

Received: 2006.02.13
Accepted: 2006.07.05
Published: 2006.08.07

Molekularne podstawy angiogenezy

Molecular basics of angiogenesis

Jan Skóra¹, Jan Biegus², Artur Pupka¹, Piotr Barć¹, Julita Sikora³, Piotr Szyber¹

¹ Katedra i Klinika Chirurgii Naczyniowej, Ogólnej i Transplantacyjnej Akademii Medycznej we Wrocławiu

² 4 Wojskowy Szpital Kliniczny z Polikliniką we Wrocławiu

³ Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Alergologii Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie

W artykule przedstawiono obecny stan wiedzy dotyczący angiogenezy: opisano rolę macierzy pozakomórkowej, komórek oraz cytokin/czynników wzrostu w procesie tworzenia nowych naczyń krwionośnych. Składniki macierzy pozakomórkowej odgrywają znaczącą rolę w angiogenezie. Degradacja elementów macierzy jest bardzo ważnym i ściśle kontrolowanym zjawiskiem zachodzącym głównie dzięki rodzinie białek zwanej metaloproteinazami macierzy pozakomórkowej: MMPs (matrix metalloproteinases). Przedział pozakomórkowy poprzez specjalne przezłonowe białka – integryny przenosi dużą liczbę sygnałów do komórki, dzięki czemu wpływa na zachowanie komórki, takie jak: podziały, inwazję, kształt, migrację, czy dojrzewanie. Wiele produktów degradacji macierzy jest silnymi regulatorami (głównie hamującymi) angiogenezy, ten samoograniczający system zapobiega nadmiernej proteolizie składników kompartmentu pozakomórkowego. Komórki zaangażowane w tym procesie to przede wszystkim progenitory śródbłonna (EPC), które wywodzą się ze szpiku kostnego, ich główne antygeny błonowe to: CD34+, CD133+, VEGFR2+. Potwierdzono, że komórki te są odpowiedzialne za zachowanie wydolności funkcjonalnej śródbłonna. Liczba progenitorów we krwi obwodowej jest odwrotnie proporcjonalna do ilości czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. W końcowej części artykułu omówiono rolę cytokin/czynników wzrostu w angiogenezie. VEGF jako najważniejszy czynnik początkowych etapów tworzenia nowych naczyń jest odpowiedzialny za uwalnianie niedojrzałych komórek ze szpiku i ich gromadzenie się w miejscu niedokrwienia. Najsilniejszym chemoatraktantem progenitorów jest jednak SDF-1, który w znaczący sposób ułatwia mobilizację komórek. Najważniejszą cytokiną kontrolującą końcowe etapy angiogenezy: stabilizację i dojrzewanie naczyń jest angiopoetyna 1.

Słowa kluczowe:

angiogeneza • macierz pozakomórkowa • komórki progenitorowe śródbłonna • VEGF – czynnik wzrostu śródbłonna naczyń

Summary

In the article we present the latest knowledge about angiogenesis. We have divided the paper into three main parts, in which the involvement of the extracellular matrix, cells, and cytokines/growth factors in the growth of new blood vessels is described. In brief, the extracellular compartment plays a crucial role in the formation of new vasculature. Degradation of matrix is a very important and precisely controlled process performed mostly by a family of proteins called matrix metalloproteinases (MMPs). The extracellular compartment, through the special transmembrane proteins integrins, transmit a wide variety of signals into the cells and thus influence such cell behavior as proliferation, invasion, shape, migration, and maturation. Many products of matrix degradation are potent (mostly negative) regulators of angiogenesis; this self-limiting system prevents excessive proteolysis of the matrix components. The cells involved in the process are endothelial progenitor cells (EPCs), which are derived from bone marrow. The major surface antigens of the cells are CD34+, CD133+, and VEGFR2+. It has been demonstrated that EPCs are responsible for maintaining the functional integrity of endothelium. The number of EPCs in

peripheral blood samples inversely correlates with cardiovascular risk factors. In the last section of the article the role of cytokines/growth factors is described. VEGF, as a key regulator of the initial steps of angiogenesis, controls the mobilization and incorporation of EPCs into the site of ischemia. The most important cytokine that facilitates the mobilization of EPCs from bone marrow is SDF-1, which is the strongest chemoattractant for EPCs. Ang-1, on the other hand, controls new blood vessel maturation and stabilization.

Key words: angiogenesis • extracellular matrix • endothelial progenitor cells • VEGF (vascular endothelial growth factor)

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_60/9544.pdf

Word count: 2456

Tables: 1

Figures: 1

References: 40

Adres autora: dr hab. Jan Skóra, Katedra i Klinika Chirurgii Naczyniowej, Ogólnej i Transplantacyjnej AM, ul. Ks. J. Poniatowskiego 2, 50-326 Wrocław; e-mail: janskora@mp.pl

Wykaz skrótów: **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (vascular endothelial growth factor); **EPC** – komórki progenitorowe śródbłonna (endothelial progenitor cells); **MMPs** – metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (matrix metalloproteinases); **SDF-1** – czynnik zrębu 1 (stromal-derived factor-1); **SCF** – czynnik komórek macierzystych (stem cell factor); **MCP-1** – czynnik chemotaktyczny monocytów (monocyte chemoattractant protein-1); **Ang-1** – angiopoetyna 1 (angiopoietin-1).

