

Имунски и инфламаторни аспекти атеросклерозе

Dr Петар Поповић^{*}, кап. I кл. mr sc. med. Драган Динчић[†], dr Анита Поповић-Милатовић[†], dr Тања Бановић^{*}, dr Биљана Драшковић-Павловић^{*}

Војномедицинска академија, ^{*}Институт за медицинска истраживања,
[†]Клиника за кардиологију, Београд, [†]Институт за кардиоваскуларне болести
"Дедиње", Београд

К л ј у ч н е р е ч и : атеросклероза; имунски фактори; запаљенје; апоптоза.

Key words: atherosclerosis; immunologic factors; inflammation; apoptosis.

Атеросклероза је метаболичко, хронично, инфламаторно, имунолошко посредовано обољење зида артеријског крвног суда. Она је споро прогресивна, мултифакторска болест која почиње у раном детињству, а постаје клинички манифестна у каснијем животном добу. Нажалост појава клиничких симптома знак је већ развијене, најчешће мултифокусне болести са неизвесном прогнозом. Упркос великој пажњи која се посвећује њеном проучавању ни до данас нису потпуно разјашњени патогенетски механизми настанка и прогресије лезија. На основу многобројних фактора повезаних са настанком и брзином прогресије атеросклеротских лезија, као и склоношћу за појаву клинички испољене болести предлагано је више хипотеза о патогенези атеросклерозе (1). Поред теорије о проатеросклеротском дејству модификованих липопротеина мале густине, највећу пажњу савремених истраживача закупа теорија о неадекватној имунолошкој реакцији у зиду артеријског крвног суда. Ова теорија претпоставља да се ради о инфламаторној реакцији, која је последица хроничне стимулације (2).

Имунолошка збивања дуго су сматрана секундарним догађајем. Међутим, резултати многобројних скорашњих истраживања говоре да хуморалне и ћелијске имунске реакције активно учествују у свим стадијумима атеросклерозе (3). У прилог томе говоре и данас прихваћене, главне карактеристике атеросклерозе: 1. при-

суство лимфоцита Т и макрофага у лезији, 2. модулација фенотипа васкуларних глатко мишићних ћелија (VSMC – vascular smooth muscle cells), њихова пролиферација и синтеза екстрацелуларног матрикса и 3. нагомилавање липида екстрацелуларно и интрацелуларно у макрофагима и VSMC (4).

Инфламација у артеријском зиду може се наћи почев од најраније животне доби, а према истраживањима на животињском моделу овај примарни стадијум је реверзибилан. Присуство познатих фактора ризика води, међутим, убрзаном настанку теже лезије, чија реверзибилност је још увек контроверзна. Међутим, иако присуство макрофага и лимфоцита Т у атеросклеротским плаковима говори о активном учествовању имунског система у овом обољењу, постоје и размишљања да ове ћелије могу бити просто ухваћене од стране елемената присутних у атеросклеротском плаку (5).

Прихватањем тезе о активном учествовању имунског система намеће се питање да ли се ради о неспецифичној инфламацији као реакцији на неки облик хроничне иритације (2) или је у питању специфична, односно инфламација као реакција према тачно одређеном антигену, на чији значај указују новија истраживања која говоре о могућој улози хроничне инфекције или аутоимуности (6). Не треба заборавити да су атеросклеротске лезије, агресивно развијене на трансплантованом органу, последица специфичне, ауто-

логне, имунолошке реактивности. Док је неспецифична реакција покренута повредом или продукцијом распаднутих ћелија, специфична имунска инфламација иницирана је препознавањем антигена од стране сензибилизираних лимфоцита Т или антитела, иако се у оба случаја активирају исти ефекторски механизми. Нажалост, независно од природе иницијалног фактора покренути ефекторски механизми, уколико нису адекватно контролисани, могу да организму нанесу више штете него користи (7). Поред још непознатог покретача процеса атеросклерозе, недовољно су јасне и међућелијске интеракције између главних актера, односно ћелија које испољавају главне ефекторске функције (6).

На крају, с обзиром на сазнања да се атеросклероза агресивно развија код мишева са тешким имунодефицијенцијама, додатно се отвара питање: да ли је присуство инфламаторне реакције повољно или неповољно у свим фазама развоја атеросклеротске лезије (3)?

Поред већ наведених, отворених питања, нејасно је и да ли је инфламација код атеросклерозе примарна или секундарна појава, затим, којим механизмом настанаје и одржава се неспецифична инфламација, односно према ком антигену је управљена имунска реакција уколико је она специфична, као и каква је веза између инфламације, акумулације липида и пролиферације VSMC? Иако се ни на једно од ових питања још увек не може са сигурношћу одговорити, скорашњи резултати дају значајне смернице за боље разумевање улоге инфламације у атеросклерози, као и евентуалне могућности за превенцију и терапију.

Данас је јасно да активну улогу у развоју процеса атеросклерозе имају како ћелије нормално присутне у зиду артеријског крвног суда, тако и ћелије имунског система и њихови солубилни продукти.

Ендотелне ћелије

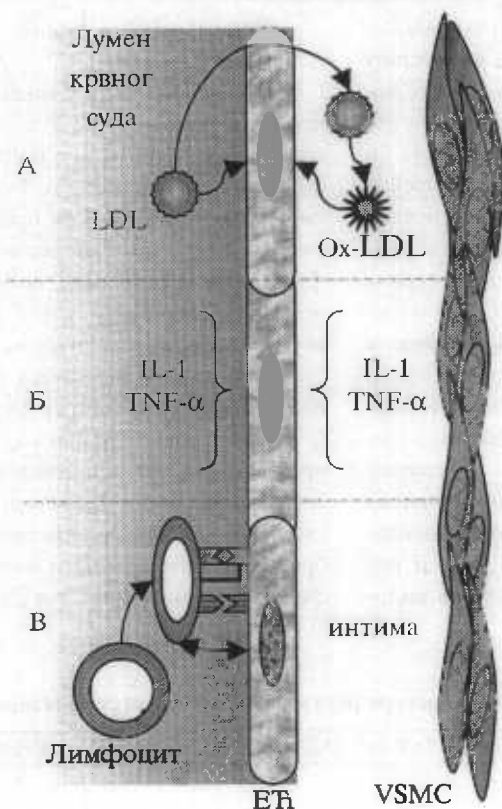
Ендотелне ћелије васкуларног корита чине metabolički активну, високо селективно пропустиву баријеру, која у физиолошким условима не подстиче приљубљивање тромбоцита и стварање тромба, нити потпомаже припајање и миграцију леукоцита у субендотелни простор. Тиме ендотелне ћелије крвних судова чине значајну мембрану између крви и ткива, односно васкуларног лумена и интима и васкуларне медије (8).

