

А.В. Москалёв, В.Б. Сбойчаков,
В.Н. Цыган, А.В. Апчел

Роль хемокинов в иммунопатогенезе атеросклероза

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Резюме. Проанализированы установленные противоречивые данные иммунопатогенеза воспаления и атеросклероза. Показана роль макрофагов и Т-лимфоцитов в повреждении эндотелия и образовании атеросклеротической бляшки. Ведущими хемокинами, инициирующими данные процессы, являются макрофагальный хемотаксический протеин, интерлейкин-8, фракталкин. Важная роль в инициации межклеточного взаимодействия с последующим развитием атеросклеротического процесса принадлежит молекулам CD40 и их лигандам, экспрессируемым различными типами клеток, участниками иммунновоспалительного процесса – CD154. Проанализирована роль субпопуляций Т-лимфоцитов – хелперов 1-го, 2-го и 3-го порядков, а также регуляторных Т-лимфоцитов в атеросклеротическом процессе. Приведены экспериментальные данные о роли хемокинов в развитии атеросклеротического процесса. Особенно важна роль фактора, ингибирующего миграцию и обеспечивающего концентрацию эффекторных клеток в области атеросклеротической бляшки, которые приводят к ее дестабилизации. Экспериментально показано, что экспрессия ингибирующего миграцию фактора коррелирует с интенсивностью атеросклеротического процесса. Представлена информация о факторе, способствующем выходу стромальных клеток. Экспериментальные данные показывают, что с ним связано развитие ишемической болезни сердца. Его недостаток способствует развитию заболевания, а увеличение – улучшает течение болезни и оказывает стабилизирующий эффект на атеросклеротические бляшки. Экспериментально подтверждена роль chemokine (CXC motif) ligand 10 и 11 в процессе атеросклероза. Они оказывают регулирующее влияние на хемотаксис и функцию Т-лимфоцитов в процессе формирования атеросклеротического поражения.

Ключевые слова: атеросклероз, иммунология, цитокины, хемокины, лимфоциты, воспаление, липопротеины низкой плотности, лиганды.

Атеросклероз является важной медико-социальной проблемой. В его основе лежат сложные иммунопатогенетические механизмы, которые включают комбинированную дислипидемию, эндотелиальную дисфункцию, заканчивающиеся неэффективным иммунным воспалением. То есть атеросклероз является полиэтиологическим заболеванием и развивается под влиянием, как правило, одновременно нескольких причин: атерогенной гиперлипидемии, гиперхолестеринемии, гипергомоцистеинемии, наследственной предрасположенности [1, 7]. Роль генетического фактора, по всей видимости, является определяющей в развитии атеросклероза у больных с генетическим дефектом синтеза рецепторов к липопротеинам низкой плотности (ЛПНП). Иммунновоспалительные процессы могут также способствовать индукции аутоиммунных реакций, которые развиваются при атеросклерозе. Основными антигенами, в ответ на которые продуцируются соответствующие антитела, при атеросклерозе являются модифицированные (окисленные) ЛПНП, белки теплового шока – HSP60 (Heat shock proteins). Окисленные ЛПНП становятся аутоантигенами. В ответ на их появление продуцируются антитела, в последующем формируются иммунные комплексы, эти процессы усугубляют течение атеросклеротического процесса, способствуют накоплению в макрофагах липидов и превращению их в пенистые клетки [5, 19].

В развитии воспалительного процесса участвуют и клетки иммунной системы: лимфоциты, моноциты, а также клетки эндотелия. К сожалению, их роль в иммунопатогенезе атеросклероза представлена несколько разрозненно. Особенно это касается уникальных межклеточных мессенджеров – хемокинов. Поэтому представляется необходимым рассмотреть и обобщить их основные иммунопатогенетические эффекты. Современная оценка атерогенеза с позиций иммунного воспаления рассматривает кинетику клеток с учетом экспрессии цитокинов и межклеточной кооперации: макрофаг Т-лимфоцит гладкомышечная клетка (ГМК) [10, 13]. Активированные нейтрофилы и моноциты участвуют в «метаболическом взрыве», высвобождая активные радикалы, участвующие в реакциях перекисного окисления липидов. При этом происходит повреждение эндотелиоцитов с последующим формированием атеросклеротической бляшки. Экспрессия провоспалительных цитокинов и факторов роста сопровождается пролиферацией клеток [4, 19].

В работах последних лет больше внимания уделяли поиску сходства процессов воспаления и атеросклероза, а не их различий. Действительно, в иммунопатогенезе атеросклероза и воспаления много общего [1]. Об общности атеросклероза и воспаления свидетельствуют единые гуморальные и клеточные реакции, вовлеченные в эти процессы. Оба процесса

формируют одни и те же клетки рыхлой соединительной ткани: эндотелия и ГМК, фибробласты, моноциты, макрофаги, нейтрофилы, Т- и В-лимфоциты, тромбоциты [7]. При атеросклерозе и воспалении адгезию нейтрофилов и моноцитов на поверхности клеток эндотелия обеспечивают одни и те же молекулы клеточного взаимодействия: интегрин на мембране нейтрофилов и моноцитов, Е-селектин на мембране эндотелия и Р-селектин на поверхности тромбоцитов [24], таблица.