WSTĘP

Powstawanie nowych naczyń krwionośnych stanowi przedmiot zainteresowania wielu naukowców i lekarzy na całym świecie. Jest to spowodowane dużym znaczeniem tego procesu w patofizjologii wielu chorób, jak i teoretyczną możliwością wykorzystania tej wiedzy w terapii. Angiogenezę, czyli tworzenie nowych naczyń krwionośnych odchodzących od już istniejących naczyń należy odróżnić od arteriogenezy, która polega na remodelingu małych naczyń w wyniku działania wielu czynników, m.in. fizycznych sił ściskania (shear stress). Waskulogeneza natomiast zachodzi podczas rozwoju embrionalnego i polega na wytwarzaniu sieci naczyniowej *de novo*.

Angiogeneza jako bardzo złożony proces obejmuje współdziałanie licznych komórek, cytokin oraz macierzy pozakomórkowej. Rola komórek i cytokin jest dobrze poznana i określona, natomiast rola macierzy pozakomórkowej wciąż pozostaje nie do końca pewna [3,9,31]. Jest to związane z trudnością badania wpływu poszczególnych elementów tego obszernego kompartmentu na wzrost nowego naczynia.

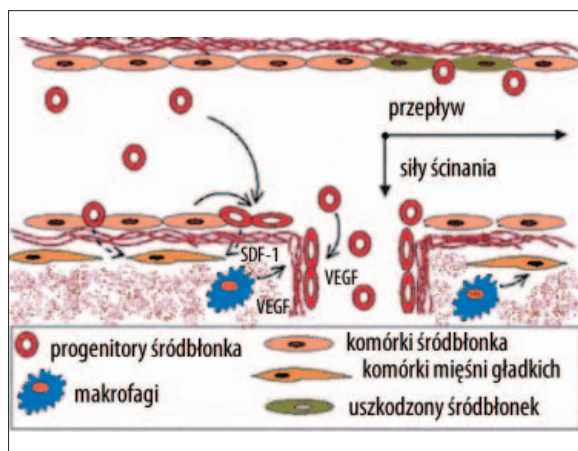
W przeszłości macierz pozakomórkowa uważana była jedynie za środowisko w którym „zanurzone” są komórki. Dziś wiemy, że przestrzeń ta odgrywa aktywną rolę w licznych procesach, w tym w angiogenezie [5]. Poprzez kontrolę oddziaływań matriks-komórka, komórka-komórka, oraz cytokina-komórka przestrzeń pozakomórkowa reguluje wzrost nowych naczyń. Dowiedziono także, że do prawidłowego wzrostu naczyń są niezbędne: mechaniczne siły oddziaływające na komórki oraz trójwymiarowa orga-

nizacja przestrzenna – te elementy przynajmniej w części zależą od macierzy zewnątrzkomórkowej [5].

MACIERZ POZAKOMÓRKOWA

Macierz pozakomórkowa jest złożoną strukturą, która otacza i wspomaga znajdujące się w niej komórki [34]. Składa się z trzech głównych składników: proteoglikanów, wyspecjalizowanych białek (takich jak fibrylina, fibronektyna, laminina) oraz z białek strukturalnych (kolageny oraz elastyna) [34]. Macierz nie jest stałą strukturą, lecz podlega ciągłym zmianom, które są powodowane przez zmieniające się warunki komórkowe i pozakomórkowe. Poza wymienionymi wyżej składnikami w przestrzeni tej znajduje się duża liczba białek, cytokin, enzymów i innych molekuł, które biorą udział w przekazywaniu sygnałów oraz reorganizacji składników matriks. Jednymi z tych enzymów są metaloproteinazy macierzy (matrix metalloproteinases – MMPs) oraz tkankowe inhibitory MMPs (tissue inhibitors of MMP – TIMP) [39].