У хиперпластичкој артеријској болести као што је атеросклероза ендотелне ћелије губе особину антикоагулантне функције и постају лепљиве услед повећане експресије адхезионих молекула, док повећаном продукцијом и секрецијом фактора раста и хемотаксе омогућавају настанак инфламације. Адхезиони молекули, као молекули који су одговорни за међућелијску интеракцију, као и за интеракцију ћелија са екстрацелуларним матриксом, својим присуством на ћелијској мембрани ендотела омогућавају адхезију и агрегацију

тромбоцита, као и адхезију и екстравазацију леукоцита. Иако је присуство адхезионих молекула на површини ендотелних ћелија потврђено, до данас није показана специфична улога ни једног од њих у процесу хумане атерогенезе (9). Многобројна експериментна истраживања на животињама показују да активација ендотелних ћелија и испољавање адхезионих молекула може бити примарни процес у атеросклерози, који се даље амплификује и одржава у условима присутне инфламације. Адхезија мононуклеусних ћелија из крви (моноцита и Т лимфоцита) за васкуларне ендотелне ћелије посредована је интерцелуларним адхезионим молекулом-1 (ICAM-1) и васкуларним адхезионим молекулом (VCAM-1) на ендотелним ћелијама и леукоцитним функционалним антигеном-1 (LFA-1) и VLA-4 (very late antigen-4) молекулима на мононуклеусним ћелијама (10). С обзиром на то да се антителима према ICAM-1 и VCAM-1 не спречавају потпуно адхезиони процеси, претпоставља се улога и других молекула. Како се адхезија моноцита за ендотел у експериментно индукованој атеросклерози дијетом може спречити антителима према мембранском сијалофорину CD43 (11), овај молекул можда има важну улогу и могао би бити мета за терапију. CD43 је мембрански молекул из фамилије сијаломулина присутан на свим леукоцитима изузев циркулишућих лимфоцита В. Везујући се за ICAM-1, претпоставља се да има улогу у активацији лимфоцита Т, али није сасвим јасно да ли поспешује или спречава адхезионе процесе (11). Иако је очигледно да су ендотелне ћелије на месту атеросклеротске лезије активирани, још увек се са сигурношћу не може рећи који су стимулуси одговорни за покретање и одржавање ендотелне дисфункције (слика 1).

Данас је највећи број присталица теорије да је активација ендотела, индукована дислипидемијом, иницијални стадијум који покреће атеросклеротску каскаду (12). Тако је показано да после увођења дијете богате холестеролом врло брзо долази до фокалне експресије VCAM-1 на предилекционим местима (10). Састојак модификованих липопротеина, лизофосфатидил холин, активира преписивање гена за VCAM-1 у ендотелне ћелије (13). Липопротеин (a) – Lp(a), међутим, дозно зависно индукује појаву ICAM-1 на ендотелним ћелијама, док не утиче на испољавање VCAM-1 и Е-селектина (14). Осим тога, и нативни липопротеини мале густине (LDL low density lipoprotein), везујући се за LDL-рецептор, повећавају концентрацију VCAM-1 и Е-селектина на хуманим васкуларним ендотелним ћелијама (15) (слика 1A).

С друге стране, експресију ових молекула изазивају и појачавају фактор некрозе тумора- α (TNF- α) и интерлеукин-1 β (IL-1 β), који могу водити порекло или из циркулације, или из самог васкуларног зида (13), а део су постојећег локалног или системске инфламаторне реакције (слика 1B). Поред индукције испољавања адхезионих молекула, цитокини доводе до



LDL – липопротеини мале густине; Ox-LDL – оксидовани LDL; ЕЋ – ендотелна ћелија; VSMC – ћелија васкуларних глатких мишића

Сл. 1 – Могући механизми активације ендотелних ћелија у атеросклерози.

Директни утицај нативних и измењених липопротеина (А); активација цитокинима (Б); активација лимфоцитима услед препознавања антигена (В).

бројних промена на ендотелним ћелијама. IL-1 и TNF- α доводе до промена прокоагулантних и фибринолитичких карактеристика ендотела, при чему површина ендотела постаје тромбогена. Мењајући морфолошке карактеристике ендотела, утичу на продукцију азотномоксида (NO) и простаглицина и индукују ендотел на синтезу цитокина (табела 1), чиме се њихово проинфламаторно деловање амплификује (16, 17). Као активатори ендотелних ћелија IL-1 и TNF- α индукују синтезу специфичних мембранских гликопротеина, индукују прераспodelу цитоскелета ендотелних ћелија и повећавају синтезу фактора активације тромбоцита (PAF platelet activation factor). PAF је фосфолипид са могућим проинфламаторним и тромбогеним особинама. На његов специфични значај у атеросклерози указује податак да су PAF-у сличне компоненте присутне у оксидованом LDL (Ox-LDL) и да се блокадом рецептора за PAF потпуно блокира ефекат Ox-LDL-а на периферне мононуклеаре да секретују интерферон- γ (IFN- γ), а делимично и TNF- α (18). Наведени цитокини, такође, стимулишу ендотелне ћелије да продукцију

IL-8 који снажно привлачи и активира леукоците. Поред тога што повећавају пермеабилност и миграцију ћелија, цитокини индукују ендотелне ћелије да продукују фактор раста порекла из тромбоцита (PDGF), који стимулише пролиферацију VSMC. Улазак леукоцита кроз морфолошки интактан ендотел укључује и директну миграцију као одговор на друге цитокине, тзв. хемокине, укључујући моноцитни хемотактички протеин-1 (MCP-1) локализован у атеросклеротској лезији (13).