В течение этих процессов происходит активная инфильтрация тканей циркулирующими в крови моноцитами и нейтрофилами. При этом активированные нейтрофилы участвуют в образовании активных форм кислорода, супероксид-радикалов, усиливающих перекисное окисление липидов и белков. Как при воспалении, так и при атеросклерозе гибель фагоцитов приводит к активации синтеза клетками различных факторов клеточного взаимодействия: хемоаттрактантов и интерлейкинов. При обоих процессах в интима артерий пролиферируют ГМК и наблюдается отложение липидов [8, 9, 11]. Однако существуют и принципиальные отличия между синдромами атеросклероза и воспаления. Прежде всего, это собственные атеросклерозу специфические нарушения липидного обмена, а именно блокада рецепторного поглощения клетками модифицированных ЛПНП и, как следствие, увеличение поглощения этих атерогенных частиц фагоцитами (скавенджер-захват). Блокирование рецепторного поглощения ЛПНП может быть связано с гиперхолестеринемией, дислипидемией или недостаточным количеством специфических рецепторов. Как следствие, блокады рецепторного поглощения клетками атерогенных липопротеинов, увеличивается продолжительность их циркуляции в сосудистом русле, а следовательно, модификация частиц и активный нереперторный захват их функциональными фагоцитами (скавенджер-захват). При воспалении также может наблюдаться отложение липидов в стенке артерии, преимущественно в виде моноенового эфира холестерина (ХС), который является депонированной формой ХС и при стихании острой фазы, как правило, вирусного воспаления может полностью рассасываться. Таким образом, при

воспалении липидные нарушения в стенке артерии имеют обратимый характер и являются обычными нарушениями метаболизма ХС. В.Ю. Сердюков и др. [10], В. Coll et al. [13] рассматривают специфичность атеросклеротического процесса главным образом как следствие дефицита в клетках эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот. В условиях дефицита ω -3 и ω -6 эссенциальных полиненасыщенных жирных кислот клетки, адаптируясь, синтезируют ω -9 полиненасыщенные жирные кислоты с последующим формированием из них лейкотриенов с выраженными провоспалительными свойствами.

Таким образом, особенности метаболизма липидов, модификация ЛПНП нейтрофилами, фагоцитоз атерогенных липопротеинов моноцитами/макрофагами и образование пенистых клеток с последующим их некрозом и необратимым отложением липидов в стенку сосуда являются специфическими для атеросклероза и одновременно наименее изученными процессами.

В процессе атеросклеротического воспаления ключевая роль принадлежит клеткам крови – моноцитам/макрофагам. Роль макрофагов в иммунитете исключительно важна они обеспечивают фагоцитоз, переработку и представление антигена Т-клеткам, секретируют лизоцим, нейтральные протеазы, кислые гидролазы, аргиназу, многие компоненты компонента, ингибиторы ферментов (антиактиватор плазминогена, α 2-макроглобулин), транспортные белки (трансферрин, фибронектин, транскобаламин II), нуклеозиды и цитокины (фактор некроза опухолей (ФНО- α), интерлейкины – (ИЛ-1, ИЛ-8, ИЛ-12)). Доказано, что только модифицированные частицы липопротеинов вызывают провоспалительные эффекты. Модифицированные ЛПНП вовлечены во многие этапы процесса воспаления, они активируют эндотелиальные клетки, продуцирующие макрофагальный хемотаксический протеин (MCP-1), который привлекает моноциты из просвета сосуда в субэндотелиальное пространство, способствуют ускорению дифференциации моноцитов в макрофаги, вызывают выделение макрофагами цитокинов (ИЛ-1, ФНО- α), делающих возможным проникновение моноцитов в субэндотелиальное пространство под влиянием MCP-1. На активированных макрофагах

Таблица

Эндотелиальные и лейкоцитарные молекулы адгезии

Эндотелиальные молекулы	Лейкоцитарные молекулы	Главная роль
Р-селектин	Sialyl-Lewis X-модифицированные протеины	Качение (нейтрофилы, моноциты, Т-лимфоциты)
Е-селектин	Sialyl-Lewis X-модифицированные протеины	Качение и адгезия (нейтрофилы, моноциты, Т-лимфоциты)
GlyCam-1, CD34	L-селектин *	Качение (нейтрофилы, моноциты)
ICAM-1 (семейство иммуноглобулина)	CD11/CD18 (β 2) интегрин (LFA-1, Mac-1)	Адгезия, остановка, трансмиграция (нейтрофилы, моноциты, лимфоциты)
VCAM-1 (семейство иммуноглобулина)	VLA-4 (β 1) интегрин	Адгезия (эозинофилы, моноциты, лимфоциты)

Примечание: * – L-селектин на нейтрофилах экспрессируется слабо. Он вовлечен в связывание циркулирующих Т-лимфоцитов эндотелиальных венул в лимфоузлах и лимфоидной ткани слизистых и в последующее «возвращение домой» лимфоцитов этих тканей.

