ekspresji genów metodą macierzy cDNA Atlas.

**Materiał i metody:** Materiał biologiczny stanowiły próbki ściany aorty brzusznej pobrane od 12 chorych z tętniakiem aorty brzusznej, od 8 pacjentów z niedrożnością aortalno-biodrową oraz od 5 dawców narządów. Całkowity RNA izolowano z tkanki aorty i poddawano odwrotnej transkrypcji, a następnie hybridyzowano do macierzy cDNA Atlas.

**Wyniki:** Wyodrębniono grupę 36 genów (20 z zestawu Atlas Cardiovascular Array oraz 16 z zestawu Atlas Stress Array) ulegających znamiennej statystycznie zróżnicowanej ekspresji na poziomie mRNA w badanych schorzeniach.

**Wnioski:** Otrzymane w niniejszych badaniach profile ekspresji genów w tętniaku aorty brzusznej i niedrożności aortalno-biodrowej wskazują na szczególne znaczenie genów warunkujących stan zapalny i przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej w obu schorzeniach.

**Słowa kluczowe:** tętniak aorty brzusznej, niedrożność aortalno-biodrowa, profile ekspresji genów, macierze cDNA Atlas

### Abstract

**Background:** Abdominal aortic aneurysms and aortoiliac occlusive disease are the most frequent reasons for vascular surgery procedures within the abdominal cavity. Genetic factors responsible for individual risk of the development of these diseases are little known. The purpose of the present study was to attempt to compare abdominal aortic aneurysm and aortoiliac occlusive disease using the analysis of gene expression profiles with Atlas cDNA arrays.

**Material and methods:** Specimens of abdominal aorta from 12 patients with AAA, 8 with AIOD and 5 organ donors were used. Total RNA was isolated from aorta tissue and subjected to reverse transcription, then hybridized to Atlas cDNA arrays.

**Results:** We identified 36 genes (20 from the Atlas Cardiovascular Array and 16 from the Atlas Stress Array) which were significantly differentially expressed in AAA and AIOD.

**Conclusions:** The results of gene expression profiling in AAA and AIOD indicate the essential role of the genes responsible for inflammation process and extracellular matrix remodelling in both diseases.

**Key words:** abdominal aortic aneurysm, aortoiliac occlusive disease, gene expression profiles, Atlas cDNA arrays

## Wstęp

Tętniaki aorty brzusznej (AAA, *abdominal aortic aneurysm*) oraz miażdżycowe niedokrwienie kończyn dolnych z powodu zmian zlokalizowanych w odcinku aortalno-biodrowym (AIOD, *aortoiliac occlusive disease* — niedrożność aortalno-biodrowa) stanowią dwie najczęstsze przyczyny wykonywania procedur naczyniowych w obrębie jamy brzusznej. Na podstawie dotychczasowych badań określono częstość występowania powyższych chorób na 4–9% w przypadku tętniaków występujących w populacji osób w wieku powyżej 75 lat [1, 2] oraz na 5% w przypadku zmian miażdżycowych wśród pacjentów powyżej 50. roku życia [3].

W obrazie histologicznym AAA charakteryzują się oznakami przewlekłego zapalenia, destrukcyjną przebudową macierzy zewnątrzkomórkowej, zmniejszeniem liczby komórek mięśni gładkich przy redukcji grubości warstwy środkowej ściany naczynia oraz neowaskularyzacją [4, 5]. Podczas gdy w tętniaku nieprawidłowości ściany dotyczą metabolizmu białek warstwy zewnętrznej i środkowej, to w miażdżycy proces ten obejmuje głównie warstwę wewnętrzną i środkową ściany aorty [2, 6].

Tradycyjnie tętniaki traktowano jako przejaw końcowego etapu zaawansowanej miażdżycy [7], jednak rzeczywiste procesy, które są przyczyną powstania AAA, i ich potencjalny związek z miażdżycą pozostają nadal niejasne. Przyjmuje się dwie odmienne hipotezy:

- miażdżycą jest zjawiskiem biernym towarzyszącym często tętniakowi;
- miażdżycą aktywnie uczestniczy w powstaniu i rozwoju tętniaka [2, 8].

W badaniach przeprowadzonych na modelach zwierzęcych wykazano, że można doprowadzić do miażdżycy bez wywoływania tętniaka oraz doprowadzić do tętniaka aorty brzusznej (za pomocą indukcji chlorkiem wapnia lub iniekcji elastazy) bez wywoływania miażdżycy [9].

W multidyscyplinarnym projekcie badań nad patogenezą tętniaków aorty brzusznej zaproponowano następujące mechanizmy jako najbardziej istotne w powstawaniu zmian: proteolityczną degradację tkanki łącznej ściany aorty, stan zapalny i odpowiedź immunologiczną, stres biomechaniczny oraz czynniki genetyczne [5]. Również miażdżycę uważa się za chorobę wieloczynnikową. Choć od kilkunastu lat prowadzi się intensywne badania, nadal w pełni nie poznano czynników genetycznych związanych z indywidualnym ryzykiem powstania AAA i AIOD.

Chociaż w rozwoju obu chorób uczestniczą podobne czynniki ryzyka (palenie tytoniu, hipercholesterolemia i nadciśnienie tętnicze), to równocześnie populacje nimi dotknięte różnią się między sobą [2]. Odmienności dotyczą między innymi wieku wystąpienia choroby (pacjenci z AAA są o ok. 10 lat starsze od pacjentów z AIOD) oraz obecności schorzeń towarzyszących (u dużej części chorych z AAA występuje również rozedma płuc i nadciśnienie, zaś u osób z AIOD — cukrzyca). Ponadto, podczas gdy niedrożność aortalno-biodrową stwierdza się u obu płci w podobnych proporcjach, to tętniaka aorty brzusz-

## Introduction

Abdominal aortic aneurysms and aortoiliac occlusive disease are the most frequent reasons for vascular surgery procedures within the abdominal cavity. AAA occurs in as much as 4 to 9% of the population aged above 75 years [1, 2] and peripheral occlusive disease occurs in as much as 5% of people aged more than 50 years [3].

Histologically, AAAs are characterized by symptoms of chronic inflammation, destructing remodelling of the extracellular matrix, loss of smooth muscle cells with thinning of the medial wall and neovascularization [4, 5]. Whereas in AAA, abnormalities concern metabolism of the proteins of the external and medial wall of aorta, in atherosclerosis it concerns the process mainly affecting the intima [2, 6].

Traditionally aneurysms were considered as the end-stage of advanced atherosclerosis [7]. However, the actual processes responsible for AAA development and their potential association with atherosclerosis remain unknown. There are two different hypotheses:

- atherosclerosis is a passive condition frequently associated with aneurysm;
- atherosclerosis is an active component in the process of aneurysmal degeneration [for review see: 2, 8].

In animal model studies it was shown, that atherosclerosis may be induced without developing aneurysm and the aneurysm may be generated by induction with a calcium chloride or elastase injection, without associating atherosclerosis [9].

In a multidisciplinary project concerning studies on the pathogenesis of AAA, the following mechanisms were proposed as the most essential for aortic dilatation development: proteolytic degradation of aortic wall connective tissue, inflammation and immune response, biomechanical stress as well as genetic factors [5]. Atherosclerosis is also considered as a multifactorial disease. In spite of intensive studies having been carried out for more than 10 years, the genetic factors promoting individual risk of AAA or AIOD development are little known.

Although similar risk factors (smoking, hypercholesterolemia, and hypertension) contribute to the development of both diseases, populations of affected patients show many differences [2]. For example, patients with AAA are approximately 10 years older than those with AIOD; patients with AAA have a particularly high prevalence of pulmonary emphysema and hypertension whereas patients with AIOD are frequently diabetics. Moreover, whereas the incidence of AIOD is approximately equal between both genders, the abdominal aortic aneurysms occur in a male:female ratio of 5:1.

The purpose of the present study was to attempt to compare AAA and AIOD using the analysis of gene expression profiles with Atlas cDNA arrays (Clontech) in aorta tissue samples in patients with AAA or AIOD and control samples from organ donors without visible atherosclerotic lesions.

nej obserwuje się około 5-krotnie częściej u mężczyzn niż u kobiet.

Celem niniejszej pracy była próba porównania AAA i AIOD poprzez analizę profili ekspresji genów metodą macierzy cDNA na filtrach nylonowych Atlas (CLONTECH) w próbkach tkanki aorty u pacjentów z obu grup chorych oraz w kontrolnych próbkach tkanki aorty brzusznej pobranej od dawców narządów, bez widocznych zmian miażdżycowych.

## Materiał i metody

W celu porównania profili ekspresji genów w przypadku tętniaka aorty brzusznej i niedrożności aortalno-biodrowej zastosowano komercyjne filtry nylonowe Atlas zawierające cDNA dla 588 genów w zestawie Atlas Cardiovascular oraz 234 geny w zestawie Atlas Stress.