Поред наведених, у новијој литератури се наводи могућност активације ендотела као последице препознавања антигена од стране сензибилизисаних лимфоцита Т на ендотелним ћелијама (слика 1В). Од великог значаја у могућој специфичној имунској реакцији је присуство молекула главног комплекса ткивне подударности (MHC – major histocompatibility complex) класе II (молекула у оквиру кога се презентују антигени) и CD28 молекула (активацијског ко-стимулативног молекула) на ендотелним ћелијама, чиме оне имају могућност да активирају меморијске

лимфоците Т (19). Показано је, такође, да хумане ендотелне ћелије активирају лимфоците Т за продукцију IL-2 и IFN- γ), али не и за IL-4, као и да тај ефекат није посредован преко CD28 молекула. Уколико се потврди значај ове активације у атеросклерози, било би неопходно утврдити идентитет коstimулаторског сигнала у контакту између ендотелних ћелија и лимфоцита Т, што би евентуално био мета за специфичну имunosупресивну терапију (20). Један од могућих је сигнал који је последица интеракције CD40 молекула на ендотелним ћелијама са CD40-лигандом (CD40-L) на лимфоцитима Т. Лигација CD40 који постоји на различитим типовима активисаног и нормалног ендотела (6) индукује на њему испољавање Е-селектина, VCAM-1 и ICAM-1 молекула. У случају атеросклерозе интеракција CD40L на лимфоцитима Т са CD40 на ендотелним ћелијама повратно повећава експресију CD40L на лимфоцитима Т, као и већ наведено испољавање адхезионих молекула на ендотелу.

Ћелије глатких мишића

Васкуларне глатко мишићне ћелије су значајне за процес атеросклерозе. У интими артеријског зида се налазе појединачно, док густо збијене чине главни састојак васкуларне медије. Функционално се данас разликује више типова – од превасходно контрактилних, па до оних са доминантно метаболичко-секреторском функцијом. Стварањем компонената екстрацелуларног матрикса имају улогу у процесима репарације општењеног зида крвног суда, слично улози фибробласта у процесима зарастања ране (22). Међутим, када дође до њихове пролиферације, миграције и поремећаја функције, постају фактор који активно учествује у прогресији и дестабилизацији плака (слика 2). Метаболички активни, секреторски фенотип VSMC учествује у наведеним процесима и путем секреције бројних фактора раста и цитокина (табела 1). Пролиферација и миграција регулисани су растворљивим ме-

Табела 1

Порекло цитокина и фактора раста у атеросклеротској лезији

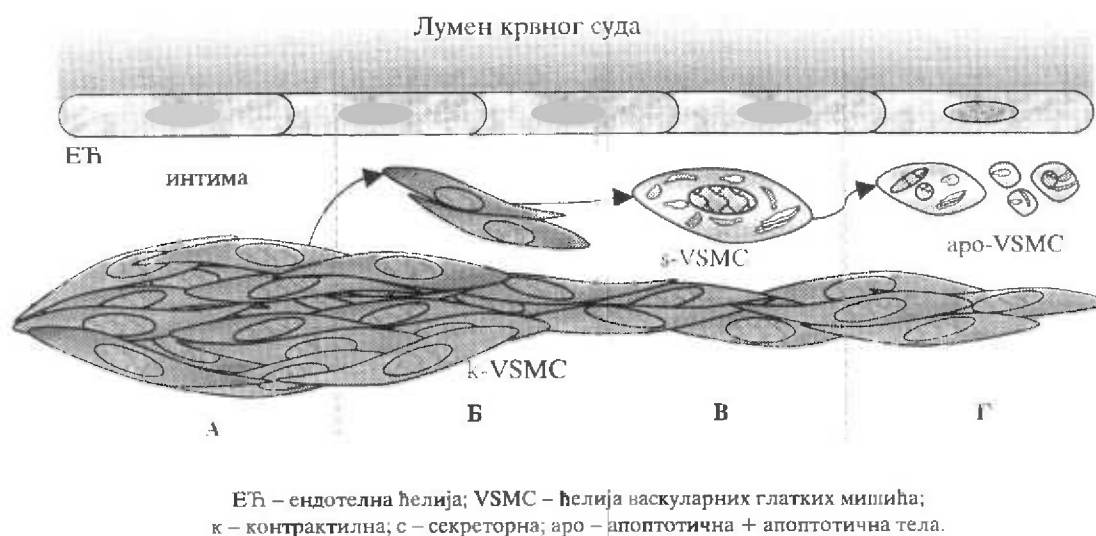
Ћелије	IL-1	IL-2	IL-8	TNF- α	INF- γ	PDGF	bFGF	HB-EGF	TGF- β
Ећ	+		+			+	+	+	
VSMC	+			+		+	+		+
Макрофаги	+			+		+	+	+	
Лимфоцити	+	+		+	+		+	+	
Тромбоцити	+					+			+

Ећ – ендотелне ћелије; VSMC – ћелије васкуларних глатких мишића

телу, чиме се олакшава миграција мононуклеусних ћелија у субендотелни простор. Антитела према CD40L смањују развој атеросклерозе код предиспонираних животиња (хиперлипидемичних мишева) редукујући величину плака за 59%, количину липида у плаку за 79%, број макрофага за 64% и лимфоцита Т за 70%, као и смањење испољавања VCAM-1 (21). С обзиром на то да активација CD40 молекула на ћелијама у плаку води продукцији цитокина, маталопротеина, експресији адхезионих молекула и ткивног фактора, тешко је рећи који је од наведених ефеката одговоран за супресивно дејство анти-CD40 антитела (10).

Још увек се са сигурношћу не може рећи да ли стимулуси који активирају ендотел код атеросклерозе долазе из лумена или из зида крвног суда, што би указивало на примарни догађај. Према једној теорији почетно општење ендотела води атеросклерози уколико је хронично, јер у тим условима уместо репарације долази до хроничне инфламације (2). У сваком случају, без обзира на примарни узрок, активисани ендотел поред локалног накупљања тромбоцита омогућује адхезију моноцита и лимфоцита Т и њихов улазак у субендотелни простор, чиме се започиње и одржава инфламаторни процес у зиду крвног суда.