экспрессируются различные скавенджер-рецепторы, некоторые из них могут распознавать различные формы модифицированных ЛПНП. Макрофаги, захватывая модифицированные ЛПНП посредством скавенджер-рецепторов, накапливают в своей цитоплазме липиды и превращаются в богатые липидами пенистые клетки, которые являются характерным и отличительным признаком атеросклеротического процесса [3, 20].

Скорее всего, самым ранним этапом воспаления, характерного для атеросклероза, следует считать прилипание моноцитов к активированным эндотелиальным клеткам вследствие чрезмерной экспрессии на их поверхности клеточных молекул адгезии (vascular cellular adhesion molecule-1 – VCAM). Эндотелиальные молекулы адгезии, специфически и прочно связываясь с моноцитами и лимфоцитами крови, являются основой последующей дифференцированной миграции этих клеток под влиянием специфических факторов (MCP-1, ФНО- α) в субэндотелиальное пространство сосудов. Условно процесс проникновения моноцитов в сосудистую стенку можно разделить на 3 этапа: адгезия моноцитов в области повреждения, проникновение в стенку и последующая трансформация. Считается, что в процессе проникновения и дальнейшей трансформации моноцитов в сосудистую стенку основную роль играют три хемокина – MCP-1, ИЛ-8 и фракталкин. Проникновение моноцита осуществляется главным образом за счёт связывания MCP-1 и фракталкина с соответствующими рецепторами на поверхности моноцита. Моноцит становится макрофагом. Затем под воздействием ИЛ-8 и фракталкина макрофаг активируется. Последующее поглощение им холестерина приводит к образованию пенистой клетки, это является одним из основных механизмов формирования атеросклеротической бляшки с участием макрофагов и хемокинов [2, 18].

В инициации процесса атеросклероза большое значение принадлежит взаимодействию молекул CD40 с их лигандом на тромбоцитах, что приводит к воспалительному активированию эндотелиальных клеток и через увеличение экспрессии тканевого фактора усиливает коагулирующую способность крови. Кроме того, молекула CD40 экспрессируется не только на В-лимфоцитах, но и на клетках эндотелия, макрофагах, а ее лиганд CD154 на активированных Т-клетках, тучных клетках и базофилах. Взаимодействии CD40 с лигандом может также вызвать продукцию тканевого фактора в человеческих моноцитах/макрофагах, тучных клетках [15]. Следующий этап дифференциация моноцитов в макрофаги. Часть проникших в интиму моноцитов под влиянием моноцитарного колониестимулирующего фактора (M-CSF), гранулоцитарно-моноцитарного колониестимулирующего (GM-CSF) фактора и других гуморальных молекул, секретируемых эндотелиальными клетками, подвергается дифференциации и пролиферации, экспрессирует скавенджер-рецепторы, превращаясь в макрофаги. При участии M-CSF происходит появле-

ние фенотипа макрофагов, не трансформирующихся в пенистые клетки и в дальнейшем секретирующих провоспалительные цитокины (ИЛ-1 β , ФНО- α). Секретируемые ими хемоаттрактанты, например остеоптин, митогены, тромбоцитарный фактор роста, активируют ГМК, вызывая их миграцию из меди в интиму сосуда. Макрофаги и тучные клетки секретируют фактор роста, который вызывает пролиферацию ГМК и регулирует продукцию внеклеточного матрикса, а также металлопротеиназ, вызывающих деградацию последнего. Таким образом, макрофаги и тучные клетки регулируют рост атеросклеротической бляшки и вносят свой вклад в ее дестабилизацию с дальнейшим тромбообразованием [13, 21].

Важнейшими регуляторными характеристиками коррективы развития иммунного ответа обладает субпопуляция регуляторных Т-лимфоцитов CD4+CD25+. Другие маркеры, находящиеся на поверхности CD4+CD25+-Т-лимфоцитов, включают glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor (GITR), cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 – CTLA-4 (CD152), galectin-1, CD38, CD62L, OX-40L, CD103, TNF-R2, CD5, L-selectin, CD45RO, CD45RC, а также секретируют изоформу transforming growth factor beta 1 – TGF- β 1, которая имеет важнейшее значение для регуляции роста и развития [6, 22].