### Pacjenci

Pacjentów objętych badaniem operowano w trybie planowym w Klinice Chirurgii Ogólnej i Naczyń Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Wszystkich chorych poddano podstawowemu badaniu klinicznemu oraz obrazowym (DSA [subtrakcyjna angiografia cyfrowa] w przypadku AIOD; angio-KT w przypadku AAA). W celu ujednolicenia grup badawczych z badań wyłączono pacjentów z objawami chorób reumatycznych, zapalnych i nowotworowych oraz osoby z tętniakami zapalnymi lub innymi tętniakami zlokalizowanymi poza aortą brzuszną.

Materiał biologiczny stanowiły próbki ściany aorty brzusznej o pełnym przekroju, pobrane śródoperacyjnie od 12 chorych z AAA (średnia wieku  $68,0 \pm 8,2$  roku; średnia średnica tętniaka  $61,5 \pm 11,2$  mm), od 8 pacjentów z AIOD (średnia wieku  $59,4 \pm 8,2$  roku) oraz od 5 dawców narządów bez widocznych zmian miażdżycowych. Próbkę zamrażano w ciekłym azocie bezpośrednio po pobraniu, a następnie przechowywano w temperaturze  $-80^{\circ}\text{C}$  do czasu analizy.

### Ekstrakcja RNA i hybridyzacja do macierzy cDNA

Fragmety tkanki aorty rozcierano na proszek w ciekłym azocie. Całkowity RNA z tkanek izolowano przy użyciu odczynnika Trizol<sup>TM</sup> (Invitrogen), a następnie oczyszczano z zanieczyszczeń DNA poprzez trawienie deoksyrybonukleazą I na kolumnach zestawu RNeasy Mini Kit firmy Qiagen. Wydajność ekstrakcji oceniano spektrofotometrycznie na spektrofotometrze Nanodrop, a jakość preparatu RNA sprawdzano elektroforetycznie. Do syntezy cDNA stosowano  $2 \mu\text{g}$  całkowitego RNA, który poddawano odwrotnej transkrypcji w obecności radioaktywnego prekursora ( $\alpha^{32}\text{P}$ -dATP) oraz starterów z zestawów analitycznych Atlas cDNA Expression Arrays (CLONTECH-BD-Bioscience). Próbkę RNA od chorych z AAA i AIOD oraz od dawców stanowiły matrycę do syntezy cDNA ze znacznikiem radioaktywnym w odrębnych reakcjach. Hybridyzację otrzymanych sond cDNA prowadzono według protokołu producenta przeznaczonego do filtrów nylonowych (odrębnych dla próby badanej i referencyjnej) zawierających sekwencje odpowiadające od-

## Material and methods

Commercial nylon filters containing cDNA of 588 genes in the Atlas Cardiovascular Array set and 234 genes in the Atlas Stress Array set were used for comparison of gene expression profiles in AAA and AIOD.

### Patients

The patients included in the study were subjected to elective surgery in the Department of General and Vascular Surgery of Poznań University of Medical Sciences. All patients were subjected to basic clinical and imaging examinations (angioCT for AAA patients and DSA for AIOD patients). In order to unify the studied groups, patients suffering with symptoms of rheumatoid, inflammatory and neoplastic diseases were excluded. Patients with an aneurysm beyond the abdominal aorta and those with an inflammatory aneurysm were also excluded. Full-thickness aorta specimens were obtained from: 12 patients with AAA (mean age  $68.0 \pm 8.2$ ; mean aneurysm size  $61.5 \pm 11.2$  mm), 8 patients with AIOD (mean age  $59.4 \pm 8.2$ ) and 5 control samples from organ donors without visible atherosclerotic changes. Tissue specimens were snap-frozen in liquid nitrogen upon harvesting and then stored for analysis in  $-80^{\circ}\text{C}$ .

### RNA extraction and hybridization to cDNA arrays

The aorta tissue specimens were pulverized in liquid nitrogen. The isolation of the total RNA was carried out with Trizol<sup>TM</sup> (Invitrogen), and then the RNA was purified from contaminations with DNA by digestion with DNaseI on the RNeasy Mini Kit from Qiagen. Extraction efficiency was assessed on a Nanodrop spectrophotometer and the quality of the preparation was tested by electrophoresis. For cDNA synthesis  $2 \mu\text{g}$  of total RNA were subjected to reverse transcription in the presence of a radioactive precursor ( $\alpha^{32}\text{P}$ -dATP) and primers from the analytic kits Atlas cDNA Expression Arrays (CLONTECH-BD-Bioscience). RNA samples from patients with AAA, AIOD and organ donors were templates for cDNA synthesis in separate reactions. Hybridization of the obtained cDNA probes (separate for the tested and reference sample) was carried out on the nylon filters containing cDNA sequences for 588 genes (Atlas Cardiovascular Array) or 234 genes (Atlas Stress Array) according to the producer procedure. A radioactivity measurement was carried out by a Typhoon phosphoimager.

### Analysis of cDNA arrays results

The expression levels of the analyzed genes were normalized and estimated by comparison to the expression of several constitutive genes, present on the arrays using software dedicated to Atlas arrays, Atlas Image (CLONTECH). The ratio of the expression level of every gene represented by cDNA localized on the array was estimated by comparison of the signal intensity from the control array with the tested array (AAA sample or AIOD sample). At least a double change (2:1) in the expression level was considered as significant. For statistical

powiednio genom: Atlas Cardiovascular Array (588 genów) lub Atlas Stress Array (234 geny). Odczyt radioaktywności przeprowadzono na skanerze fluorescencji i radioaktywności Typhoon.

### Analiza wyników macierzy cDNA

Poziom ekspresji analizowanych genów normalizowano i oceniano poprzez porównanie z ekspresją kilku genów konstytutywnych, których cDNA znajdują się na filtrach, za pomocą specjalistycznego oprogramowania przeznaczonego do analizy macierzy Atlas — Atlas Image (CLONTECH). Stosunek poziomu ekspresji dla każdego genu reprezentowanego przez cDNA znajdującego się na macierzy określano poprzez porównanie intensywności sygnału na macierzy z grupy kontrolnej z sygnałem na macierzy z grupy badanej (tętniak lub niedrożność aortalno-biodrowa). Porównywano też ze sobą obie grupy badane (AAA z AIOD i odwrotnie). Za istotne uznawano co najmniej 2-krotne (2:1) zmiany ekspresji genu. Wyniki opracowano statystycznie za pomocą testów t. Wartość  $p < 0,05$  uznawano za wynik istotny statystycznie.

### Wyniki

W grupie genów z zestawu Atlas Cardiovascular Array najwyższą ekspresję we wszystkich badanych grupach obserwowano w przypadku genów: TIMP-1 (*tissue inhibitor of metalloproteinase 1*), COL1A1 (*collagen, type I, alpha-1*); PGS2 (*bone proteoglycan II, decorin*) oraz konstytutywnego GAPDH (*liver glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase*). Ponadto w grupie kontrolnej bardzo dużą ekspresją charakteryzował się również gen FLNA (*filamin A alpha*). W przypadku genów z zestawu Atlas Stress Array największą ekspresję stwierdzono w przypadku genów: HSP27 (27-kDa, *heat shock protein*); GLMN (FAP48, 48-kDa *FKBP-associated protein*) oraz genów konstytutywnych GAPDH i RPL13A (*ribosomal protein L13A*).

Na podstawie analizy za pomocą programu Atlas Image oraz analizy statystycznej wyodrębniono grupę 20 genów z zestawu Atlas Cardiovascular Array oraz 16 genów z zestawu Atlas Stress Array, które ulegały znaczniejszej statystycznie zróżnicowanej ekspresji w AAA lub AIOD w porównaniu z grupą kontrolną lub pomiędzy sobą. Wykaz genów, które ulegały zróżnicowanej ekspresji w AAA lub AIOD w porównaniu z grupą kontrolną (lub wzajemnie do siebie) zamieszczono w tabeli I (geny z zestawu Atlas Cardiovascular Array) oraz w tabeli II (geny z zestawu Atlas Stress Array). W tabelach I i II przedstawiono kierunek, zakres oraz wartość  $p$  (prawdopodobieństwo testowe) obserwowanych zmian ekspresji, zaś w tabelach III i IV — znamienne statystycznie zmiany ekspresji genów w odniesieniu do ich funkcji.

Spośród genów z zestawu Atlas Cardiovascular Array 8 ulegało podwyższonej ekspresji w tętniaku w porównaniu z grupą kontrolną: POR, APOD, GNS, SERPINH1, COL1A1, FGB, APOE, MMP-9. W przypadku miażdżycy 5 genów ulegało zwiększonej ekspresji w porównaniu z grupą kontrolną: TIMP1 oraz, tak jak w przy-

analizie t-testy were used. A P-value of  $p < 0.05$  was considered as significant.

### Results

In the Atlas Cardiovascular set of genes, the highest expression in all studied groups was observed for the following genes: TIMP-1 (tissue inhibitor of metalloproteinases 1), COL1A1 (collagen, type I, alpha-1); PGS2 (bone proteoglycan II, decorin) and constitutive GAPDH (liver glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase). Moreover, in the control there was also high expression of FLNA (filamin A alpha). In the Atlas Stress Array set, the highest expression was found for: HSP27 (27-kDa, heat shock protein); GLMN (FAP48, 48-kDa FKBP-associated protein) and constitutive genes GAPDH and RPL13A (ribosomal protein L13A).