дијаторима, односно подстакнути су факторима раста насталим у интеракцији општењеног ендотела и адхерисаних ћелија из крви (23). После општења интима долази до пролиферације VSMC интима и медије, као и њихове миграције из медије у интиму. Ови процеси су под утицајем фактора раста: PDGF и базног фактора раста фибробласта (bFGF – basic fibroblast growth factor). Истовремено, присутне VSMC секреторног фенотипа испољавају и до 20 пута више рецептора за bFGF, што још више доприноси њиховој пролиферацији (1). Поред наведених фактора раста и IL-1 ослобођен из макрофага (13), као и из тромбоцита, стимулише пролиферацију VSMC која се може блокирати природним IL-1 рецептор антагонистом (IL-1ra) (24). Значајна улога у атеросклерози показана је и за хепарин везујући епителни фактор раста (HB-EGF, – heparin binding epithelial growth factor) (25), снажни активатор пролиферације и миграције VSMC. Уз наведене стимулаторе у плаку су присутни и инхибитори раста, INF- γ и фактор трансформације раста тумора-бета (TGF- β). Студије са ћелијским културама су показале да је INF- γ снажан инхибитор пролиферације, VSMC и ендотела. Истовремено са инхибицијом пролиферације, INF- γ значајно смањује синтезу колагена, а доводи и до поја-



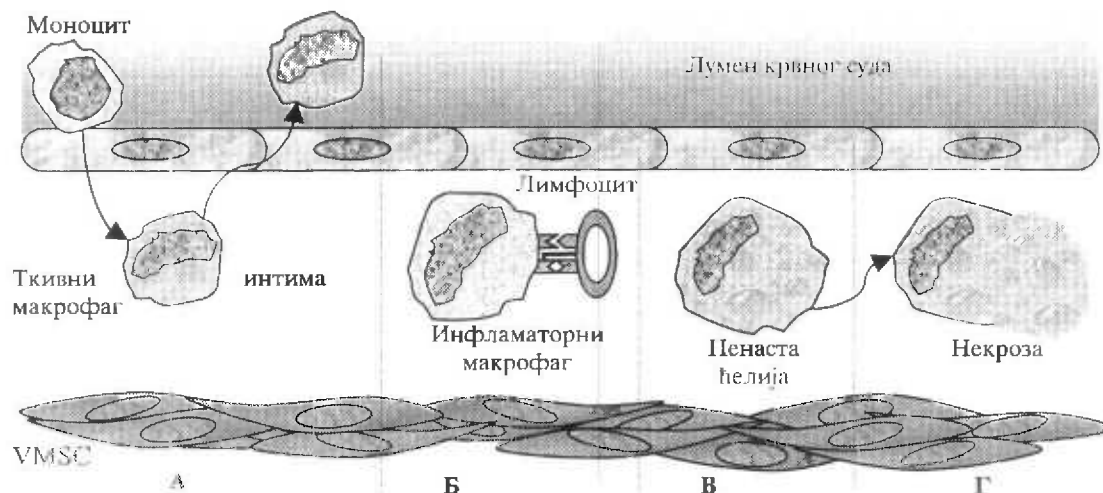
Сл. 2 – Карактеристике ћелија васкуларних глатких мишића код атеросклерозе. Пролиферација (А); миграција у субендотелни простор (Б); секреторни фенотип (В); апоптоза (Г).

ве молекула МНС на мембрану VSMC (26). Присуство ових молекула на VSMC у плаку, слично присуству на ћелијама попречнопругастих мишића код инфламаторних болести мишића, говори јасно за присуство инфламације, али није јасно да ли та појава има значаја за њено одржавање и амплификацију или је само њена последица. Под дејством разних стимулуса на мембрани VSMC појављују се "скевенџер" рецептори – рецептори "хватачи" (SR – scavenger receptor), који преузимају липиде и тако се VSMC претварају у пенасте ћелије. Најзад, секреторне VSMC имају протективну улогу, јер производе аполипопротеин Ј (APO-J) који транспортује холестерол из крвних судова у

јетру. APO-J је присутан у атеросклеротски измењеном зиду, али га нема у зиду здравог крвног суда (27).

Макрофаги

Макрофаги се појединачно налазе у нормалној интими, а 2,5 пута их је више код старијих особа него код деце. Њихова физиолошка улога је функција чишћавања продуката метаболизма липида јер преузимају нативне и измењене липопротеине, излучују аполипопротеин-Е (APO-E) липопротеинску липазу, уклањају оштећене ћелије и имуне комплексе и учествују у уклањању зидних тромба (слика 3А). Синтетишу и излучују



ЕЋ – ендотелна ћелија; VSMC – васкуларна глатко мишићна ћелија.

Сл. 3 – Функционалне карактеристике макрофага у зиду крвног суда.

факторе раста и матриксне металлопротеиназе (MMP), чиме учествују у поновном обликовању (ре-моделовању) оштећене интими. Са друге стране, у одређеним условима макрофаги снажно подстичу имунолошку реакцију, ослобађајући цитокине и факторе раста и активишући лимфоците (слика 3Б) (8).

У експериментном моделу атеросклерозе, индуковане дијетом богатом холестеролом, моноцити су прве ћелије које се налазе уз ендотел после чега мигрирају у субендотелни простор где гутају оксидовани холестерол и претварају се у пенасте ћелије (слика 3В) (2). Популација макрофага у плаку није хомогена. Наиме, у фиброзној капи доминира фенотип са експресијом молекула МНС класе II. Истовремено на овим ћелијама недостаје CD36 молекула који препознаје апоптотичне ћелије и оксидоване липопротеине, што говори о имунолошкој активности ових макрофага. Насупрот томе, макрофаги у близини атерома имају много CD36 молекула, немају МНС и показују морфологију пенастих ћелија. Дакле, са функционалне тачке гледишта макрофаги могу да се развијају у два правца. Први, индукован цитокинима или липополисахаридима бактерија води макрофаге у активацију за прераду и презентацију антигена, док други у одсуству проинфламаторних стимулуса карактерише обилато преузимање и катаболизам липопротеина и секреција липазе (26). Једна од важних функција макрофага је продукција и лучење холестерола. Истовремено је показано да интраћелијски садржај холестерола утиче на пролиферацију лимфоцита. У кокултивацији са макрофагама лимфоцити увећају садржај холестерола двоструко и смањено пролиферишу на уобичајене стимулусе. Међутим, у инфламацији макрофаги драматично смањују ову способност, чиме могу утицати на ток инфламаторног процеса и развој лезије (28).