Выявлены и новые маркеры данной субпопуляции: forkhead transcription factor (FoxP3) и lymphocyte activation gene 3 (LAG-3). Регуляторная функция CD4+CD25+-Т-клеток осуществляется посредством оказания цитотоксического эффекта на клетку-мишень при помощи белка-перфорина и CD18 (является рецептором для молекул клеточной адгезии ICAM1, ICAM2, ICAM3 и ICAM4) без участия Fas-рецептора (CD95). Мишенями цитотоксичности могут быть рядом расположенные CD4+-, CD8+-Т-клетки, моноциты и В-клетки [1, 23]. Т-регуляторные лимфоциты, продуцирующие ИЛ-10, специфичные к различным антигенам, в том числе к аутоантигенам, были обнаружены в артериях при атеросклерозе. Цитокиновый профиль Т-регуляторных лимфоцитов при атеросклерозе включает продукцию ИЛ-10, в меньшей степени TGF- β и IFN- γ . ИЛ-10 и, вероятно, TGF- β являются основными факторами реализации супрессорного влияния на пролиферацию и цитокиновую продукцию Th1, Th2, Th3, CD4+CD25+-Т-клеток.

CD4+-Т-лимфоциты, продуцирующие трансформирующий ростовой фактор (TGF- β), – уникальная субпопуляция Т-клеток – Th3 [3, 14]. Созревание Th3 происходит в присутствии TGF- β , ИЛ-4, ИЛ-10. Необходимым фактором является экспрессия на поверхности клетки CD86 (маннозо-связывающий рецептор) и CTLA-4, а также угнетение активности ИЛ-12. На развитие данной субпопуляции влияет цитокиновое микроокружение, а именно высокие уровни TGF- β и присутствии антиген-представляющих клеток в состоянии активации, которое отличается от активации, необходимой для дифференцировки Th1 или Th2. Th3 быстрее, чем эффекторные Т-клетки, взаимодейству-

ют с антиген-презентирующими клетками, с которыми должны вступить в контакт эффекторный лимфоциты, и оказывают на них супрессорное влияние паракринно, выделяя TGF- β [11, 15].

Таким образом, сведения о функциональной гетерогенности субпопуляций Т-лимфоцитов, вовлеченных в атеросклероз, наглядно демонстрируют, что иммунные процессы при атеросклерозе крайне сложны и именно они определяют интенсивность механизмов атеросклероза.

Однако, пожалуй, ведущая роль в активации иммунокомпетентных клеток, в развитии основных механизмов, приводящих к формированию атеросклеротической бляшки, принадлежит хемокинам. Для них характерны две основные функции: они стимулируют привлечение лейкоцитов в очаг воспаления и контролируют нормальную миграцию клеток через различные ткани. Некоторые хемокины продуцируются временно в ответ на воспалительные стимулы. Другие хемокины продуцируются постоянно в тканях и функционируют для организации различных типов клеток в анатомических областях тканей. Хемокины могут влиять на способность интегринов обеспечивать клеточную адгезию, способствуют формированию хемотаксического градиента, что приводит к проникновению клеток в сосудистую стенку. Кроме того, хемокины могут оказывать антиапоптотическое влияние на лейкоциты [3, 6].

Хотя изучение роли хемокинов в процессе атеросклеротического поражения сосудистой стенки началось более 10–12 лет назад, многие моменты до настоящего времени остаются неясными. Наибольший интерес представляет изучение роли хемокинов в хемотаксисе определенных клеточных популяций. Первые данные об участии хемокинов в развитии атеросклероза были получены в экспериментальных работах на двух моделях мышей. У мышей, нокаутированных по гену, кодирующему выработку C-C motif ligand 2 или моноцитарного хемотаксического фактора-1, MCP-1 (CCL2) или его рецептора CCR2, не удавалось вызвать атеросклероз путём блокирования рецептора к ЛПНП (Ldlr $-/-$) или к аполипопротеину E (apoE $-/-$). При этом отмечалось значительное снижение инфильтрации стенки сосудов макрофагами [13, 16]. Мыши Ldlr $-/-$ и мыши apoE $-/-$ – это искусственно выведенная популяция мышей, у которых за счёт внесённых генетических изменений спонтанно развивается атеросклероз, то есть это искусственно созданные модели для изучения атеросклероза. Центральная роль CCL2/CCR2 в хемотаксисе моноцитов и инфильтрации ими стенки сосудов была доказана в работах A.V. Vakin [12], S. Janssens, R. Beyaert [17], продемонстрировавших, что в условиях гиперлипидемии усиливается синтез CCL2 и увеличивается экспрессия CCR2 на моноцитах. A. Katsargyris et al. [18] показали, что после повреждения внутренней поверхности сонной артерии катетером у apoE $-/-$ мышей, находящихся на гиперхолестериновой диете, увеличивается концентрация MCP-1. При этом MCP-1

иммобилизуется на поверхности тромбоцитов, что вводит к их адгезии в просвете сосуда. Хемотаксис моноцитов на ранней стадии атеросклеротического повреждения сонной артерии у apoE $-/-$ мышей регулируется не MCP-1, а фактором роста кератиноцитов (KC/CXCL1) и рецептором для ИЛ-8, известным как CXCR2. Это доказывает, что MCP-1 регулирует включение моноцитов в сосудистую стенку начиная с фазы эндотелиального повреждения атеросклеротического процесса [13, 18]. У apoE $-/-$ мышей блокирование MCP-1 за счёт введения антител к нему приводит к уменьшению гиперплазии неоинтимы и макрофагальной инфильтрации стенки сонной артерии после повреждения. Однако не совсем понятны механизмы, которые запускают хемотаксис моноцитов под влиянием MCP-1 при нормальном уровне холестерина ЛПНП [19, 21].