Based on the analysis by Atlas Image software and a statistical analysis, we distinguished 20 genes from the Atlas Cardiovascular set and 16 genes from the Atlas Stress set which were significantly differentially expressed in AAA or AIOD when compared to the control or to each other. The lists of genes that were differentially expressed in AAA or AIOD in comparison to the control (or to each other) are presented in Table I (Atlas Cardiovascular genes) and Table II (Atlas Stress genes). In Tables I and II the direction, range and  $p$  value of the observed changes of expression are presented. In Tables III and IV the statistically significant changes of gene expression levels are presented in relation to gene functions.

Among the Atlas Cardiovascular set, 8 genes were up-regulated in AAA in comparison with the control: POR; APOD; GNS; SERPINH1; COL1A1; FGB; APOE; MMP-9. In AIOD 5 genes were up-regulated in comparison with the control: TIMP1 and (as in AAA) COL1A1; FGB; APOE and MMP-9. In AAA 4 genes were down-regulated in comparison with the control: ANXA2; LDLR; PLN; SOD3. In AIOD 4 genes were down-regulated: PLN and SOD3 (as in AAA) and also CCL2 and FLNA. In AAA in comparison with AIOD, 2 genes were up-regulated: ICAM-1 and MMP-9. However, a higher expression in AIOD than in AAA was observed for 6 genes: PLN; SELL; NPR3; ENTPD1; FABP4; FGB. The differentiating genes include genes that encode the extracellular matrix proteins (COL1A1), matrix metalloproteinases (MMP-9), metalloproteinases inhibitors (TIMP-1), carrier proteins (APOD, APOE), cell receptor proteins (LDLR, NPR3), cell adhesion proteins (ICAM-1, SELL).

Among the Atlas Stress set 3 genes were up-regulated in AAA in comparison with the control: HSP90AB1; SOD2; HSP90AA1. In AIOD 3 genes were up-regulated in comparison with the control: FKBP5; NEDD8 and (as in AAA) HSP90AB1. In AAA 6 genes were down-regulated in comparison with the control: HSPA2; CRYAB; DNAJB4; RFC1; SOD3; CYB5R3. In AIOD also 6 genes were down-regulated: MAPKK1; GSR; UBE2A; GSTO1 and also in RFC1 and CYB5R3 (as in AAA). The differentiating genes between AAA and AIOD included: stress response genes (e.g., SOD2, HSP90AA1, HSPA2,

**Tabela I. Geny o znamienne zmienionej ekspresji w tętniaku aorty brzusznej (AAA) lub w miażdżycowej niedrożności aortalno-biodrowej (AIOD) z zestawu Atlas Cardiovascular Array (20 z 588 genów)****Table I. Significantly differentiating genes in AAA or AIOD from Atlas Cardiovascular Array (20 of 588 genes)**

Symbol genu <i>Gene symbol</i>	Nazwa genu <i>Gene name</i>	Gene Bank <i>Access Nr</i>	Kierunek zmian* <i>Direction*</i>	Zakres zmian <i>Range</i>	Test t <i>p value</i>
POR	P450 (cytochrome) oxidoreductase	S90469	AAA > k	≥ 5	0,007
APOD	Apolipoprotein D	J02611	AAA > k	≥ 5	0,015
GNS	Glucosamine (N-acetyl)-6-sulfatase	Z12173	AAA > k	≥ 10	0,021
SERPINH1	Serpin peptidase inhibitor, clade H (47-kDa heat shock protein 47); collagen-binding protein 1	X61598 + D83174	AAA > k	≥ 5	0,005
COL1A1	Collagen, type I, alpha-1	K01228	AAA > k	≥ 10	0,021
			AIOD > k	≥ 5	0,001
APOE	Apolipoprotein E	M12529	AAA > k	≥ 5	0,007
			AIOD > k	≥ 5	0,039
TIMP-1	TIMP metalloproteinase inhibitor, tissue inhibitor of metalloproteinase 1	X03124	AIOD > k	> 2	< 0,001
MMP-9	Matrix metalloproteinase-9	J05070	AAA > k	> 12	0,004
			AIOD > k	> 8	0,004
			AAA > AIOD	> 2	0,004
FGB	Fibrynogen beta chain	J00129	AAA > k	> 2	0,003
			AIOD > k	≥ 5	0,034
			AIOD > AAA	> 2	0,048
ANXA2	Annexin A2	D00017	k > AAA	> 2	0,023
LDLR	Low density lipoprotein receptor, LDL receptor	M28219	k > AAA	≥ 5	0,002
SOD3	Superoxide dismutase 3, extracellular	J02947	k > AAA	≥ 5	0,011
			k > AIOD	≥ 5	0,015
CCL2	CCL2 chemokine (C-C motif) ligand 2, monocyte chemoattractant protein-1	M24545	k > AIOD	≥ 10	0,043
FLNA	Filamin A, alpha (actin-binding protein 280)	X53416	k > AIOD	> 2	0,025
PLN	Phospholamban, cardiac phospholamban	M63603	k > AAA	≥ 10	0,019
			k > AIOD	≥ 10	0,049
			AIOD > AAA	> 2	0,005
ICAM 1	Intercellular adhesion molecule 1 (CD54), human rhinovirus receptor	J03132	AAA > AIOD	> 2	< 0,001
SELL	Selectin L (lymphocyte adhesion molecule 1)	M25280	AIOD > AAA	≥ 5	0,017
NPR3	Natriuretic peptide receptor C/guanylate cyclase C (atrionatriuretic peptide receptor C)	X52282	AIOD > AAA	≥ 5	0,032
ENTPD1	Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1	S73813	AIOD > AAA	> 2	0,032
FABP4	Fatty acid binding protein 4, adipocyte	J02874	AIOD > AAA	> 2	0,020

\* Opis genów/description of the genes:

k > AAA — geny ulegające obniżonej ekspresji w AAA w porównaniu z kontrolą/down-regulating genes in AAA in comparison with control  
k > AIOD — geny ulegające obniżonej ekspresji w AIOD w porównaniu z kontrolą/down-regulating genes in AIOD in comparison with control  
AAA > k — geny ulegające podwyższonej ekspresji w AAA w porównaniu z kontrolą/up-regulating genes in AAA in comparison with control  
AIOD > k — geny ulegające podwyższonej ekspresji w AIOD w porównaniu z kontrolą/up-regulating genes in AIOD in comparison with control  
AAA > AIOD — geny ulegające podwyższonej ekspresji w AAA w porównaniu z AIOD/up-regulating genes in AAA in comparison with AIOD  
AIOD > AAA — geny ulegające podwyższonej ekspresji w AIOD w porównaniu z AAA/up-regulating genes in AIOD in comparison with AAA

padku tętniaka, COL1A1, FGB, APOE i MMP-9. W przypadku tętniaka 4 geny z zestawu Atlas Cardiovascular Array ulegały obniżonej ekspresji w porównaniu z grupą

DNAJB4, HSP90AB1) and genes responsible for DNA synthesis, recombination and repair (e.g., RFC1, GSTO1, UBE2A).



**Tabela II. Geny o znamiennej zmianie ekspresji w AAA lub w AIOD z zestawu Atlas Stress Array (16 z 288 genów)**  
**Table II. Significantly differentiating genes in AAA or AIOD from Atlas Stress Array (16 of 288 genes)**

Symbol genu <i>Gene symbol</i>	Nazwa genu <i>Gene Name</i>	Gene Bank <i>Access Nr</i>	Kierunek zmian* <i>Direction*</i>	Zakres zmian <i>Range</i>	Test t <i>p value</i>
HSP90AB1	Heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class B member 1	M16660	AAA > k	> 2	0,039
			AIOD > k	≥ 5	0,040
			AIOD > AAA	> 2	0,006
SOD2	Superoxide dismutase 2, mitochondrial	X07834; X59445	AAA > k	> 2	0,008
			AAA > AIOD	> 2	0,009
HSP90AA1	Heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class A member 1	X07270	AAA > k	> 2	0,033
			AAA > AIOD	> 2	< 0,001
FKBP5	FK506-binding protein 5	U42031	AIOD > k	> 2	0,039
			AIOD > AAA	> 2	0,001
NEDD8	Neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 8	D23662	AIOD > k	> 2	0,015
			AIOD > AAA	> 2	< 0,001
MAPKK1	Mitogen-activated protein kinase kinase 1, MAP kinase kinase 1	L05624	k > AIOD	> 2	0,022
GSR	Glutathione reductase	X15722	k > AIOD	> 2	0,032
GSTO1	Glutathione-S-transferase	U90313	k > AIOD	> 2	0,039
			AAA > AIOD	> 2	< 0,001
UBE2A	Ubiquitin-conjugating enzyme E2A, RAD6 homolog	M74524	k > AIOD	> 2	0,014
			AAA > AIOD	> 2	0,018
HSPA2	Heat shock 70kDa protein 2	L26336	k > AAA	> 2	0,028
			AIOD > AAA	> 2	< 0,001
CRYAB	Crystalline, alpha B	S45630	k > AAA	≥ 10	0,034
DNAJB4	DNAJ (HSP40) homolog subfamily B, member 4	U40992	k > AAA	> 2	0,005
			AIOD > AAA	> 2	< 0,001
RFC1	Replication factor C large subunit	L14922	k > AAA	≥ 10	< 0,001
			k > AIOD	> 2	< 0,001
			AAA > AIOD	> 2	< 0,001
SOD3	Superoxide dismutase 3, extracellular	J02947	k > AAA	> 2	0,011
			AIOD > AAA	> 2	0,013
CYB5R3	Cytochrome B5 reductase 3	Y09501	k > AAA	> 2	0,030
			k > AIOD	> 2	0,045
HMBS	Hydroxymethylbilane synthase	X04808	AAA > AIOD	> 2	< 0,001