Липидима богате пенасте ћелије су најкарактеристичнија особина атеросклеротског плака, највећим делом пореклом од макрофага које акумулишу холестерол највише преузимањем Ox-LDL преко специфичних рецептора. Данас је јасно да настанак пенастих ћелија детерминишу најмање два фактора: локална секреција цитокина и доступност модификованих липопротеина који се могу интернализovati преко SR. Ово наглашава значај локалне инфламаторне реакције у артеријском зиду којим се стварају слободни радикали кисеоника који модификују липопротеине, са једне стране као и продукцију цитокина, са друге стране (слика 3В) (5). Неке пенасте ћелије излазе из крвног суда са циљем да изнесу из атерома "страни материјал" у форми акумулисаних липопротеина и његових деривата. Као реакција на нагомилавање липида макрофаги продукују аполипопротеин-Е (APO-E). Он се везује за липопротеине велике густине (HDL – high density lipoprotein) олакшавајући његов периферни катаболизам јер се APO-E

чврсто везује за LDL-рецептор. На овај начин проликат макрофага промовише излазак холестерола из лезије (слика 3А). Неки макрофаги вероватно зато што су претоварене липидима или као одговор на инфламаторни сигнал остају унутар лезије. Унутар лезије умируће пенасте ћелије ослобађају садржај (слика 3Г) стварајући високо тромбогени, липидима богати центар, који се зове некротично језгро. Поред улоге у акумулацији холестерола, макрофаги стварају факторе раста, цитокине (табела 1), прокоагулантне супстанце укључујући и ткивни фактор и ензиме који учествују у васкуларном ремоделовању и дестабилизацији плака (13).

Један од најинтересантнијих ефеката инфламаторних цитокина у атеросклерози је регулација метаболизма липида. Неколико цитокина показује значајне ефекте на метаболизам липида. Тако INF- γ , главни секреторни производ активисаних Т лимфоцита, смањује продукцију липопротеинске липазе од стране макрофага, док TNF- α показује тај ефекат на адипоцитима. На тај начин ослобађање INF- γ и TNF- α у атеросклеротском плаку утиче на локалну липолизу и метаболизам липопротеина. Скорашње студије су показале да је ген за SR регулисан цитокинима, односно да INF- γ и TNF- α смањују његову експресију редукујући ниво информационе РНК, што има за последицу редуковано преузимање липопротеина, смањену акумулацију холестерола и смањење трансформације макрофага у пенасте ћелије. Смањујући испољавање молекула битних за интраћелијску акумулацију липида, INF- γ може инхибирати локални развој атеросклеротске лезије. Ово потврђује и податак да је интравенски дат INF- γ зауставио развој експериментно изазване лезије код зеца. Истовремено друге функције макрофага су активисане, нарочито оне везане за њихово учествовање у имунском систему. Повећана је експресија молекула II класе МНС, као и продукција радикала кисеоника. Тако макрофаге, под утицајем ових цитокина, повећавају капацитет за прераду и презентацију антигена и активно учествују у индукцији и одржавању локалног имунске реакције (5).

С друге стране, LDL повећава експресију "сквенсер" рецептора на макрофагима и тако у услови инфламације олакшава настанак пенастих ћелија (29). У интими акумулисани макрофаги експримишу један ацетил LDL рецептор за Ox-LDL преко кога преузимају и акумулишу модификовани LDL. О значају ових рецептора говоре и експериментни резултати о успореном развоју атеросклерозе код животиња којима недостају SR (30). Могло би се закључити да код атеросклерозе макрофаге задржавају способност преузимања липопротеина посредством SR, док у присуству инфламаторних стимулуса (цитокина) губе способност њиховог катаболизма. Цитокини, као то је INF- γ , спречавају излазак макрофага из лезије, чи-

ме се додатно олакшава настанак пенастих ћелија и њихово нагомилавање у зиду крвног суда. Када је реч о пенастим ћелијама, треба рећи да је на њима снажно испољен новооткривени молекул из групе интегрина, CD11d/CD18 који има улогу у фагоцитози модификованих липопротеина, а везује се за ICAM-3 и слабије за ICAM-1 (31). Модификујући функцију овог молекула можда би могли утицати на стварање пенастих ћелија, а самим тим и контролисати настанак и прогресију атеросклеротских лезија.

Поред тога што су макрофаги главни извор пенастих ћелија, оне учествују у прогресији атеросклеротске лезије продукцијом низа проинфламаторних цитокина, као и металопротеиназа за које је показано да учествују у разградњи колагена фиброзне капе. Поред тога, MMP могу одсецати мембранске молекуле на активисаним ћелијама плака, који су неопходни за индукцију апоптозе (рецептор за TNF- α и CD95 молекул), што може имати за последицу неадекватну индукцију програмирање ћелијске смрти. Услед овога ћелије плака ће умирати некрозом, што доприноси стварању некротичног језгра и услед ослобађања интрацелуларног садржаја, одржавању инфламације (6). Већина ових функција макрофага контролисана је директним контактом и/или цитокинима ослобођеним из суседних ћелија.

Лимфоцити

Присуство лимфоцита у атерому (13) побуђује велико интересовање с обзиром на то да су они најчешће показатељи, антигеном покренуте, специфичне инфламације. С обзиром на то да су лимфоцити В ретки (око 1%) (32), лимфоците у атерому практично чине лимфоцити Т. Највећи део присутних лимфоцита Т испољава $\alpha\beta$ TCR (90%), али је присутан и значајан проценат ћелија које испољавају $\gamma\delta$ TCR, које чине око 10% лимфоцита у лезији, а свега 1% у крви (3). Лимфоцити Т присутни су и у интими здравих крвних судова без присуства атеросклеротских лезија. Значајно присуство лимфоцита Т које испољавају $\gamma\delta$ TCR у оволиком броју може указивати на постојање васкуларног лимфног ткива које, слично мукозном лимфном ткиву, има своје специфичности и можда представља посебан ентитет у оквиру имунског система (3). Постоје подаци који указују да су лимфоцити Т једне од најраније присутних ћелија у лезији и да чак претходе појави моноцита. У једној студији налази се да код преко 60 испитанка у фази формирања масних трака доминирају лимфоцити Т у односу на макрофаге (32). Док у раним и незрелим лезијама доминира субпопулација CD8+ лимфоцита Т, који су присутни и у здравој интими непосредно поред потпуно развијених плакова, дотле у потпуно развијеним плаковима преовладавају CD4+ (70%) у односу на субпопулацију CD8+ (30%) лимфоцита Т (26).