Таким образом, на начальном этапе атеросклеротического повреждения хемотаксис моноцитов в атеросклеротической бляшке происходит преимущественно за счёт MCP-1. Кроме того, в формировании атеросклеротического поражения принимают участие и другие хемокины – CCL2 (или IL-8) и CCL5, которые относятся к семейству CC-хемокинов, таких как CCL1 (I-309), CCL3 (макрофагальный воспалительный белок-MIP-1), CCL4 и CCL5 [14]. CCL2 наряду с MCP-1 индуцирует хемотаксис моноцитов до их включения в эндотелиальную стенку. CCL5 может экспрессироваться различными типами клеток, включая моноциты/макрофаги, Т-лимфоциты и гладкомышечные клетки. Он стимулирует адгезию моноцитов/макрофагов и Т-лимфоцитов и их трансэндотелиальный диапедез [23]. Кроме того, CCL5 накапливается и секретируется α -гранулами тромбоцитов, далее иммобилизуется на активированном эндотелии аорты или на повреждённой неоинтиме. Таким образом, секреторная функция тромбоцитов также оказывает влияние на формирование атеросклеротической бляшки и способствует увеличению площади поражения эндотелия. Соответственно блокирование рецепторов к CCL5 за счёт введения агонистов (Met-RANTES) ведёт к снижению активности воспаления при атеросклерозе и тормозит его развитие [15, 22].

Было показано, что CCL5 действует на ряд рецепторов: CCR1, CCR3 и CCR5. В настоящее время определена функция каждого из них. «Нокаутирование» apoE $-/-$ мышей по CCR5 не защищает их от формирования атеросклеротического поражения на раннем этапе, хотя на поздних стадиях у этих мышей отмечается замедление прогрессирования поражения [22]. Это ассоциируется со снижением интенсивности Th1 типа иммунного ответа [23, 24]. При этом «нокаутирование» Ldlr $-/-$ мышей по CCR5 не продемонстрировало значительного влияния на размер атеросклеротического поражения, хотя и вело к стабилизации атеросклеротической бляшки [20]. Более того, «нокаутирование» как мышей apoE $-/-$, так и мышей Ldlr $-/-$ по CCR1 приводило к увеличению активности атеросклеротического процесса [18, 21].

Подобные результаты были получены на apoE^{-/-} моделях мышей с повреждением артерий. В то время как дефицит CCR5 предотвращает гиперплазию неоинтимы в зоне повреждения эндотелия, дефицит CCR1 значимого влияния на гиперплазию не оказывает.

Не менее важную роль во включении моноцитов в атеросклеротическую бляшку играют CXС-хемокины, в частности CXCL1 (фактор роста кератиноцитов или его аналог у человека – связанный с ростом онкоген, фактор, стимулирующий рост меланомы, – GRO-1). Рецептор к этому лиганду обнаружен на поверхности моноцитов/макрофагов, находящихся в зоне атеросклеротического поражения сосуда [17, 19]. Доказательства участия этого хемокина и его рецептора в атеросклеротическом процессе получены в экспериментальных работах на генетически модифицированных клетках костного мозга, так как мыши с генетическим отсутствием CXCL1 или CXCR2 нежизнеспособны или чрезвычайно неустойчивы к инфекциям. В этих работах показано, что у Ldlr^{-/-} мышей после пересадки костного мозга мышей-СХСR2^{-/-} (то есть у мышей, в клетках белой крови которых отсутствуют рецепторы к хемокинам CXCL1) атеросклероз не индуцируется. Также показано, что рецептор CXCR2 играет более важную роль в аккумуляции макрофагов в зоне атеросклеротического поражения, чем его лиганд CXCL1. Более того, CXCL1 предотвращает гиперплазию неоинтимы при повреждении эндотелия. A.V. Bakin [12], A. Moustakas et al. [22] показали, что эти рецепторы способствуют хемотаксису нейтрофилов и что нейтрофилы принимают участие в формировании атеросклеротического поражения на его ранней стадии. Также было показано, что за счёт CXCR2 происходит привлечение проангиогенных клеток endothelial progenitor cells (EPC) к месту повреждения стенки сосуда, что необходимо для регенерации эндотелия [21]. Хотя EPC улучшают регенерацию эндотелия и его функцию, активация CXCR1 стимулирует неоангиогенез атеросклеротической бляшки, что ведёт к её дестабилизации [23]. Таким образом, на развёрнутой стадии атеросклероза негативная роль CXCR2 является доказанной, в частности – это определяется ещё одной функцией этого рецептора. Этот рецептор может связываться с фактором, ингибирующим миграцию макрофагов (MIF), который рассматривается как ключевой фактор воспаления и играет существенную роль в прогрессировании атеросклероза. Различные проатерогенные факторы, такие как окисленные ЛПНП, индуцируют экспрессию MIF на эндотелиальных, гладкомышечных и мононуклеарных клетках (макрофагах) на различных стадиях атеросклероза у человека, мышей и кроликов. Экспрессия MIF коррелирует с тяжестью атеросклеротического процесса, то есть с толщиной комплекса интима-медиа и отложением липидов в стенке аорты у мышей, с количеством атеросклеротических бляшек в грудной аорте у людей и у кроликов, находящихся на атерогенной диете [16]. Впервые роль MIF в прогрессировании атеросклероза *in vivo* была продемонстри-