\* Opis genów/description of the genes:

k > AAA — geny ulegające obniżonej ekspresji w AAA w porównaniu z kontrolą/down-regulating genes in AAA in comparison with control  
k > AIOD — geny ulegające obniżonej ekspresji w AIOD w porównaniu z kontrolą/down-regulating genes in AIOD in comparison with control  
AAA > k — geny ulegające podwyższonej ekspresji w AAA w porównaniu z kontrolą/up-regulating genes in AAA in comparison with control  
AIOD > k — geny ulegające podwyższonej ekspresji w AIOD w porównaniu z kontrolą/up-regulating genes in AIOD in comparison with control  
AAA > AIOD — geny ulegające podwyższonej ekspresji w AAA w porównaniu z AIOD/up-regulating genes in AAA in comparison with AIOD  
AIOD > AAA — geny ulegające podwyższonej ekspresji w AIOD w porównaniu z AAA/up-regulating genes in AIOD in comparison with AAA

kontrolną: ANXA2, LDLR, PLN, SOD3. Również w przypadku miażdżycy 4 geny ulegały obniżonej ekspresji: PLN, SOD3, tak jak w tętniaku, oraz CCL2 i FLNA. W AAA, w porównaniu z AIOD, 2 geny z zestawu Atlas Cardiova-

## Discussion

In our studies we identified the group of 36 genes (20 of the Atlas Cardiovascular set and 16 genes of the Atlas

Tabela III. Znamienne statystycznie zmiany profili ekspresji genów z zestawu Atlas Cardiovascular Array w odniesieniu do ich funkcji

Table III. Significant changes of gene expression profiles in relation to gene function (Atlas Cardiovascular Array)

Symbol genu <i>Gene symbol</i>	Nazwa genu <i>Gene Name</i>	Gene Bank <i>Access Nr</i>	Funkcja <i>Function</i>
<b>Geny ulegające podwyższonej ekspresji w tętniaku aorty brzusznej w porównaniu z kontrolą (AAA &gt; k)</b> <i>Genes up-regulated in AAA in comparison with control (AAA &gt; control)</i>			
POR	P450 (cytochrome) oxidoreductase	S90469	Stress response proteins; xenobiotic metabolism
APOD	Apolipoprotein D	J02611	Extracellular transport carrier proteins; extracellular transport
GNS	Glucosamine (N-acetyl)-6-sulfatase	Z12173	Metabolism; complex carbohydrate metabolism
SERPINH1	Serpin peptidase inhibitor, clade H (47-kDa heat shock protein 47); collagen-binding protein 1	X61598 + D83174	Extracellular matrix proteins, post-translational modification-protein folding; chaperones- heat shock proteins; protein turnover; inhibitors of proteases
COL1A1	Collagen, type I, alpha-1	K01228	Extracellular matrix proteins
FGB	Fibrinogen beta chain	J00129	Protein turnover
APOE	Apolipoprotein E	M12529	Extracellular transport carrier proteins; extracellular transport
MMP-9	Matrix metalloproteinase 9	J05070	Metalloproteinases; other immune system proteins
<b>Geny ulegające podwyższonej ekspresji w zespole Leriche'a w porównaniu z kontrolą (A10D &gt; k)</b> <i>Genes up-regulated in A10D in comparison with control (A10D &gt; control)</i>			
TIMP-1	TIMP metalloproteinase inhibitor, tissue inhibitor of metalloproteinase 1	X03124	Extracellular matrix proteins; protein turnover; inhibitors of proteases
COL1A1	Collagen, type I, alpha-1	K01228	Extracellular matrix proteins
FGB	Fibrinogen beta chain	J00129	Protein turnover
APOE	Apolipoprotein E	M12529	Extracellular transport carrier proteins
MMP-9	Matrix metalloproteinase 9	J05070	Metalloproteinases; other immune system proteins
<b>Geny ulegające obniżonej ekspresji w tętniaku aorty brzusznej w porównaniu z kontrolą (k &gt; AAA)</b> <i>Genes down-regulated in AAA in comparison with control (control &gt; AAA)</i>			
ANXA2	Annexin A2	D00017	Cytoskeleton motility proteins; trafficking targeting proteins; exocytosis
LDLR	Low density lipoprotein receptor, LDL receptor	M28219	Cell receptors (by activities); cell receptors (by ligands); trafficking-targeting proteins
PLN	Phospholamban, cardiac phospholamban	M63603	Intracellular transducers-effectors-modulators
SOD3	superoxide dismutase 3, extracellular	J02947	Metabolism; stress response proteins; xenobiotic metabolism
<b>Geny ulegające obniżonej ekspresji w zespole Leriche'a w porównaniu z kontrolą (k &gt; A10D)</b> <i>Genes down-regulated in A10D in comparison with control (control &gt; A10D)</i>			
CCL2	CCL2 chemokine (C-C motif) ligand 2, monocyte chemoattractant protein-1	M24545	Cell signaling; extracellular communication; growth factors, cytokines, chemokines
FLNA	Filamin A, alpha (endothelial actin-binding protein)	X53416	Cytoskeleton — motility proteins
PLN	Phospholamban, cardiac phospholamban	M63603	Intracellular transducers-effectors-modulators
SOD3	Superoxide dismutase 3, extracellular	J02947	Metabolism; stress response proteins; xenobiotic metabolism
<b>Geny ulegające podwyższonej ekspresji w tętniaku aorty brzusznej w porównaniu z zespołem Leriche'a (AAA &gt; A10D)</b> <i>Genes up-regulated in AAA in comparison with A10D (AAA &gt; A10D)</i>			
ICAM 1	Intercellular adhesion molecule 1 (CD54), human rhinovirus receptor	J03132	Cell adhesion receptors — proteins, matrix adhesion receptors
MMP-9	Matrix metalloproteinase 9	J05070	Metalloproteinases; other immune system proteins
<b>Geny ulegające podwyższonej ekspresji w zespole Leriche'a w porównaniu z tętniakiem aorty brzusznej (A10D &gt; AAA)</b> <i>Genes up-regulated in A10D in comparison with AAA (A10D &gt; AAA)</i>			
PLN	Phospholamban, cardiac phospholamban	M63603	Intracellular transducers-effectors-modulators
SELL	Selectin L, lymphocyte adhesion molecule 1	M25280	Cell adhesion receptors-proteins; cell-cell adhesion receptors; cell surface antigens
GCC	Natriuretic peptide receptor C/guanylate cyclase C, atrionatriuretic peptide receptor C	X52282	Cell receptors by ligands; Hormone receptors
ENTPD1	Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1	S73813	Cell surface antigens
FABP4	Fatty acid binding protein 4, adipocyte	J02874	Trafficking-targeting proteins
FGB	Fibrinogen beta chain	J00129	Protein turnover

**Tabela IV. Znamienne statystycznie zmiany profili ekspresji genów z zestawu Atlas Stress Array w odniesieniu do ich funkcji**  
**Table IV. Significant changes of gene expression profiles in relation to gene function (Atlas Stress Array)**