Показано је да велики проценат лимфоцита Т у плаку поседују карактеристичне активационе мембранске молекуле (5). Овакви активисани лимфоцити Т секретују лимфокине (табела 1), што потврђује присуство активног имунског одговора у самом плаку, а доприноси његовом развоју и дестабилизацији. Важно је споменути да лимфоцити Т продукују и факторе раста (HB-EGF и bFGF) (табела 1) који утичу на пролиферацију VSMC (3), као и да олакшавају продукцију ткивног фактора и прокоагулантну активност макрофага. Комбинација присутних растворљивих компонената у насталој микросредини условљава целуларну интеракцију, што даље одређује судбину лезије.

Већ наведена ћелијска интеракција посредована контактом CD40-CD40L битна је за активацију лимфоцита Т и антиген презентујућих ћелија. У плаку је ова интеракција значајна за регулисање пролиферације лимфоцита Т и продукцију цитокина. Сматра се да се лимфоцити Т примарно сензибилишу у регионалном лимфном чвору, а рестимулишу препознајући антиген унутар лезије (6).

Иако је антигена стимулација неопходна за експресију CD40L на Т лимфоцитима, могуће је да одређени инфламаторни услови микросредине неспецифично индукују његову експресију чиме ће даље, контактом преко CD40 молекула, бити активисане и друге ћелије у плаку. Поред осталог, интеракција међу њима умногоме олакшава секрецију проинфламаторних цитокина IL-2, IL-12 и IFN- γ , чиме се даље продубљује инфламација, односно отвара се могућност секундарог настанка специфичне имунолошке реакције. Међућелијска комуникација преко наведених молекула не мора бити искључиво проинфламаторна, већ значајно утиче и на процесе репарације ткива, а код атеросклерозе стимулација "скевенцерске" функције макрофага била би можда и њен најповољнији ефекат. Могућа терапија манипулацијом интеракције CD40-CD40L имала би за последицу индукцију периферне Т ћелијске толеранције, у ком случају би уз понуђени антигени сигнал и истовремену блокаду костимулаторног сигнала потенцијално аутореактивни лимфоцити Т били уведени у енергију. Оваква интервенција, међутим, захтева потпуну идентификацију антигена евентуално оговорних за инфламацију у процесу атеросклерозе (6), што би било од огромног значаја. Такав антиген још увек није идентификован, али се најчешће као индукујући антиген спомињу оксидацијом измењени LDL, вирусни антигени и протеини топлотног шока (HSP – heat shock protein) (13). Ако би имунски одговор према оксидованим липопротеинима био значајан за атеросклерозу, могло би се очекивати да се он иницира у атеросклеротском плаку где је концентрација оксидисаних липопротеина висока. Скорашње анализе гена за антигени рецептор лимфоцита Т изолованих из плака говоре да

ове ћелије представљају хетерогену популацију, а не неколико клонова усмерених према малом броју епитопа (5), што указује да је примарно место њихове активације вероватно регионални лимфни чвор. Истовремено налаз да је око 10% лимфоцита Т из плака реактивно са Ох-LDL (26) може значити да, слично суперантигенима, измењени липопротеини у плаку могу индуковати њихову неспецифичну стимулацију. Познато је да Ох-LDL у плаку директно стимулише миграцију лимфоцита Т, као и продукцију цитокина (6).

Са друге стране, како пацови са недостатком лимфоцита Т развијају значајно већу лезију артерија после повреде у односу на нормалне пацове (5), не треба заборавити на активну улогу лимфоцита у репарацији ткива, чиме се намеће могућност атеросклеротског деловања имунског система. Код мишева са недостатком аполипопротеина-Е међутим, потпуни недостатак лимфоцита не утиче на развој атеросклеротске лезије (33), али удружени недостатак лимфоцита, макрофага и рецептора за $\text{INF-}\gamma$ значајно успорава настанак лезије. Код ових мишева, на дијети богатој холестеролом, лимфоцити Т код средње хиперхолестеролемије секретују Th1 ($\text{INF-}\gamma$), док код изражене хиперхолестеролемије доминирају Th2 (IL-4) цитокини (34). Овај прелаз може имати значајне консеквенце за ток инфламаторног процеса у атеросклерози.

Дендритичне ћелије

Имунохистохемијским анализама у плаку су идентификоване и васкуларне дендритичне ћелије (VDC) у директном контакту са Т, али и са ретким лимфоцитима В то их чини специфичним (35). Претпоставља се да су оне одговорне за локалну активацију и преживљавање лимфоцита. VDC се налазе у интими великих артерија, а њихов број повећан је у атеросклеротској лезији. У контакту са лимфоцитима Т највише их има у зонама инфламаторног инфилтрат са постојећом неоваскуларизацијом. У другим зонама контактирају и са макрофагима. Налазе се у медији испод атеросклеротске лезије и у адвентицији, око "vasa vasorum". Како се VDC у контакту са лимфоцитима Т налазе у две зоне, могуће је да из интими VDC кроз медију и адвентицију мигрирају у дремирајући лимфни чвор где презентују антигене настале у плаку услед дуготрајне инфламације индукујући специфичну реакцију (36).