рована в экспериментальной работе на apoE^{-/-} мышях, находящихся на обычном питании. У этих мышей отмечалось нарушение хемотаксиса макрофагов, но уменьшение площади атеросклеротического поражения аорты было незначительным [19]. Генетическое удаление MIF у Ldlr^{-/-} мышей останавливало развитие атеросклероза, индуцированного диетой с большим содержанием липидов [20]. Это подтверждено исследованием P. Wang [24], в котором мышам вводили антитела, блокирующие MIF. При этом отмечалась регрессия атеросклероза, а также уменьшение количества макрофагов и Т-лимфоцитов. Поскольку доказано, что рецепторы CXCR2 и CXCR4 взаимодействуют с MIF, считается, что MIF может способствовать адгезии и хемотаксису моноцитов и Т-лимфоцитов. Более того, рецепторы CXCR2 имеются и на поверхности нейтрофилов, поэтому MIF обладает умеренной хемотаксической активностью по отношению к этим клеткам [22]. Так как нейтрофилы участвуют в формировании атеросклеротического поражения на его начальной стадии, а также способствуют хемотаксису некоторых субпопуляций моноцитов, считается, что MIF участвует в атеросклеротическом поражении и за счёт своего влияния на нейтрофилы [20]. Кроме того, хемокин-подобные свойства MIF обусловлены ещё и тем, что он активирует CCL2 и другие факторы воспаления, такие как молекулы адгезии, фактор некроза опухоли, а также клетки, инициирующие и поддерживающие воспалительную реакцию [11, 15]. Генетическое удаление MIF ассоциируется со снижением экспрессии матриксных металлопротеиназ (MMPs) и катепсинов на поверхности гладкомышечных клеток, MMP-1 и MMP-9 в атеросклеротической бляшке [12]. Роль MIF в атеросклеротическом процессе доказана в экспериментальных работах на Ldlr^{-/-} мышях, у которых повреждали эндотелий сонных артерий. При этом в зоне повреждения активно развивалось атеросклеротическое поражение. Введение антител к MIF позволяло остановить этот процесс. При этом отмечалось ингибирование разрастания неоинтимы, снижение активности воспалительного процесса и пролиферации клеток [21]. Такое же повреждение катетером сонной артерии apoE^{-/-} мышей приводило к значительному увеличению экспрессии MIF на поверхности ГМК сразу после повреждения. На более поздних стадиях повышалась экспрессия MIF преимущественно на поверхности эндотелиальных и пенистых клеток. Введение антител к MIF умеренно уменьшало разрастание неоинтимы, однако содержание макрофагов в ней значительно уменьшалось, также ингибировался процесс превращения макрофагов в пенистые клетки. Кроме того, увеличивалось содержание ГМК и коллагена в неоинтимае, что приводило к стабилизации атеросклеротических бляшек [20]. Это доказывает, что MIF влияет на миграцию и пролиферацию не только моноцитов, но и ГМК [12, 15]. Влияние MIF на гиперплазию неоинтимы и ГМК осуществляется через рецептор CXCR4. P. Wang [24] считает, что через данный рецептор в основном

регулируется пролиферация ГМК и формирование неоинтимы.