Symbol genu <i>Gene symbol</i>	Nazwa genu <i>Gene Name</i>	Gene Bank <i>Access Nr</i>	Funkcja <i>Function</i>
<b>Geny ulegające podwyższonej ekspresji w tętniaku aorty brzusznej w porównaniu z kontrolą (AAA &gt; k)</b> <i>Genes up-regulated in AAA in comparison with control (AAA &gt; control)</i>			
HSP90AB1	Heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class B member 1	M16660	Post-translational modification-protein folding; stress response proteins
SOD2	Superoxide dismutase 2, mitochondrial	X07834; X59445	Stress response proteins
HSP90AA1	Heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class A member 1	X07270	Stress response proteins
<b>Geny ulegające podwyższonej ekspresji w zespole Leriche'a w porównaniu z kontrolą (AIOD &gt; k)</b> <i>Genes up-regulated in AIOD in comparison with control (AIOD &gt; control)</i>			
HSP90AB1	Heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class B member 1	M16660	Post-translational modification-protein folding; stress response proteins
FKBP5	FK506-binding protein 5	U42031	Post-translational modification-protein folding
NEDD8	Neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 8	D23662	Protein turnover
<b>Geny ulegające obniżonej ekspresji w tętniaku aorty brzusznej w porównaniu z kontrolą (k &gt; AAA)</b> <i>Genes down-regulated in AAA in comparison with control (control &gt; AAA)</i>			
HSPA2	Heat shock 70kDa protein 2	L26336	Stress response proteins
CRYAB	Crystallin, alpha B	S45630	Post-translational modification-protein folding; stress response proteins
DNAJB4	DNAJ (HSP40) homolog subfamily B, member 4	U40992	Stress response proteins
RFC1	Replication factor C large subunit	L14922	DNA synthesis, recombination and repair
SOD3	Superoxide dismutase 3, extracellular	J02947	Metabolism; stress response proteins
CYB5R3	Cytochrome B5 reductase 3	Y09501	Metabolism; stress response proteins
<b>Geny ulegające obniżonej ekspresji w zespole Leriche'a w porównaniu z kontrolą (k &gt; AIOD)</b> <i>Genes down-regulated in AIOD in comparison with control (control &gt; AIOD)</i>			
MAPKK1	Mitogen-activated protein kinase kinase 1 (MAP kinase kinase 1)	L05624	Cell cycle; Intracellular transducers-effectors-modulators
GSR	Glutathione reductase	X15722	Apoptosis associated proteins; stress response proteins
UBE2A	Ubiquitin-conjugating enzyme E2A (RAD6 homolog)	M74524	DNA synthesis, recombination and repair; Intracellular transducers-effectors-modulators; protein turnover
RFC1	Replication factor C large subunit	L14922	DNA synthesis, recombination and repair
CYB5R3	Cytochrome B5 reductase 3	Y09501	Metabolism; stress response proteins
GSTO1	Glutathione-S-transferase	U90313	DNA synthesis, recombination and repair; metabolism, stress response proteins
<b>Geny ulegające podwyższonej ekspresji w tętniaku aorty brzusznej w porównaniu z zespołem Leriche'a (AAA &gt; AIOD)</b> <i>Genes up-regulated in AAA in comparison with AIOD (AAA &gt; AIOD)</i>			
SOD2	Superoxide dismutase 2, mitochondrial	X07834; X59445	Stress response proteins
HSP90AA1	Heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class A member 1	X07270	Stress response proteins
GSTO1	Glutathione-S-transferase	U90313	DNA synthesis, recombination and repair; metabolism; stress response proteins
UBE2A	Ubiquitin-conjugating enzyme E2A (RAD6 homolog)	M74524	DNA synthesis, recombination and repair; Intracellular transducers-effectors-modulators
RFC1	Replication factor C large subunit	L14922	DNA synthesis, recombination and repair
HMBS	Hydroxymethylbilane synthase	X04808	Metabolism
<b>Geny ulegające podwyższonej ekspresji w zespole Leriche'a w porównaniu z tętniakiem aorty brzusznej (AIOD &gt; AAA)</b> <i>Genes up-regulated in AIOD in comparison with AAA (AIOD &gt; AAA)</i>			
HSP90AB1	Heat shock protein 90kDa alpha (cytosolic), class B member 1	M16660	Post-translational modification-protein folding; stress response proteins
FKBP5	FK506-binding protein 5	U42031	Post-translational modification protein folding
NEDD8	Neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 8	D23662	Protein turnover
HSPA2	Heat shock 70kDa protein 2	L26336	Stress response proteins
DNAJB4	DNAJ (HSP40) homolog subfamily B, member 4	U40992	Stress response proteins
SOD3	Superoxide dismutase 3, extracellular	J02947	Metabolism; stress response proteins



scular Array ulegały zwiększonej ekspresji — ICAM-1 oraz MMP-9. Natomiast większą ekspresję w miażdżycy niż w tętniaku wykazywało 6 genów: PLN, SELL, NPR3, ENTPD1, FABP4 i FGB. Różnicujące geny obejmują geny kodujące, między innymi białka macierzy zewnątrzkomórkowej (COL1A1), metaloproteinazy (MMP9) i inhibitory metaloproteinaz (TIMP1), białka transportowe (APOD, APOE), receptory komórkowe (LDLR, NPR3) oraz białka adhezji komórkowej (ICAM-1, SELL).

Spośród genów z zestawu Atlas Stress Array podwyższonej ekspresji ulegały 3 geny w AAA (HSP90AB1, SOD2, HSP90AA1) oraz 3 geny w AIOD (FKBP5, NEDD8 oraz, podobnie jak w AAA, HSP90AB1) w porównaniu z grupą kontrolną. Z zestawu Atlas Stress Array obniżonej ekspresji w tętniaku ulegało 6 genów (HSPA2, CRYAB, DNAJB4, RFC1, SOD3, CYB5R3), zaś w miażdżycy także 6 genów (MAPKK1, GSR, UBE2A, GSTO1 oraz, podobnie jak w AAA, RFC1 i CYB5R3) w porównaniu z grupą kontrolną. Geny różnicujące pomiędzy AAA i AIOD obejmowały między innymi geny odpowiedzi na stres (np. SOD2, HSP90AA1, HSPA2, DNAJB4, HSP90AB1) oraz geny odpowiedzialne za syntezę, rekombinację i naprawę DNA (np. RFC1, GSTO1, UBE2A).

## Dyskusja

W niniejszych badaniach wyodrębniono grupę 36 genów (20 z zestawu Atlas Cardiovascular Array i 16 z zestawu Atlas Stress Array) ulegających znamiennej statystycznie zróżnicowanej ekspresji na poziomie mRNA w badanych schorzeniach porównywanych wzajemnie do siebie i/lub względem grupy kontrolnej.

Macierze cDNA Atlas już wykorzystywano w ostatnich latach w badaniach profili ekspresji genów w tętniaku aorty brzusznej [10–12]. Autorzy porównywali ekspresję genów w AAA z prawidłową aortą [10–12], z aortą, która uległa miażdżycy [11], oraz z tętniakiem aorty piersiowej [12]. W badaniach tych zastosowano jednak inne niż wybrane przez autorów niniejszej pracy zestawy genów: 1176 genów z Atlas Array Human 1.2 I [10]; 265 genów z Human Cell Interaction Array [11]; 1185 genów z Atlas Array Human 1.2 I [12]. Geny zawarte w wybranych przez autorów zestawach Atlas Cardiovascular Array oraz Atlas Stress Array odpowiadają szerokiemu spektrum procesów biologicznych dotyczących naczyń krwionośnych: metabolizmowi białek macierzy zewnątrzkomórkowej, transdukcji sygnałowej, reakcji zapalnej i odpowiedzi immunologicznej, cyklowi komórkowemu, apoptozie, syntezie i naprawie DNA oraz odpowiedzi na stres.

Przebudowa macierzy zewnątrzkomórkowej zachodzi zarówno w przypadku tętniaka, jak i miażdżycy. W niniejszych badaniach do genów o największej ekspresji we wszystkich badanych grupach należały geny kodujące białka macierzy: kolagen typu I,  $\alpha$  (COL1A1) oraz proteoglikan decorin. Genem różnicującym był kolagen. Istotny wzrost jego ekspresji w porównaniu z prawidłową aortą zaobserwowano zarówno dla AAA ( $> 10$ ), jak i dla AIOD ( $> 5$ ). Dane te są sprzeczne z redukcją ekspresji kolagenu VI odnotowaną przez Armstronga i wsp. [11].

Stress set) which were differentially expressed on the mRNA level in studied diseases compared to each other and/or with the control.

The application of Atlas cDNA arrays for gene expression profiling in AAA has been carried out recently [10–12]. The gene expression in AAA was compared to a control aorta [10–12], to an atherosclerotic aorta [11] and to a thoracic aortic aneurysm [12]. However, a different set of genes were applied: 1176 genes of the Atlas Array Human 1.2 I [10]; 265 genes of the Human Cell Interaction Array [11]; 1185 genes of the Atlas Array Human 1.2 I [12]. The Atlas Cardiovascular Array and Atlas Stress Array sets, selected by us, cover a wide spectrum of biological processes concerning the blood vessels: metabolism of extracellular matrix proteins, signal transduction, inflammation and immune response, cell cycle, DNA synthesis and repair, and stress response.

Extracellular matrix remodelling occurs both in AAA and in AIOD. In our studies the highest expression in all groups was observed for genes encoding extracellular matrix proteins: collagen type I, alpha (COL1A1) and proteoglycan decorin. The differentiating gene was collagen; the essential increase of its expression in comparison with normal aorta was observed both in AAA ( $> 10$ ) and in AIOD ( $> 5$ ). These results are contrary to the decrease in collagen VI expression observed by Armstrong *et al.* [11]. However, the collagen concentration in AAA was found to be elevated in several studies [13] and an increase of the alpha 1-procollagen mRNA in AAA tissue extracts was found by McGee *et al.* [14]. This finding was explained by an increase in collagen synthesis and its deposition in the aorta wall. It was believed that the increase in collagen synthesis could be a compensatory response to stretching of the wall or could be the dilution effect caused by selective elastin degradation in media of the aneurysmal aorta [13]. This phenomenon occurs probably at the beginning of aneurysmal degeneration.