Macierz pozakomórkowa wspomaga komórki śródbłonna w sposób swoisty i skomplikowany, obejmuje on zarówno wspieranie strukturalne, jak i regulację wielu sygnałów wewnątrzkomórkowych, poprzez które wpływa na: apoptozę, proliferację, organizację cytoszkieletu, oraz kształt komórki [21]. Co więcej, w wielu przypadkach działanie cytokin i czynników wzrostu jest uzależnione od adhezji komórek do macierzy. Sama przestrzeń pozakomórkowa jest także wielkim magazynem cytokin, które są połączone („uwięzione”) z syndekanami i innymi komponentami macierzy pozakomórkowej [5]. Dopiero aktywacja MMP doprowadza do zerwania połączenia i aktywację tych sub-



Rys. 1. Mechanizm powstawania nowego naczyń

stancji. Nie można zapominać, że podczas tworzenia i dojrzewania nowego naczynia komórki poddane są nie tylko działaniu białek i innych biomolekuł, lecz także podlegają siłom fizycznym [20]. Szczególnie podczas arteriogenezy zwraca się dużą uwagę na działanie sił ścinających („shear stress”) (ryc. 1) [15]. Dzięki przezłonowym białkom – integrynom komórki mogą m.in. reagować na zniekształcenia macierzy pozakomórkowej [6,20]. Poprzez integryny sygnał fizyczny zostaje przekształcony na pobudzenie wewnątrzkomórkowe, które z jednej strony doprowadza do reorganizacji cytoszkieletu, z drugiej uaktywnia wiele procesów wewnątrzkomórkowych, co może skutkować np. zmianą kształtu komórki lub aktywacją transkrypcji genów [5,20]. Udowodniono także, że przekazywanie sygnału poprzez integryny odbywa się w obu kierunkach, tzn. do i z komórki. Dzięki temu aktywowana komórka może wpływać na macierz pozakomórkową i/lub na sąsiednie komórki. Integryny wpływają także na migrację, podział i różnicowanie komórek [20].

Jak wspomniano wcześniej angiogeneza jest skomplikowanym, wieloetapowym procesem, podczas którego musi zajść wiele zmian w środowisku otaczającym komórki. W początkowym okresie obserwuje się wzmoczoną przepuszczalność naczyń krwionośnych (działanie VEGF) oraz gromadzenie się białek pozakomórkowych w macierzy [26]. Następnie zachodzi degradacja składników błon podstawnych, reorganizacja ściany naczynia oraz precyzyjnie kontrolowana proteoliza składników macierzy [26]. Procesy te umożliwiają i przygotowują tkankę do następnego etapu, w którym dochodzi do inwazji, migracji i proliferacji komórek śródbłonna [26]. Na tym etapie zasadniczą rolę odgrywa stopień „strawienia” macierzy pozakomórkowej. Nadmierna proteoliza będzie bowiem prowadziła do nieefektywnej angiogenezy, natomiast niewystarczająca destrukcja macierzy uniemożliwi proces inwazji i migracji [5,26]. Głównymi enzymami biorącymi udział w niszczeniu macierzy pozakomórkowej są MMP [5,39]. Odpowiedzialne są one nie tylko za ułatwienie inwazji komórek dzięki niszczeniu kolejnych barier przestrzeni zewnątrzkomórkowej, ale także przez wpływ na adhezję komórkową, proliferację oraz dzięki uwalnianiu czynników wzrostu z macierzy [26]. Głównym mechanizmem zapobiegającym nadmiernej proteolizie macierzy pozakomórkowej jest ścisła kontrola aktywacji tych enzymów pro-

teolitycznych. Wśród MMP najważniejszą rolę podczas angiogenezy odgrywają proteazy, które są połączone z błoną komórkową [26,39]. Dzięki nim dochodzi do proteolizy macierzy pozakomórkowej w najbliższym sąsiedztwie komórki, co uniemożliwia nadmierną i niekontrolowaną destrukcję macierzy pozakomórkowej. Ważnym mechanizmem samoograniczającym zakres trawienia kompartmentu pozakomórkowego są także same produkty degradacji tego kompartmentu [26]. Okazuje się bowiem, że fragmenty powstające pod wpływem proteolizy białek macierzy pozakomórkowej są silnymi (pobudzającymi lub hamującymi) regulatorami angiogenezy [26]. Najlepiej poznany białkami powstającymi w ten sposób są: angiostatyna oraz endostatyna, będące fragmentami odpowiednio: plazminogenu i kolagenu XVIII [26]. W ostatnim okresie bada się intensywnie potencjalnie stymulującą rolę kwasu hialuronowego w angiogenezie. Kwas hialuronowy jest jedynym niemającym grup siarczanowych glikozaminoglikanem wchodzącym w skład macierzy pozakomórkowej kregowców. Stymulacja powstawania nowych naczyń jest ułatwiona szczególnie wtedy, gdy kwas hialuronowy występuje w połączeniu z cytokinami angiogennymi, takimi jak VEGF, FGF.

Warto wspomnieć, że cała rodzina białek MMPs jest zaangażowana w liczne fizjologiczne i patologiczne zmiany zachodzące w układzie naczyniowym. Wśród nich wymienia się: remodeling naczyń, tworzenie płytki miażdżycowej, owrzodzenie płytki miażdżycowej, biorą także udział w patofizjologii powstawania restenozy, formowania się tętniaków aorty, w arteriogenezie i angiogenezie [11].