Определенная роль в формировании атеросклеротического поражения отводится фактору CXCL12, или фактору, способствующему выходу стромальных клеток (chemokine (CXC motif) ligand 12 – хемокин подсемейства CXC). Этот фактор обнаружен в атеросклеротических бляшках человека, он экспрессируется на гладкомышечных и эндотелиальных клетках. Показано, что CXCL12 участвует в гематопоезе, мобилизации стволовых клеток, увеличении объёма костного мозга. Его уровень в плазме у больных как со стабильной, так и с нестабильной ишемической болезнью сердца (ИБС) понижен по сравнению со здоровыми добровольцами [18]. С. Monako et al. [21] выявили, что при дефекте хромосомы 10q11 нарушается синтез CXCL12. Stromal cell-derived factor-1 (SDF-1), или CXCL12, связывается с рецепторами CXCR4 и CXCR7 и играет важную роль в эмбриональном развитии и гематопоезе, является предиктором развития ИБС, так как возрастает восприимчивость к факторам риска атеросклероза. Авторы делают вывод, что увеличение уровня CXCL12 позволяет улучшить течение ИБС и оказывает стабилизирующий эффект на атеросклеротические бляшки. Так, работы на мышах, у которых моделировали атеросклероз, подтвердили, что CXCL12 замедляет этот процесс. Взаимодействие SDF-1 CXCR4 в клетках костного мозга значительно усиливало активность атеросклероза у *apoE*^{-/-} и у *Ldlr*^{-/-} мышей, но одновременно увеличивало содержание нейтрофилов в атеросклеротических бляшках [23]. Этот парадокс объясняется тем, что в результате нарушения гематопоеза усиливается мобилизация нейтрофилов в периферическую кровь [23, 24], а последние являются предиктором развития ИБС, и чем их больше, тем тяжелее течение этого заболевания [13]. Повышение уровня CXCL12 после повреждения эндотелия усиливает выход прогениторных клеток из костного мозга и трансформацию их в ГМК в месте повреждения [12]. Аналогичным образом блокирование CXCL12 ингибирует выход прогениторных клеток из костного мозга в кровь, что приводит к дефициту ГМК в зоне повреждения, тем самым замедляя формирование неоинтимы [18]. При этом аккумуляция ГМК в месте повреждения эндотелия ведет к усилению формирования неоинтимы и стабилизации атеросклеротических бляшек.

Механизмы, за счёт которых регулируется включение различных подклассов моноцитов в зону атеросклеротического поражения, различаются. Так, CCR5 селективно стимулирует *Ly-6Clow*-моноциты (последние участвуют в очистке эндотелия от липидных дериватов, некротических и/или апоптотических клеток) и способствует их включению в атеросклеротические бляшки, причём это осуществляется не за счёт рецепторов к фракталкину, экспрессированных на поверхности этого подкласса моноцитов. Напротив, *Ly-6Chigh* (CD14+CD16+TLR4+), активно участвующие в данном процессе (называемые часто «воспалительные моноциты»), могут преобразовываться

в дендритные клетки в бляшке и таким образом активировать воспалительный каскад. Моноциты содержат на своей поверхности рецепторы к фракталкину, CCR2 (к MCP-1) и CCR5 (сопряжённые с G-белком (англ. G-protein-coupled receptors, GPCRs), также известные как семиспиральные рецепторы, или серпентины, составляют большое семейство трансмембранных рецепторов). GPCR выполняют функцию активаторов внутриклеточных путей передачи сигнала, приводящих в итоге к клеточному ответу) [16]. *Ly-6Chigh*-моноциты «заселяют» участки стенки артерий, в которых экспериментально индуцируется воспаление, а *Ly-6Clow*-моноциты могут мигрировать в лимфоидные и нелимфоидные ткани и в обычных условиях. Анализ особенностей миграции и дифференциации этих двух подклассов моноцитов у *apoE*^{-/-} мышей показал, что *Ly-6Chigh*-моноциты в большом количестве аккумулируются в атеросклеротических бляшках, в то время как *Ly-6Clow*-моноциты в них практически не попадают.

Имеется ещё один подкласс хемокинов, участвующих в воспалительном процессе сосудистой стенки, – CCL19 и CCL21. Их уровень повышен у больных, страдающих атеросклерозом сонных артерий, и у больных со стабильной или нестабильной стенокардией по сравнению со здоровыми лицами. Кроме того, эти хемокины обнаружены в артериях *apoE*^{-/-} мышей [12, 13]. Роль этих хемокинов и рецепторов к ним в процессе формирования атеросклеротического процесса двояка. С одной стороны, CCL19/CCL21 и CCR7 способствуют дифференцировке «наивных» (неактивированных) Т-лимфоцитов в Th1 и активации макрофагов, увеличивают уровень MMP, которые обладают проатерогенным, дестабилизирующим и протромботическим эффектами [16]. С другой стороны, имеются исследования, в которых показано, что CCL19/CCL21 ингибируют пролиферацию Т-лимфоцитов и выработку ИЛ-2 как у мышей, так и у человека. Следовательно, эти хемокины оказывают атеропротективную функцию [20]. У *apoE*^{-/-} мышей одновременная блокада CCL19 и CCL21 приводит к регрессии атеросклеротических бляшек и снижению количества пенных клеток [21]. Таким образом, роль CCL19/CCL21/CCR7 в атерогенезе неоднозначна. Воздействуя на эти хемокины и их рецепторы, можно влиять на размер атеросклеротических бляшек. Имеются также данные о влиянии CXCR3 и его лигандов на включение Т-лимфоцитов в процесс атеросклероза. CXCR3 экспрессируется на поверхности Th1-лимфоцитов. Данный рецептор является общим для таких лигандов, как CXCL9, CXCL10 и CXCL11. Эти три лиганда активно экспрессируются в атеросклеротической бляшке человека на всех стадиях её формирования [24]. Дефицит CXCR3 приводит к ингибированию формирования атеросклеротического поражения у *apoE*^{-/-} мышей (за счёт воздействия на противовоспалительные молекулы ИЛ-10, ИЛ-18 и эндотелиальную NO-синтазу) и к увеличению количества регуляторных Т-лимфоцитов в зоне повреждения эндотелия [19].