Although the development of abdominal aorta aneurysm and aorto-iliac occlusive disease is a multidirectional process including many, apparently independent, pathologies, the overlap of these diseases during many stages of their development could be observed. One of the symptoms of this phenomenon is the inflammation process. It was confirmed that the occurrence of the atherosclerotic lesions was more frequent in patients with cardiovascular and neurological diseases when it was associated with chronic parodontitis, sinusitis and inflammation of the gonads [15]. Also in the case of AAA many authors believe that inflammation reaction affects all AAAs in a different degree [2, 5, 16, 17] what may be caused by autoimmune response or infection, e.g. by Chlamydia pneumoniae [18]. The mechanism of the leukocyte afflux and migration is unclear although it is known that the degradation products of elastin are a strong chemotactic factor for macrophages. The gene expression profiles in our studies indicate an important role of genes that stimulate an inflammation response and atherosclerosis development (e.g., ICAM-1, APOE, APOD,

Jednak kilku autorów zaobserwowało wzrost stężenia kolagenu w tętniaku aorty [13]. Zwiększenie poziomu mRNA dla prokolagenu  $\alpha_1$  stwierdzono w ekstraktach tkankowych z tętniaka [14], co tłumaczono zwiększeniem jego syntezy i odkładania się w ścianie. Prawdopodobnie wzrost syntezy mógłby stanowić reakcję rekompensującą zwiększenie rozciągnięcia ściany lub efekt rozcięcia spowodowany selektywną degradacją elastyny w błonie środkowej ściany aorty w tętniaku [13]. Zjawisko to występuje prawdopodobnie w początkowych etapach pojawiania się zmiany.

Chociaż powstawanie AAA oraz AIOD jest procesem wielokierunkowym, z udziałem szeregu pozornie od siebie niezależnych procesów patologicznych, to w wielu okresach rozwoju tych schorzeń można dostrzec ich wzajemne zazębianie. Jednym z jego przejawów jest występowanie reakcji zapalnej. Wielokrotnie potwierdzono, że występowanie zmian miażdżycowych u chorych kardiologicznych i neurologicznych jest częstsze przy współistnieniu przewlekłych procesów zapalnych zatok, przyzębia oraz narządów rodnych [15]. Wielu autorów przyznaje, że we wszystkich tętniakach aorty występuje odczyn zapalny o różnym nasileniu [2, 5, 16, 17]. Jego przyczyną może być reakcja autoimmunologiczna lub czynnik infekcyjny, na przykład w postaci *Chlamydia pneumoniae* [18]. Mechanizm wywołujący napływ i migrację leukocytów jest nieznan, chociaż wiadomo, że produkty degradacji elastyny są silnym czynnikiem chemotaktycznym dla makrofagów. Otrzymane w niniejszych badaniach profile ekspresji genów w AAA i AIOD wskazują na istotne znaczenie genów pobudzających stan zapalny oraz procesy rozwoju miażdżycy (np. ICAM-1, APOD, APOE, SELL) i degeneracji macierzy zewnątrzkomórkowej (MMP-9, TIMP-1). Wzrost ekspresji genu APOD jest szczególnie ważny, ponieważ niedawno stwierdzono, że białko apolipoproteiny D jest nie tylko akumulowane w blaszkach miażdżycowych, ale także indukowane w procesie zapalnym, stresie oksydacyjnym i apoptozie [19]. Natomiast zwiększenie ekspresji MMP-9 pośrednio świadczy o wzroście liczby makrofagów naciekających ścianę aorty, będących — obok komórek mięśni gładkich — głównymi producentami tego enzymu [2, 20]. Warto również zwrócić uwagę na geny stresu (szczególnie HSP90AB1, HSPA2 oraz CRYAB i RFC1), które mogą przyczynić się do ochrony komórki (kodując białka o charakterze chaperonowym) lub wspomagać proces zapalny [21].

W procesie zapalnym towarzyszącym powstawaniu AAA i AIOD bardzo ważną rolę odgrywają metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej, których znaczenie w patogenezie tętniaka uważane jest za kluczowe, z uwzględnieniem szczególnej roli MMP-9 z jej aktywnością elastolityczną. Podwyższone stężenia MMP-9 zaobserwowano w tętniakach, zarówno na poziomie mRNA [22, 23], jak i białka [24, 25]. W niniejszych badaniach stwierdzono ponad 10-krotny wzrost mRNA dla MMP-9 w AAA i ponad 5-krotny wzrost w AIOD w porównaniu z grupą kontrolną. Wyniki te są podobne do rezultatów otrzymanych przez innych badaczy, którzy zastosowali macierze Atlas [10, 11] oraz metodę Northerna [23]. Warto

SELL) and the degeneration of the extracellular matrix (MMP-9 and TIMP-1). The increase in the APOD gene is especially important since it has been reported recently that the apolipoprotein D protein is accumulated not only in atherosclerotic plaques but is induced also in inflammation, oxidative stress and apoptosis [19]. The elevation of MMP-9 gene expression indirectly suggests an increase in the macrophage number infiltrating the aorta that are the main producers of this enzyme apart from smooth muscle cells [2, 20]. It is also worth mentioning stress genes (especially HSP90AB1, HSPA2, CRYAB and RFC1), that may contribute to cell protection by encoding chaperone proteins or that enhance the inflammation response [21].

Extracellular matrix metalloproteinases have a very important function in an inflammatory process associated with the development of AAA or AIOD. They are considered to have a key role in the pathogenesis of AAA, especially MMP-9 with elastolytic activity. Elevated levels of MMP-9 in AAAs were observed both at mRNA level [22, 23] and at protein level [24, 25]. We observed over a 10-fold increase in MMP-9 mRNA in AAA and over a 5-fold increase in AIOD in comparison to the control. These results are similar to those obtained with Atlas arrays [10, 11] and with the Northern method [23]. It is worth noting that the level of MMP-9 mRNA transcript in our studies was 2-fold higher in AAA than in AIOD, which may confirm the importance of this metalloproteinase in pathogenesis of AAA. Absi *et al.* [12] detected over an 80-fold increase of MMP-9 mRNA in AAA in comparison with the control. In animal model studies it was shown that the presence of an active MMP-9 gene is necessary for the development of induced AAA [9]. Apart from an increase in MMP-9 mRNA in our studies, also MMP-3 and MMP-10 tended toward an increase in AAA in comparison with the control.

In all the studied groups we observed a high expression of TIMP-1 which is similar to reports by other authors [22, 23]. A high expression of this gene may testify that it is very important for the homeostasis of aorta tissue. We observed over a 2-fold increase in TIMP-1 in AIOD in comparison with the control while there were no significant differences in its expression in AAA. A significant increase in TIMP-1 transcripts number in AAA (1.7-fold) was observed in studies using RT-PCR [22], while in cDNA Atlas studies TIMP-1 only tended toward increase [11]. In our studies, TIMP-3 also tended toward increase in AAA in comparison with the control.

Among the genes characteristic for inflammation, over a 2-fold increase of ICAM-1 in AAA in comparison with AIOD was detected. The elevation of ICAM-1 mRNA levels both in AAA and atherosclerosis has also been reported by other authors [10,11]. The important role of ICAM-1 in the development of both aneurysm and atherosclerosis was remarked upon by Davis III *et al.* [26] and in model studies it was shown that ICAM-1 is critical for atherosclerosis development by mediating leukocyte adhesion and infiltration to the vessel wall [27]. Polymorphism ICAM-1 C/T is associated with coronary arterial disease and myocardial infarction [28].

podkreślić, że obserwowany przez autorów niniejszej pracy poziom transkryptu MMP-9 był 2-krotnie wyższy w przypadku tętniaka niż miażdżycy, co może potwierdzać znaczenie tej metaloproteinazy w patogenezie AAA. Absi i wsp. [12] odnotowali nawet ponad 80-krotny wzrost mRNA dla MMP-9 w przypadku tętniaka w porównaniu z grupą kontrolną. W badaniach przeprowadzonych na modelach zwierzęcych wykazano, że obecność aktywnego genu MMP-9 jest niezbędna do wywołania indukowanego AAA [9]. Oprócz zwiększenia ekspresji MMP-9 obserwowano również tendencję do wzrostu ekspresji metaloproteinaz MMP-3 i MMP-10 w tętniaku aorty w porównaniu z grupą kontrolną.

Autorzy niniejszej pracy, podobnie jak inni badacze [22, 23], we wszystkich badanych grupach zaobserwowali dużą ekspresję tkankowego inhibitora metaloproteinaz-1 (TIMP-1), co może świadczyć o jego znaczeniu w homeostazie tkanki aorty. Ponad 2-krotne zwiększenie ekspresji TIMP-1 stwierdzono w przypadku AIOD w porównaniu z grupą kontrolną, natomiast w przypadku AAA nie zanotowano istotnych różnic. Znamienny wzrost transkryptów inhibitorów metaloproteinaz w tętniaku, w tym TIMP-1 (1,7-krotny), odnotowano w badaniach metodą RT-PCR [22], podczas gdy Armstrong i wsp. [11], stosując macierze cDNA Atlas, zaobserwowali jedynie tendencję do zwiększenia ekspresji TIMP-1 w tętniaku. W niniejszych badaniach odnotowano ponadto tendencję do wzrostu ekspresji TIMP-3.

Wśród genów charakterystycznych dla reakcji zapalnej stwierdzono ponad 2-krotne zwiększenie ekspresji ICAM-1 w AAA w porównaniu z AIOD. Wzrost ekspresji mRNA dla ICAM-1 zarówno w przypadku tętniaka, jak i miażdżycy zanotowali również inni badacze [10, 11]. Znaczącą rolę białka ICAM-1 w rozwoju obu analizowanych patologii odnotowali Davis i wsp. [26], a w badaniach modelowych wykazano, że ICAM-1 ma podstawowe znaczenie w rozwoju miażdżycy poprzez pośredniczenie w adhezji leukocytów oraz naciekaniu ich do ściany naczynia [27]. Polimorfizm ICAM-1 C/T wykazuje asocjację z chorobą tętnic wieńcowych i zawałem serca [28].