Kolejnym bardzo ważnym procesem zachodzącym podczas tworzenia nowego naczynia jest formowanie wielokomórkowych agregatów kształtem przypominających tuby [26]. Etap ten zachodzi dzięki przestrzennej, trójwymiarowej strukturze macierzy oraz dzięki bezpośredniemu kontaktowi komórek ze składnikami macierzy pozakomórkowej. Udowodniono bowiem, że ekspozycja hodowli komórkowej na kolagen typu I doprowadza do pobudzenia kaskad wewnątrzkomórkowych, co skutkuje aktywacją komórek [5]. Kolagen I poprzez interakcje z integrynami znajdującymi się na błonie komórek śródbłonna wpływa na reorganizację cytoszkieletu [5]. W wyniku tego procesu dochodzi do zmiany kształtu komórek na bardziej szpiczasty, co umożliwia ich lepsze przyleganie do siebie oraz organizację w kształcie przypominającym naczynie [5]. W tak uformowanej strukturze dochodzi następnie do wytwarzania pinocytarnych wodniczek w szczytowych (skierowanych do wnętrza powstającego naczynia) warstwach każdej z komórek [5]. Wodniczki te następnie ulegają fuzji i dzięki temu tworzą funkcjonalne światło naczynia [5].

Końcowym etapem formowania nowego naczynia krwionośnego jest jego dojrzewanie i stabilizacja [26]. Możliwe jest to m.in. dzięki odtworzeniu błony podstawnej oddzielającej komórki śródbłonna od składników macierzy pozakomórkowej [5]. Za syntezę biomolekuł kompartmentu pozakomórkowego są odpowiedzialne głównie nowo powstałe komórki endotelialne [5]. Następnie w obrębie ściany naczynia pojawiają się także komórki mięśni gładkich oraz pericyty, które spełniają nie tylko rolę podporową, ale także biorą udział w wytwarzaniu elementów macierzy pozakomórkowej [5].

Tabela 1. Antygeny błony komórkowej EPC i dojrzałych komórek śródbłonka

Antygeny błonowe	Progenitory komórek śródbłonka (EPC)	Dojrzałe komórki śródbłonka
CD34	+	-
CD133	+	-
VEGFR2 (KDR)	+	+
VE-kadheryna	-	+
von Willenbrand	-	+

KOMÓRKI

Drugim bardzo ważnym elementem biorącym udział w angiogenezie są komórki. Podczas rozwoju embrionalnego układ krążenia powstaje z angioblastu, wiadomo jednak, że w życiu postnatalnym komórka taka nie występuje [4]. Okazało się natomiast, że we krwi obwodowej osób dorosłych znajdują się komórki o podobnym do angioblastu potencjale różnicowania do śródbłonka [25]. Obecnie populację tych komórek nazywa się prekursorami komórek śródbłonka (endothelial progenitor cells – EPCs) [25]. Głównymi markerami błonowymi tej populacji są antygeny: CD133, CD34 oraz receptor VEGF (vascular endothelial growth factor receptor-2 – VEGFR-2, zwany także KDR lub Flk-1) [18,25]. Pierwszy marker CD133 czasem nazywany AC133 jest 120 kDa przezbłonowym białkiem, które ulega ekspresji na komórkach hemopoetycznych oraz progenitorowych pochodzących ze szpiku kostnego [18]. Dojrzałe komórki śródbłonka wykazują natomiast ekspresję VEGFR-2, VE-kadheryny oraz czynnika von Willenbranda (tab. 1). We krwi znajdują się także czasem EPC o charakterystyce pośredniej, tzn. bez CD133 przy obecności CD34, tę subpopulację niektórzy autorzy nazywają dojrzałymi progenitorami [18].

EPC powstają dzięki różnicowaniu się z komórek CD34+ rezydujących w szpiku kostnym. Obecnie powstają liczne teorie tłumaczące zaangażowanie progenitorów w utrzymaniu ciągłości i odbudowie endotelium. Wykazano, iż liczne czynniki mogą prowadzić do uwolnienia EPC ze szpiku kostnego i wydostania się ich do krążenia, skąd migrują w miejsca uszkodzenia układu naczyniowego [22,32]. Wśród najsilniejszych czynników biorących udział w mobilizacji progenitorów ze szpiku wymienia się niedokrwienie tkanek (mięśnia sercowego, kończyny dolnej czy gałki ocznej) [32]. Także wiele cytokin, czynników wzrostu wykazuje ten efekt, wśród nich znajdują się: VEGF, SDF-1 (stromal-derived factor-1), GM-CSF, SCF (stem cell factor) oraz leki [12,14,23,30,32,37].