Програмирана ћелијска смрт – апоптоза

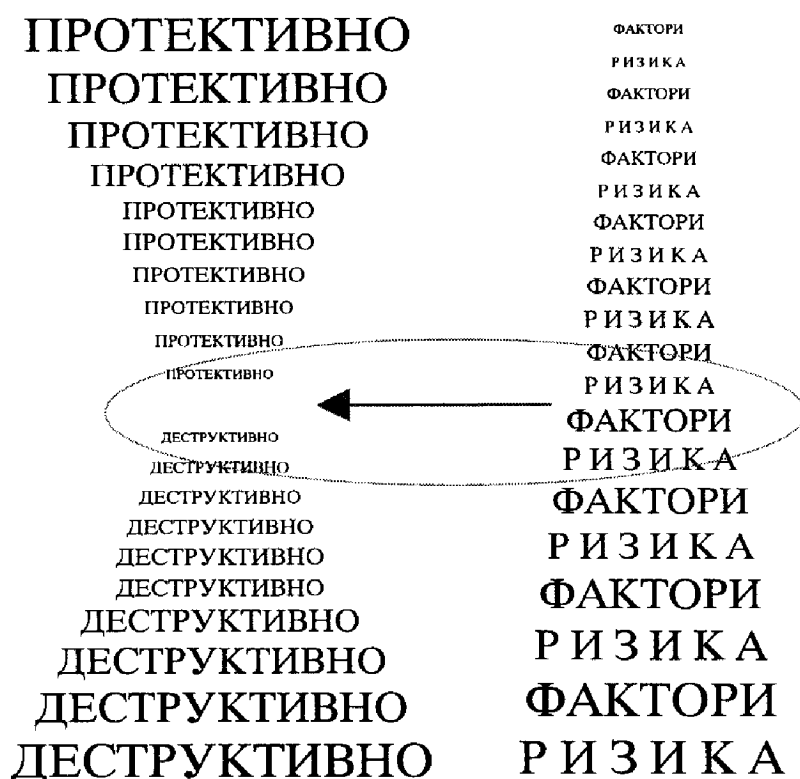
Поред значајне пролиферације у свим стадијумима атеросклерозе, велики број ћелија умире процесом [апоптозе], а њихов број је у корелацији са стадијумом развоја лезије. Апоптоза је програмирано ћелијско самоуништење, карактерисано следом морфолошких и биохемијских промена које воде благовре-

меном и безбедном уклањању ћелија чија је смрт физиолошки оправдана (37). У раним стадијумима има врло мало апоптотичних ћелија које су појединачне, док се у развијеној лезији могу наћи и у грудима (8). Детекцијом фрагментације ДНК утврђено је четири пута више апоптозе у плаку него у околној медији, а највећи број су VSMC (75%) (38). У атеросклеротском плаку је показана и повећана апоптоза епителних ћелија, макрофага и лимфоцита Т. Повећана апоптоза VSMC може ослабити фиброзу кану јер се смањује њихов број, као и продукција колагена, што води дестабилизацији плака. Поред тога, у овом процесу од VSMC настаје велики број цитоплазматских везикула различитог дијаметра, које се детектују у плаку као везикуле које садрже калцијум (слика 2Г). Сматра се да цитоплазматске везикуле VSMC представљају иницијални докус за настанак калцификације (39). Апоптоза макрофага води стабилизацији плака, јер се смањује деградација колагена. Међутим, пенесте ћелије губе могућност аутоиндукције ћелијске смрти апоптозом, што значи да умиру некрозом, чиме ослобађају проинфламаторни интрацелуларни садржај и липиде (слика 2Г). На крају, лектину сличан рецептор за Ох-LDL на ендотелним ћелијама препознаје фосфатидилсерин на мембрани апоптотичних ћелија и посредује у њиховој фагоцитози. Компетицијом за овај рецептор, као и за CD36 молекула на макрофагама, присутан Ох-LDL отежава уклањање апоптотичних ћелија, што омогућава појаву секундарне некрозе и олакшава инфламацију. Поред тога, фосфатидилсерин се на мембрани апоптотичних ћелија понаша као прокоагулант (40), а фосфолипиди (фосфатидилсерин и фосфатидилхолин) који се испољавају на апоптотичним ћелијама потенцијални су циљ за стварање антитела.

Поред великог броја радова у савременој литератури који су допринели напретку у разумевању процеса присутних током развоја атеросклерозе, још увек се не могу дати дефинитивни закључци. Шта више, отварају се нови потенцијални механизми настанка и развоја, које је тешко заједно сложити у јасну слику атеросклеротског процеса. Чини се вероватним да независно од иницијалног фактора и широке палете могућих различитих почетних функционалних поремећаја касније долази до настанка јединственог патолошког ентитета. Наведени подаци у овом раду потврђују да је имунски систем активно присутан у свим фазама атеросклерозе. Међутим, и поред могућности да специфична имунска реакција чак може бити и покретач процеса, може се претпоставити да инфламација у првим фазама делује протективно, у смислу репарације, док касније постаје фактор прогресије и дестабилизације. Оваква двострука улога имунског система подразумевала би постепено слабење протективних, а затим постепено јачање деструктивних ефеката, што би могло да се назове фе-

номеном пепчаног сата (слика 4). Најзад, намеће се закључак да прелазак из фазе протективног у фазу деструктивног деловања умногоме одређује прису-

ство и интензитет добро познатих, класичних фактора ризика.



Сл. 4 – Утицај класичних фактора ризика на улогу имунског система у развоју атеросклерозе. Феномен "пешчаног сата".

ЛИТЕРАТУРА

1. *Dinčić D.* Molekulski pristup u savremenom shvatanju nastanka i razvoja procesa ateroskleroze. *Vojnosanit Pregl* 1997; 54: 55–60.
2. *Ross R.* The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801–9.
3. *Wick G, Schett G, Amberger A, Kleindinst R, Xu Q.* Is atherosclerosis an immunologically mediated disease? *Immunol Today* 1995; 16: 27–3.
4. *Campbell JH, Campbell GR.* The cell biology of atherosclerosis--new developments. *Aust N Z J Med* 1997; 27(4): 497–500.
5. *Hansson GK.* Cell-mediated immunity in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1997; 8: 301–11.
6. *Laman JD, de Smet BJ, Schoneveld A, van Meurs M.* CD40-CD40L interactions in atherosclerosis. *Immunol Today* 1997; 18: 272–7.
7. *Sell S.* Chronic inflammation and wound healing. In: *Sell S, Berkower I, Max EE*, editors. *Immunology, immunopathology and immunity*. 1st ed. Stanford: Appleton & Lange; 1996. p. 246–74.
8. *Bojić M.* Zid koronarne arterije. In: *Bojić M*, editor. *Bolesti koronarnih arterija*. Beograd: Vizartis; 1997. p. 1–4.
9. *Chia MC.* The role of adhesion molecules in atherosclerosis. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1998; 35: 573–602.
10. *Li H, Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr, Libby P.* An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler Thromb* 1993; 13: 197–204.
11. *McEvoy LM, Jutila MA, Tsao PS, Cooke JP, Butcher EC.* Anti-CD43 inhibits monocyte-endothelial adhesion in inflammation and atherogenesis. *Blood* 1997; 90: 3587–94.
12. *Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A, Selwyn AP, Ganz P, Yeng AC*, et al. Flow-induced vasodilation of the human brachial artery is impaired in patients <40