Do tej grupy genów można zaliczyć również gen łańcucha fibrynogenu  $\beta$  (FGB, *fibrynogen gene chain*), kodujący białko ostrej fazy, które może być uznawane za nieswoisty marker reakcji zapalnej. Wzrost ekspresji mRNA dla FGB zaobserwowano zarówno w przypadku AAA (ponad 2-krotny), jak i AIOD (ponad 5-krotny).

Podwyższeniu ekspresji ulegały też geny istotne w miażdżycy — APOE (*apolipoprotein E*) oraz w stanie zapalnym i miażdżycy — APOD (*apolipoprotein D*). W przypadku AAA zaobserwowano ponad 5-krotny wzrost APOD. W AAA oraz AIOD zanotowano również wzrost ekspresji APOE w tym samym zakresie. Ponad 13-krotne zwiększenie ekspresji APOE w AAA stwierdzili także Tung i wsp. [10]. Jedynym z genów łączonych z procesami zapalnymi, który ulegał obniżeniu w miażdżycy w porównaniu z grupą kontrolną (ponad 10-krotnie), był gen CCL2. Chemokina CCL2 pełni istotną rolę w regulacji naciekania monocytów podczas reakcji zapalnej [29],

The gene of the fibrinogen beta chain (FGB) may be also included in the same group of genes. FGB encodes the acute phase protein, which may be considered as non-specific marker of inflammatory response. We observed an increase in FGB mRNA both in AAA (over 2-fold) as in AIOD (over 5-fold).

An increase in the expression of the genes important for atherosclerosis, APOE (apolipoprotein E), and atherosclerosis and inflammation, APOD (apolipoprotein D), was observed: a 5-fold increase of APOD in aneurysm and also a 5-fold increase of APOE both in AAA and AIOD. The increase of APOE expression in AAA (over 13-fold) was reported also by Tung *et al.* [10]. The only gene associated with inflammatory processes whose expression had decreased (over 10-fold) was gene CCL2. Chemokine CCL2 has an essential role in regulating monocyte infiltration during inflammation [29]. Therefore, this result is difficult to explain.

A significant decrease (over 10-fold) in the expression of PLN (cardiac phospholamban) was observed in both AAA and AIOD. PLN is a gene encoding protein that functions as calcium ion pump. Abnormal function of this protein was observed in cardiomyopathies. In AAA we also observed a decrease of ANXA 2 expression, the gene of the protein that binds calcium ions. A significant increase in expression in AAA in comparison with the control was observed for POR (P450 oxidoreductase) (over 5-fold) and GNS (glucosamine-N-acetyl-6-sulfatase) (over 10-fold). POR belongs to the family of stress response genes and takes part in the metabolism of xenobiotics; enzymes coded by POR have an important role in different diseases of the heart and hypertension [30]. GNS participates in the complex metabolism of proteoglycans, components of extracellular matrix.

Among genes differentiating between AAA and AIOD we observed an increase in the expression in AIOD in comparison to AAA of the following genes: SELL and NPR-3 (over 5-fold); PLN, FGB, ENTPD1 and FABP4 (over 2-fold). In contrast, in AAA in comparison with AIOD, we observed over a 2-fold increase in the expression of ICAM-1 and MMP-9.

The most significant feature among Atlas Stress Arrays were the changes in gene expression of genes CRYAB and RFC1 (over a 10-fold decrease) in AAA in comparison with the control. RFC1 gene was also down-regulated (2-fold) in AIOD. RFC1 is involved in DNA synthesis regulation. This decrease in the RFC1 level suggests a significant inhibition of DNA synthesis in AAA. CRYAB encodes a small heat shock protein crystalline, that is the main soluble protein component of the eye lens in vertebrates, and whose expression is also observed in the heart and the vascular endothelium [31–33]. Alpha B crystalline has a function of chaperone protein in the heart and cardiomyocytes [34], although its role in the vascular endothelium remains to be solved [33].

A 2-fold decrease in expression was observed for the anti-oxidant genes: GSR and GSTO1 in AIOD; SOD3 in AAA and CYB5R3 in both AAA and AIOD. A decrease in the expression of anti-oxidant genes was observed in



dlatego wynik otrzymany przez autorów niniejszej pracy jest trudny do interpretacji.

Wyraźne obniżenie ekspresji (> 10) w przypadku obu badanych schorzeń zaobserwowano dla genu PLN (*cardiac phospholamban*), kodującego białko o funkcji pompy  $Ca^{2+}$ . Jego nieprawidłowe funkcjonowanie stwierdzono w kardiomiopatiach. Obniżenie ekspresji w AAA stwierdzono w przypadku genu ANXA 2, genu białka wiążącego jony wapniowe. Znaczące podwyższenie ekspresji w AAA w porównaniu z grupą kontrolną zaobserwowano również w przypadku POR (P450 *oxidoreductase*) — ponad 5-krotne oraz GNS (*glucosamine-N-acetyl-6-sulfatase*) — ponad 10-krotne. Gen POR należy do genów odpowiedzi na stres i uczestniczy w metabolizmie ksenobiotyków. Enzymy kodowane przez POR odgrywają istotną rolę w różnych chorobach serca i nadciśnieniu [30]. Natomiast GNS uczestniczy w złożonym metabolizmie proteoglikanów będących składnikami macierzy zewnątrzkomórkowej.

Zaobserwowano wzrost ekspresji w AIOD w porównaniu z AAA następujących genów różnicujących między tętnikiem a miażdżycą: ponad 5-krotny dla receptora adhezji komórkowej SELL i receptora hormonu natriuretycznego NPR-3 oraz ponad 2-krotny dla PLN, FGB, antygeny powierzchniowego ENTPD1 oraz dla FABP4. W przypadku ICAM-1 i MMP-9 zanotowano ponad 2-krotne zwiększenie ekspresji w AAA w porównaniu z AIOD.

Spośród genów z zestawu Atlas Stress Array najbardziej znaczące były zmiany ekspresji genów CRYAB oraz RFC1 — ponad 10-krotne obniżenie w AAA w porównaniu z grupą kontrolną. W przypadku RFC1 spadek występował też w miażdżycy (> 2). Gen RFC1 uczestniczy w regulacji syntezy DNA, obniżenie jego poziomu wskazuje na znaczne zahamowanie syntezy DNA w tętniku. Gen CRYAB koduje małe białko szoku termicznego  $\alpha$  B krystalinę, które jest głównym rozpuszczalnym składnikiem białkowym soczewek oka u kręgowców, choć jego ekspresję obserwuje się także w sercu oraz komórkach śródbłonka naczyń [31–33]. Alfa B krystalina pełni rolę białka opiekuńczego (chaperonowego) w sercu i kardiomiocytach [34], natomiast jego znaczenie w śródbłonku naczyń wymaga przeprowadzenia dalszych badań [33].

Dwukrotny spadek ekspresji obserwowano w przypadku genów antyoksydacyjnych — GSR i GSTO1 w AIOD, SOD3 w tętniku oraz CYB5R3 jednocześnie w obu schorzeniach. Obniżenie ekspresji genów antyoksydacyjnych (SOD3, CYB5R3, GSTO1) stwierdzono wcześniej w badaniach modelowych u szczura w tętniku wywołanym elastazą bez obecności miażdżycy. Na podstawie tych wyników, przy jednoczesnym wzroście ekspresji genów związanych ze stresem oksydacyjnym, stwierdzono, że pełni on zasadniczą rolę w patogenezie tętniaka [35].

W przypadku 6 genów stresu (HSP90A1B1, FKBP5, NEDD8, HSPA2, DNAJB4 i SOD3) zanotowano 2-krotnie większą ekspresję w AIOD w porównaniu z tętnikiem. Analogicznie 6 genów stresu (SOD2, HSP90AA1, GSTO1, UBE2A, RCF1 i HMBS) cechowało się 2-krotnie wyższą ekspresją w AAA niż w AIOD.

Obserwowane zmiany ekspresji różnych genów stresu są niezwykle istotne ze względu na ich złożoną rolę.

rat model studies in AAA induced by elastase without associating atherosclerosis. Since the authors also observed the up-regulation of genes involved in oxidative stress, they concluded that oxidative stress is essential for the pathogenesis of AAA [35].

Among the Atlas Stress set, 6 genes was up-regulated (over 2-fold) in AIOD in comparison with AAA: HSP90A1B1, FKBP5, NEDD8, HSPA2, DNAJB4 and SOD3. Similarly, 6 genes were up-regulated (over 2-fold) in AAA in comparison with AIOD: SOD2, HSP90AA1, GSTO1, UBE2A, RCF1 and HMBS.