Istnieją pewne rozbieżności w ocenie ilości EPC występujących we krwi osób zdrowych. Bezspornym jest, iż stanowią one bardzo mały odsetek wśród komórek krążących w naszych naczyniach [18]. W jednym z badań oceniono, że u zdrowych ludzi EPC stanowią około 0,002% wszystkich komórek jednojądrzastych krwi obwodowej [25]. Coraz liczniejsze doniesienia wskazują na dość dużą

zmiennosc liczyby tych komórek (obniżenie) u ludzi obciążonych różnymi chorobami lub tylko czynnikami ryzyka tych chorób [16,38]. Wpływ tych czynników na liczbę EPC tłumaczy się zaangażowaniem progenitorów w utrzymaniu ciągłości i odpowiedniej wydolności funkcjonalnej śródbłonka [16]. Czynniki ryzyka natomiast doprowadzają do uszkodzenia wyścieliska naczyniowego. Uszkodzenia te następnie muszą być naprawiane przez krążące EPC [16]. Jeden z teoretycznych, ale bardzo prawdopodobnych mechanizmów tłumaczących rozwój miażdżycy opiera się na założeniu, że wyczerpanie naturalnych „zapasów” szpikowych komórek progenitorowych śródbłonka prowadzi do braku możliwości naprawiania uszkodzeń śródbłonka powstałych pod wpływem czynników ryzyka choroby sercowo-naczyniowej [16,38]. Niewydolność w naprawie tych uszkodzeń doprowadza do zaburzenia funkcji wyścieliska naczyniowego, co sprzyja wykrzepianiu oraz obkurczeniu naczyń, a przez to ułatwia tworzenie się blaszki miażdżycowej [16,38].

Nie do końca poznano proces migracji i zagnieżdzenia się komórek prekursorowych w struktury nowo powstającego naczynia podczas angiogenezy. Udowodniono, że jedną z najważniejszych cytokin regulujących te zachowania komórki jest SDF-1 [40]. Jest to najsilniejszy znany czynnik chemotaktyczny EPC. Nie bez wpływu na pewno jest także VEGF, który reguluje proliferację i dojrzewanie progenitorów. Wciąż nie znamy jednak dokładnego momentu, w którym EPC przekształcają się w dojrzałe endotelium.

Należy pamiętać, że w skład ściany naczynia nie wchodzi tylko komórki endotelialne, ale także komórki mięśni gładkich oraz pericyty. Udowodniono, że także te składniki tętnicy „napływają” do formującego się naczynia podczas jego dojrzewania [5]. Ważnym regulatorem procesu dojrzewania naczynia są monocyty/makrofagi [28]. Wydaje się, że przez swoje zdolności do uwalniania licznych cytokin i czynników wzrostu (mechanizm parakryny) kontrolują one proces rekrutacji i interakcji między komórkami wchodzącymi w skład nowo powstałego naczynia. Głównym białkiem poprzez które monocyty wypełniają te zadanie jest MCP-1 [28].

CYTOKINY I CZYNNIKI WZROSTU

Najwięcej wiadomo i największe nadzieje wiąże się z wykorzystaniem czynników wzrostu do indukcji angiogenezy. Dowodzi tego choćby liczba badań klinicznych przeprowadzonych z użyciem białek albo genów kodujących cytokiny i czynniki wzrostu [7,8]. VEGF znajduje się wśród dobrze poznanych białek regulujących powstawanie nowych tętnic i żył. Czynnik ten odkryto w 1983 r. jako substancję zwiększającą przepuszczalność naczyń VPF (vascular permeability factor) (obserwowane działanie jest około 50 000 razy silniejsze od histaminy), później dopiero nadano mu obecną nazwę [wg 7,29]. Do rodziny VEGF zalicza się obecnie 6 białek: VEGF-A, -B, -C, -D, -E, oraz PlGF (placenta growth factor) [24]. Najlepiej poznanym i najczęściej wykorzystywanym klinicznie jest VEGF-A. Ten czynnik wzrostu może występować w pięciu różnych postaciach, które między sobą różnią się ilością aminokwasów w cząsteczce (121, 145, 165, 189, lub 206) [24]. Poszczególne postaci powstają pod wpływem alternatywnej obróbki posttrans-

lacyjnej. Liczba aminokwasów ma wpływ na właściwości poszczególnych postaci VEGF-A: ich rozpuszczalność, biodostępność, oraz oddziaływanie na receptor.

VEGF syntetyzowany jest przez liczne komórki, m.in. śródbłonek, komórki guza, makrofagi, limfocyty T, komórki mięśni gładkich, komórki nerki, keratocyty, astrocyty oraz osteoblasty [19,36]. Głównym czynnikiem transkrypcyjnym regulującym syntezę VEGF w niedotlenionej komórce jest HIF-1 (hypoxia inducible factor-1), który reguluje ekspresję białek odpowiedzi na ischamię poprzez oddziaływanie na HRE (hypoxia response element) znajdujący się w obrębie promotora VEGF [1].