- years of age with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1996; 78: 1210-4.
13. Libby P. Atheroma: more than mush. *Lancet* 1996; 348 Suppl 1: s4-7.
 14. Takami S, Yamashita S, Kihara S, Ishigami M, Takemura K, Kume N, Kita T, et al. Lipoprotein(a) enhances the expression of intercellular adhesion molecule-1 in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Circulation* 1998; 97: 721-8.
 15. Allen S, Khan S, Al-Mohanna F, Batten P, Yacoub M. Native low density lipoprotein-induced calcium transients trigger VCAM-1 and E-selectin expression in cultured human vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1998; 101: 1064-75.
 16. Jovičić A. Ishemička bolest mozga. In: Jovičić A, editor. *Cerebrokardijalni i kardiocerebralni sindromi*. Beograd: JP PTT Srbija; 1998. p. 53-82.
 17. Đurić D, Bojić M. Disfunkcija endotela u sindromu ateroskleroze; Izmenjena uloga endotela u regulaciji tonusa, strukture krvnih sudova i fluidnosti krvi. *Kardiologija* 1998; 19(4): 7-13.
 18. Frostegard J, Huang YH, Ronnelid J, Schafer-Elinder L. Platelet-activating factor and oxidized LDL induce immune activation by a common mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 963-8.
 19. Abbas KA. Effector mechanisms of T cell-mediated immune reactions. In: Abbas KA, Lichtman HA, Pober SJ, editors. *Cellular and molecular immunology*. Philadelphia: WB. Saunders Company; 1997. p. 280-96.
 20. Johnson DR, Hauser LA, Voll RE, Emmrich F. Arterial and venular endothelial cell costimulation of cytokine secretion by human T cell clones. *J Leukoc Biol* 1998; 63: 612-9.
 21. Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, Atkinson E, Libby P. Reduction of atherosclerosis in mice by inhibition of CD40 signalling. *Nature* 1998; 394: 200-3.
 22. Pejnović N. Imunski mehanizmi u procesu zarastanja rane. *Vojnosanit Pregl* 1997; 54 (6 Suppl): 73-84.
 23. Perić M, Bojić M. Funkcionalne karakteristike arterijskih i venskih graftova u hirurškoj terapiji koronarne ateroskleroze. *Kardiologija* 1998; 19(4): 72-81.
 24. Loppnow H, Bil R, Hirt S, Schonbeck U, Herzberg M, Werdan K, et al. Platelet-derived interleukin-1 induces cytokine production, but not proliferation of human vascular smooth muscle cells. *Blood* 1998; 91: 134-41.
 25. Abramovitch R, Neeman M, Reich R, Stein I, Keshet E, Abraham J, et al. Intercellular communication between vascular smooth muscle and endothelial cells mediated by heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor and vascular endothelial growth factor. *FEBS Lett* 1998; 425: 441-7.
 26. Mirić M, Vasiljević DJ, Mirić M. Imunski zapaljenski mehanizmi u aterosklerotskom plaku. *Kardiologija* 1998; 19(4): 14-7.
 27. Ishikawa Y, Akasaka Y, Ishii T, Komiyama K, Masuda S, Asuwa N, et al. Distribution and synthesis of apolipoprotein J in the atherosclerotic aorta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998; 18: 665-72.
 28. de Bittencourt Junior PI, Curi R. Transfer of cholesterol from macrophages to lymphocytes in culture. *Biochem Mol Biol Int* 1998; 44: 347-62.
 29. Han J, Nicholson AC. Lipoproteins modulate expression of the macrophage scavenger receptor. *Am J Pathol* 1998; 152: 1647-54.
 30. Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, Kamada N, Kataoka M, Jishage K, et al. The multiple roles of macrophage scavenger receptors (MSR) in vivo: resistance to atherosclerosis and susceptibility to infection in MSR knockout mice. *J Atheroscler Thromb* 1997; 4: 1-11.
 31. Van der Vieren M, Le Trong H, Wood CL, Moore PF, St John T, Staunton DE, et al. A novel leukointegrin, alpha d beta 2, binds preferentially to ICAM-3. *Immunity* 1995; 3: 683-90.
 32. Xu QB, Oberhuber G, Gruschwitz M, Wick G. Immunology of atherosclerosis: cellular composition and major histocompatibility complex class II antigen expression in aortic intima, fatty streaks, and atherosclerotic plaques in young and aged human specimens. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 56: 344-59.
 33. Daugherty A, Pure E, Delfel-Butteiger D, Chen S, Leferovich J, Roselaar SE, et al. The effects of total lymphocyte deficiency on the extent of atherosclerosis in apolipoprotein E-/- mice. *J Clin Invest* 1997; 100: 1575-80.
 34. Zhou X, Paulsson G, Stemme S, Hansson GK. Hypercholesterolemia is associated with a T helper (Th) 1/Th2 switch of the autoimmune response in atherosclerotic apo E-knockout mice. *J Clin Invest* 1998; 101: 1717-25.
 35. Bobryshev YV, Watanabe T. Ultrastructural evidence for association of vascular dendritic cells with T-lymphocytes and with B-cells in human atherosclerosis. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1997; 29: 209-21.
 36. Bobryshev YV, Lord RS. Mapping of vascular dendritic cells in atherosclerotic arteries suggests their involvement in local immune-inflammatory reactions. *Cardiovasc Res* 1998; 37: 799-810.
 37. Savill J, Fadok V, Henson P, Haslett C. Phagocyte recognition of cells undergoing apoptosis. *Immunol Today* 1993; 14: 131-6.
 38. Bobryshev YV, Babaev VR, Lord RS, Watanabe T. Cell death in atheromatous plaque of the carotid artery occurs through necrosis rather than apoptosis. *In Vivo* 1997; 11: 441-52.
 39. Kockx MM, Herman AG. Apoptosis in atherogenesis: implications for plaque destabilization. *Eur Heart J* 1998; 19 Suppl G: G23-8.
 40. Oka K, Sawamura T, Kikuta K, Itokawa S, Kume N, Kita T, et al. T Lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor 1 mediates phagocytosis of aged/apoptotic cells in endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 9535-40.

Рад је примљен 8. II 1999. год.