The observed gene expression regulation of stress genes is extremely important because of their complex function. The Hsp70 and Hsp90 family gene products act as chaperone proteins in physiological adaptation, including the processes of vascular wall injury; oxidative stress, ischemia and aging [32, 36]. All these processes may occur in the pathogenesis of both AAA and AIOD. The role of heat shock gene families is believed to be associated with the protection of cells from apoptosis [21]. There are also many premises indicating the involvement of heat shock proteins in the triggering of immune response and inflammation leading to atherosclerosis [21].

## Conclusions

In summary, our comparison of gene expression profiles in AAA and AIOD allowed us to conclude that the genes responsible for inflammation and remodelling of the extracellular matrix are essentially important in both of these diseases. The application of cDNA Atlas Arrays provided us with a complex image of the expression of many genes and made it possible to select the genes that were differentially expressed with statistical significance. Though it is difficult to assess their clinical importance, the results generated with this method may show new perspectives in studies and help in the understanding of the complex processes involved in the pathogenesis of AAA and AIOD.

---

Produkty rodzin genów Hsp70 i Hsp90 odgrywają rolę białek opiekuńczych (chaperonowych) w fizjologicznej adaptacji, między innymi w takich procesach, jak uszkodzenie ściany naczynia, stres oksydacyjny, początki niedotlenienia i starzenie [32, 36]. Wszystkie te zjawiska mogą wystąpić w patogenezie obu schorzeń. Rola genów stresu z rodzin genów szoku termicznego wiąże się również z ochroną komórek przed apoptozą [21]. Istnieje też wiele przesłanek wskazujących na udział białek szoku termicznego w wywołaniu odpowiedzi immunologicznej i reakcji zapalnej prowadzącej do miażdżycy [21].

## Wnioski

Podsumowując, porównanie przez autorów profili ekspresji genów w AAA i w miażdżycowej AIOD pozwo-

liło na wskazanie genów warunkujących stan zapalny i przebudowę macierzy zewnątrzkomórkowej jako szczególnie istotnych w obu schorzeniach. Zastosowana technika macierzy cDNA Atlas, nawet w ograniczeniu do kilkuset genów, dostarcza złożonego obrazu ekspresji wielu z nich i umożliwia wyselekcjonowanie tych ulegających statystycznie znamiennej regulacji. Chociaż trudno jeszcze ocenić ich znaczenie kliniczne, to wyniki otrzymane tą metodą mogą wyznaczyć nowe kierunki badań i pomóc w wyjaśnieniu zróżnicowanych procesów w patogenezie tętniaka aorty brzusznej i niedrożności aortalno-biodrowej.

## Piśmiennictwo (References)

- Noszczyk W, Stryga W, Woźniak W. Tętniaki aorty brzusznej. In: Noszczyk W (ed.) Chirurgia tętnic i żył obwodowych. PZWL, Warszawa 2007: 706–726.
- Thompson RW, Geraghty PJ, Lee JK. Abdominal aortic aneurysms: basic mechanisms and clinical implications. *Curr Probl Surg.* 2002; 39: 110–230.
- Noszczyk W, Andziak P. Przewlekłe niedokrwienie kończyn dolnych. In: Noszczyk W (ed.) Chirurgia tętnic i żył obwodowych. PZWL, Warszawa 2007: 563–594.
- Lopez-Candalez A, Holmes DR, Liao S, Scott MJ, Wickline SA, Thompson RW. Decreased vascular smooth muscle cell density in medial degeneration of human abdominal aortic aneurysms. *Am J Pathol.* 1997; 150: 993–1007.
- 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.
- 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.
- Reed D, Reed C, Stemmerman G, Hayashi T. Are aortic aneurysms caused by atherosclerosis? *Circulation* 1992; 85: 205–211.
- Waseff M, Upchurch GR, Kuivaniemi H, Thompson RW, Tilson MD III. Challenges and opportunities in abdominal aortic aneurysm research. *J Vasc Surg.* 2007; 45: 192–198.
- Pyo R, Lee JK, Shipley JM, Curci JA *et al.* Targeted gene disruption of matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B) suppresses development of experimental abdominal aneurysm. *J Clin Invest.* 2000; 105: 1641–1649.
- Tung WS, Lee JK, Thompson RW. Simultaneous analysis of 1176 gene products in normal human aorta and abdominal aneurysm using a membrane-based complementary DNA expression array. *J Vasc Surg.* 2001; 34: 143–150.
- Armstrong PJ, Johanning JM, Calton WC Jr *et al.* Differential gene expression in human abdominal aorta: aneurysmal versus occlusive disease. *J Vasc Surg.* 2002; 35: 346–355.
- Absi TS, Sundt TM III, Tung WS, Moon M, Lee JK, Thompson RW. Altered patterns of gene expression distinguishing ascending aortic aneurysm from abdominal aortic aneurysm: Complementary DNA expression profiling in the molecular characterization of aortic disease. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2003; 126: 344–357.
- Choke E, Cockerill G, Wilson WRW *et al.* A review of biological factors implicated in abdominal aortic aneurysm rupture. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2005; 30: 227–244.
- McGee GS, Baxter BT, Shively VP *et al.* Aneurysm or occlusive disease — factors determining the clinical course of atherosclerosis of the infrarenal aorta. *Surgery* 1991; 110: 370–375.
- Ross R. Atherosclerosis — an inflammatory disease. *N Eng J Med.* 1999; 340: 115–126.
- Oszkinis G. Znaczenie czynnika zapalnego w patogenezie tętniaka aorty brzusznej. Praca habilitacyjna, Akademia Medyczna im. K. Marcinkowskiego, Poznań 2000.
- Głowiński S. Patogeneza tętniaków aorty. In: Noszczyk W (ed.) Chirurgia tętnic i żył obwodowych. PZWL, Warszawa 2007: 102–111.
- Petersen E, Boman J, Wågberg F, Angquist KA. Presence of Chlamydia pneumoniae in abdominal aortic aneurysms is not associated with increased of matrix metalloproteinases. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2002; 24: 365–369.
- Do Carmo S, Levros Jr L-C, Rassart E. Modulation of apolipoprotein D expression and translocation under specific stress conditions. *BBA* 2007; 1773: 954–969.
- 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.
- Xu Q. Role of heat shock proteins in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22: 1547–1559.
- 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.
- Elmore JR, Keister BF, Franklin DP, Youkey JR, Carey DJ. Expression of matrix metalloproteinases and TIMPs in human abdominal aortic aneurysms. *Ann Vasc Surg* 1998; 12: 221–228.
- McMillan WD, Pearce WH. Increased plasma levels of metalloproteinase-9 are associated with abdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg.* 1999; 29: 122–129.
- Hovsepian DM, Ziporin SJ, Sakurai MK, Lee JK, Curci JA, Thompson RW. Elevated plasma levels of matrix metalloproteinase-9 in patients with abdominal aortic aneurysm: a circulating marker of degenerative aneurysm. *J Vasc Intern Radiol.* 2000; 11: 1345–1352.
- Davis CA III, Pearce WH, Haines GK, Shash M, Koch AE. Increased ICAM-1 expression in aortic disease. *J Vasc Surg.* 1993; 18: 875–880.
- Dietrich H, Hu Y, Zou Y *et al.* Mouse model of transplant arteriosclerosis: Role of intercellular adhesion molecule-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20: 343–352.
- Jiang H, Klein RM, Niederacher D *et al.* C/T polymorphism of the intercellular adhesion molecule-1 gene (exon 6, codon 469). A risk factor for coronary heart disease and myocardial infarction. *Int J Cardiol.* 2002; 84: 171–177.
- Charo IF, Ransohoff RM. The role of chemokines and chemokines receptors in inflammation. *N Engl J Med.* 2006; 354: 610–621.
- Elbekai RH, El-Kadi AO. Cytochrome P450 enzymes: central players in cardiovascular health and disease. *Pharmacol Therap.* 2006; 112: 564–587.
- Benjamin IJ, Shelton J, Garry DJ, Richardson JA. Temporospatial expression of the small HSP/alpha B-crystallin in cardiac and skeletal muscle during mouse development. *Dev Dyn.* 1997; 208: 75–84.
- Benjamin IJ, McMillan R. Stress (Heat shock) Proteins. Molecular chaperones in cardiovascular biology and disease. *Circ Res.* 1998; 83: 117–132.
- Golenhofen N, Ness W, Wawrousek EF, Drenckhahn D. Expression and induction of the stress protein alpha-B-crystallin in vascular endothelial cells. *Histochem Cel Biol.* 2002; 117: 203–209.
- Martin JL, Mestri R, Hilal-Dandan R, Brunton LL, Dillmann WH. Small heart shock proteins and protection against ischemic injury in cardiac myocytes. *Circ.* 1997; 96: 4343–4348.
- 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.
- Snoeckx LHEH, Cornelussen RN, Van Nieuwenhoven FA, Reneman RS, Van Der Vusse GJ. Heat shock proteins and cardiovascular pathophysiology. *Physiol Rev.* 2001; 81: 1461–1497.

### Adres do korespondencji (Address for correspondence):

Dr n. przyr. Aleksandra Korcz  
Instytut Genetyki Człowieka PAN  
ul. Strzeszyńska 32  
60-479 Poznań  
tel.: (061) 6579-239  
faks: (061) 8233-011  
e-mail: olakorcz@man.poznan.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 10.08.2008 r.