VEGF oddziałuje na komórki poprzez swoje receptory, przez błonowe białka zawierające domeny kinazy tyrozynowej [24]. Po przyłączeniu ligandu dochodzi do autofosforylacji receptora, co prowadzi do aktywacji wielu wewnątrzkomórkowych szlaków przekazywania sygnałów [24]. Dotąd zidentyfikowano 3 receptory nazwane: VEGFR-1,-2,-3. Dwa pierwsze można znaleźć na komórkach śródbłonna, w tym VEGFR-2 na EPC (patrz wyżej), natomiast VEGFR-3 biorący udział głównie w regulacji tworzenia naczyń limfatycznych na komórkach śródbłonna limfatycznego [24]. Receptory VEGF współpracują z białkami zwanymi neuropilinami 1, 2 [24]. Do aktywacji złożonych szlaków sygnałowych nie wystarczy jednak połączenie neuropiliny z ligandem, potrzebne jest także pobudzenie VEGFR. Neuropiliny odgrywają tutaj funkcję koreceptora VEGFR [24].

Główne skutki biologiczne VEGF polegają na modulowaniu biologii komórek śródbłonna. Białko reguluje także rozwój układu naczyniowego oraz wielu narządów w życiu płodowym [4]. Podczas embriogenezy stymuluje rozwój aorty oraz innych tętnic, układu żylnego i limfatycznego, bierze udział w regulacji układawania wątroby, trzustki, kłębuszków nerkowych [4]. VEGF jest bardzo silnym mitogenem dla komórek śródbłonna, wpływa także na przeżycie tych komórek, przez regulację procesów związanych z zaprogramowaną śmiercią komórki (apoptozą) [13]. Ten czynnik wzrostu jest także chemoatraktantem dla EPC i komórek endotelialnych jednak słabszym od SDF-1. VEGF reguluje nie tylko podziały, ale także różnicowanie komórek, ich dojrzewanie w śródbłonek oraz formowanie wielokomórkowych struktur w postaci rurek. Białko to jest czułym wskaźnikiem niedotlenienia tkankowego. Jego stężenie wzrasta u pacjentów z niedokrwieniem kończyn dolnych i mięśnia sercowego [2,17]. Wykazano, iż występuje wzmożona ekspresja tego czynnika wzrostu w dystalnie położonych (stopa) niedokrwionych tkankach, szczególnie w okolicy zmian martwiczych i owrzodzeń [2]. Stężenie tego białka stopniowo wzrasta także po wystąpieniu zawału mięśnia sercowego, by osiągnąć najwyższe stężenie w 14. dobie [17]. Uważa się, że VEGF jest odpowiedzialny za początkowe etapy angiogenezy, reguluje i stymuluje inicjację procesu. Natomiast w kolejnych etapach (zwłaszcza

dojrzwiania naczynia) niezbędne jest współdziałanie także innych czynników i cytokin.

SDF-1 jest bardzo silną chemokiną prowadzącą m.in. do uwolnienia komórek pnia ze szpiku kostnego [14,40]. Stężenie tego czynnika według badań na modelu zwierzęcym wzrasta już po 24 h od eksperymentalnie wywołanego uszkodzenia tętnicy szyjnej, co koreluje ze wzrostem ilości krążących progenitorów we krwi i ich migracją do ogniska uszkodzenia [27]. Główną rolą omawianej chemokiny jest „przyciąganie” komórek progenitorowych do miejsca uszkodzenia endotelium lub niedokrwienia, oraz odbudowa łożyska naczyniowego. Ukierunkowany ruch komórek niezróżnicowanych jest uzależniony od interakcji receptora CXCR4 z omawianą chemokiną [40]. Receptor CXCR4 należy do większej rodziny receptorów CXCR, jest odpowiedzialny za reakcję komórki na SDF-1 [40]. Progenitory wykazują migrację w kierunku wzrastającego stężenia SDF-1 [40]. Dlatego doświadczałe podanie przeciwciał anti-SDF-1 skutkowało zahamowaniem tworzenia neointymy oraz zmniejszeniem liczby komórek mięśniowych w tętnicy po urazie [27].

Końcowe etapy powstawania nowego naczynia krwionośnego pozostają pod kontrolą białek Ang-1 i Ang-2, które łączą się ze swoim receptorem komórkowym Tie-2. Ang-1 pobudza, natomiast Ang-2 hamuje działanie tego receptora [wg 9]. Ang-1 mediuje dojrzewanie naczyń w bardziej złożone i większe struktury, wpływa na spójność i stabilizację całego naczynia poprzez rekrutację komórek periendoelitalnych i tworzenie błony podstawnej [9]. Związek ten odpowiedzialny jest także za tworzenie bocznic od nowo powstałej tętnicy. Ang-2 (antagonista Ang-1) szczególnie przy nieobecności VEGF może powodować regresję komórek śródbłonna [9]. Jednak przy dłuższym okresie ekspozycji na duże stężenia Ang-2 może wykazywać efekty analogiczne do agonisty Tie-2 [33]. Rola angiopietin w angiogenezie jest bardzo istotna, uważa się, iż obecność tych związków jest niezbędna do rozwoju prawidłowego naczynia krwionośnego. Na podstawie ostatnich doniesień Ang-1 pełni rolę substancji „uszczelniającej” nowo powstałych struktur naczyniowych. Nie ulega wątpliwości, że do powstania prawidłowego łożyska naczyniowego niezbędne jest współdziałanie VEGF i Ang-1 [35].

PODSUMOWANIE

Angiogeneza jest bardzo skomplikowanym, wieloetapowym procesem podczas którego niezbędne są skoordynowane interakcje zachodzące między macierzą pozakomórkową, komórkami i cytokinami. Ze względu na złożoność całego procesu trudno jest skutecznie ingerować w tworzenie nowych naczyń krwionośnych u ludzi. Pewnym rozwiązaniem wydają się próby podawania pacjentom różnych czynników wzrostu lub komórek i czynników wzrostu jednocześnie.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Barańska P., Jerczyńska H., Pawłowska Z.: Czynniki wzrostu śródbłonna naczyń – budowa i funkcja. *Post. Biochem.*, 2005; 51: 12–21
- [2] Choksy S., Pockley A.G., Wajeh Y.E., Chan P.: VEGF and VEGF receptor expression in human chronic critical limb ischemia. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.*, 2004; 28: 660–669

- [3] Conway E.M., Collen D., Carmeliet P.: Molecular mechanisms of blood vessel growth. *Cardiovasc. Res.* 2001; 49: 507–521

- [4] Coultas L., Chawengsaksophak K., Rossant J.: Endothelial cells and VEGF in vascular development. *Nature*, 2005; 438: 937–945

- [5] Davis G.E., Senger D.R.: Endothelial extracellular matrix: biosynthesis, remodeling, and functions during vascular morphogenesis and neovessel stabilization. *Circ. Res.*, 2005; 97: 1093–1107
- [6] Eliceiri B.P., Cheresh D.A.: The role of α v integrins during angiogenesis: insights into potential mechanisms of action and clinical development. *J. Clin. Invest.*, 1999; 103: 1227–1230
- [7] Epstein S.E., Fuchs S., Zhou Y.F., Baffour R., Kornowski R.: Therapeutic interventions for enhancing collateral development by administration of growth factors: basic principles, early results and potential hazards. *Cardiovasc. Res.*, 2001; 49: 532–542
- [8] Epstein S.E., Kornowski R., Fuchs S., Dvorak H.F.: Angiogenesis therapy amidst the hype, the neglected potential for serious side effects. *Circulation*, 2001; 104: 115–119
- [9] Fam N.P., Verma S., Kutryk M., Stewart D.J.: Clinician guide to angiogenesis. *Circulation*, 2003; 108: 2613–2618
- [10] Felmeden D.C., Blann A.D., Lip G.Y.: Angiogenesis: basic pathophysiology and implications for disease. *Eur. Heart J.*, 2003; 24: 586–603
- [11] Galis Z.S., Khatri J.J.: Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis the good, the bad, and the ugly. *Circ. Res.*, 2002; 90: 251–262
- [12] Grafte-Faure S., Leveque C., Ketata E., Jean P., Vasse M., Soria C., Vannier J.P.: Recruitment of primitive peripheral blood cells: synergism of interleukin 12 with interleukin 6 and stromal cell-derived factor-1. *Cytokine*, 2000; 12: 1–7
- [13] Grosjean J., Kiriakidis S., Reilly K., Feldmann M., Paleolog E.: Vascular endothelial growth factor signalling in endothelial cell survival: a role for NFKappaB. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006; 340: 984–994
- [14] Hattori K., Heissig B., Tashiro K., Honjo T., Tateno M., Shieh J.H., Hackett N.R., Quitoriano M.S., Crystal R.G., Rafii S., Moore M.A.: Plasma elevation of stromal cell-derived factor-1 induces mobilization of mature and immature hematopoietic progenitor and stem cells. *Blood*, 2001; 97: 3354–3360
- [15] Heil M., Schaper W.: Influence of mechanical, cellular, and molecular factors on collateral artery growth (arteriogenesis). *Circ. Res.*, 2004; 95: 449–458
- [16] Hill J.M., Zalos G., Halcox J.P., Schenke W.H., Waclawiw M.A., Quyyumi A.A., Finkel T.: Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N. Engl. J. Med.*, 2003; 348: 593–600
- [17] Hojo Y., Ikeda U., Zhu Y., Okada M., Ueno S., Arakawa H., Fujikawa H., Katsuki T., Shimada K.: Expression of vascular endothelial growth factor in patients with acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2000; 35: 968–973
- [18] Hristov M., Erl W., Weber P.C.: Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2003; 23: 1185–1189
- [19] Iijima K., Yoshikawa N., Connolly D.T., Nakamura H.: Human mesangial cells and peripheral blood mononuclear cells produce vascular permeability factor. *Kidney Int.*, 1993; 44: 959–996
- [20] Ingber D.E. Mechanical signaling and the cellular response to extracellular matrix in angiogenesis and cardiovascular physiology. *Circ. Res.*, 2002; 91: 877–887
- [21] Jackson C.: Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 2002; 11: 295–299
- [22] Jackson K.A., Majka S.M., Wang H., Pocius J., Hartley C.J., Majesky M.W., Entman M.L., Michael L.H., Hirschi K.K., Goodell M.A.: Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J. Clin. Invest.*, 2001; 107: 1395–1402
- [23] Lataillade J.J., Clay D., Dupuy C., Rigal S., Jasmin C., Bourin P., Le Bousse-Kerdiles M.C.: Chemokine SDF-1 enhances circulating CD34(+) cell proliferation in synergy with cytokines: possible role in progenitor survival. *Blood*, 2000; 95: 756–768
- [24] Namiecińska M., Marciniak K., Nowak J.Z.: VEGF jako czynnik angiogeny, neurotrofi czny i neuroprotekcynny. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 573–583
- [25] Peichev M., Naiyer A.J., Pereira D., Zhu Z., Lane W.J., Williams M., Oz M.C., Hicklin D.J., Witte L., Moore M.A., Rafii S.: Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood*, 2000; 95: 952–958
- [26] Pepper M.S.: Role of the matrix metalloproteinase and plasminogen activator–plasmin systems in angiogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001; 21: 1104–1117
- [27] Schober A., Knarren S., Lietz M., Lin E.A., Weber C.: Crucial role of stromal cell-derived factor-1 in neointima formation after vascular injury in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*, 2003; 108: 2491–2497
- [28] Schwarz E.R., Meven D.A., Sulemanjee N.Z., Kersting P.H., Tussing T., Skobel E.C., Hanrath P., Uretsky B.F.: Monocyte chemoattractant protein 1-induced monocyte infiltration produces angiogenesis but not arteriogenesis in chronically infarcted myocardium. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.*, 2004; 9: 279–289
- [29] Senger D.R., Connolly D.T., Van de Water L., Feder J., Dvorak H.F.: Purification and NH₂-terminal amino acid sequence of guinea pig tumor-secreted vascular permeability factor. *Cancer Res.*, 1990; 50: 1774–1778
- [30] Shintani S., Murohara T., Ikeda H., Ueno T., Honma T., Katoh A., Sasaki K., Shimada T., Oike Y., Imaizumi T.: Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*, 2001; 103: 2776–2779
- [31] Tabibiazar R., Rockson S.G.: Angiogenesis and the ischaemic heart. *Eur. Heart J.*, 2001; 22: 903–918
- [32] Takahashi T., Kalka C., Masuda H., Chen D., Silver M., Kearney M., Magner M., Isner J.M., Asahara T.: Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization. *Nat. Med.*, 1999; 5: 434–438
- [33] Teichert-Kuliszewska K., Maisonpierre P.C., Jones N., Campbell A.I., Master Z., Bendeck M.P., Alitalo K., Dumont D.J., Yancopoulos G.D., Stewart D.J.: Biological action of angiopoietin-2 in a fibrin matrix model of angiogenesis is associated with activation of Tie2. *Cardiovasc. Res.*, 2001; 49: 659–670
- [34] The Medical Biochemistry Page <http://web.indstate.edu/thcme/mwking/extracellularmatrix.html> (03.10.2005)
- [35] Thurston G., Rudge J.S., Ioffe E., Zhou H., Ross L., Croll S.D., Glazer N., Holash J., McDonald D.M., Yancopoulos G.D.: Angiopoietin-1 protects the adult vasculature against plasma leakage. *Nat. Med.*, 2000; 6: 460–463
- [36] Tischer E., Gospodarowicz D., Mitchell R., Silva M., Schilling J., Lau K., Crisp T., Fid-des J.C., Abraham J.A.: Vascular endothelial growth factor: a new member of the platelet-derived growth factor gene family. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1989; 165: 1198–1206
- [37] Vasa M., Fichtlscherer S., Adler K., Aicher A., Martin H., Zeiher A.M., Dimmeler S.: Increase in circulating endothelial progenitor cells by statin therapy in patients with stable coronary artery disease. *Circulation*, 2001; 103: 2885–2890
- [38] Vasa M., Fichtlscherer S., Aicher A., Adler K., Urbich C., Martin H., Zeiher A.M., Dimmeler S.: Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ. Res.*, 2001; 89: E1–E7
- [39] Visse R., Nagase H.: Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases structure, function, and biochemistry. *Circ. Res.*, 2003; 92: 827–839
- [40] Yamaguchi J., Kusano K.F., Masuo O., Kawamoto A., Silver M., Murasawa S., Bosch-Marce M., Masuda H., Losordo D.W., Isner J.M., Asahara T.: Stromal cell-derived factor-1 effects on *ex vivo* expanded endothelial progenitor cell recruitment for ischemic neovascularization. *Circulation*, 2003; 107: 1322–1328