Такие же результаты были получены в исследовании по блокированию CXCR3 при помощи введения его антагониста NB174330 [12]. Это приводило к снижению хемотаксиса макрофагов и Т-лимфоцитов и к изменению характера воспалительного процесса сосудистой стенки – увеличивалось количество регуляторных Т-лимфоцитов. В лимфатических узлах таких мышей отмечался сдвиг в сторону увеличения количества регуляторных Т-лимфоцитов и снижения количества активированных Т-лимфоцитов [20]. Более того, введение Ldlr^{-/-} мышам TAK779 (вещество, блокирующее CCR5 и CXCR3) вело к уменьшению площади атеросклеротического поражения и количества Т-лимфоцитов [20]. На основании этого авторы делают вывод, что CXCR3 регулируют хемотаксис и функцию Т-лимфоцитов в атеросклеротическом процессе.

Из всех лигандов, связывающихся с CXCR3 в процессе формирования атеросклеротического поражения, изучена роль только CXCL10. В норме CXCL10 экспрессируется в лимфоидной ткани, однако при различных патологических процессах данный хемокин может экспрессироваться на моноцитах, макрофагах, эндотелиальных и гладкомышечных клетках [17]. Повышение уровня этого хемокина в плазме крови выявлено у больных, страдающих ИБС. Генетическое удаление CXCL10 у мышей приводило к регрессии атеросклеротического поражения аорты, к увеличению количества регуляторных Т-лимфоцитов, возрастанию уровня ИЛ-10 и усилению экспрессии TGFβ1 [22, 23].

Роль CXCL9 и CXCL11 в процессе атеросклероза остается не до конца ясной. Роль CXCL10 и CXCR3 доказана – они оказывают регулирующее влияние на хемотаксис и функцию Т-лимфоцитов в процессе формирования атеросклеротического поражения. Рецептор CXCR3 объединяет несколько подклассов рецепторов данного типа. Одним из этих подклассов является CXCR3b, который связывается со своим лигандом CXCL4, тромбоцитарным фактором 4/PF4, экспрессирующимся на поверхности эндотелиальных клеток. CXCL4 был обнаружен в жировых полосках у людей, его концентрация коррелировала с гистологической и клинической выраженностью атеросклероза [12]. CXCL4 экспрессируется на поверхности тромбоцитов и высвобождается в большом количестве при их активации. В экспериментальных работах J.M. Li et al. [20], A. Moustakas et al. [22] показано, что генетическое удаление CXCL4 или CCL5 приводит к значительному уменьшению площади атеросклеротического поражения, что доказывает проатерогенный эффект двух этих хемокинов. Строго говоря, CXCL4 в микромолярных концентрациях не является классическим хемокином, его роль в хемотаксисе моноцитов скорее вспомогательная [19, 21, 24].

Таким образом, иммунопатогенез атеросклероза носит многогранный характер. Выделить ведущее звено на данном этапе исследований вряд ли возможно. Однако экспериментальным путем установлены

рецепторы, блокирование которых может привести к снижению интенсивности процесса, а также к дестабилизации атеросклеротической бляшки.

Литература

1. Глинцбург, А.Л. Экзогенные и эндогенные факторы в патогенезе атеросклероза. Рецепторная теория атеросклероза / А.Л. Глинцбург, В.Г. Лиходед, В.М. Бондаренко // Росс. кардиол. журн. – 2010, № 2. – С. 92–96.
2. Лиходед, В.Г. Микробный фактор и Toll-подобные рецепторы в патогенезе атеросклероза / В.Г. Лиходед, В.М. Бондаренко // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. – 2009. – № 6. – С. 107–112.
3. Москалев, А.В. Общая иммунология с основами клинической иммунологии / А.В. Москалев, В.Б. Сбойчаков, А.С. Рудой. – М.: Гэотар-Медиа, 2015. – 351 с.
4. Москалев, А.В. Роль нейтрофильных гранулоцитов в иммуновоспалительном процессе / А.В. Москалев [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2016. – № 4 (56). – С. 191–195.
5. Москалев, А.В. Аутоиммунные заболевания. Диагностика и лечение / А.В. Москалев [и др.]. – М.: Гэотар-Медиа, 2017. – 218 с.
6. Мустафина, О.Е. Цитокины и атеросклероз: молекулярные механизмы патогенеза / О.Е. Мустафина, Я.Р. Тимашева // Молекулярная медицина. – 2008. – С. 56–64.
7. Нагорнев, В.А. Атерогенез как иммуновоспалительный процесс / В.А. Нагорнев, А.Н. Восканьянц // Вестн. РАМН. – 2004. – № 10. – С. 50–52.
8. Рудой, А.С. Структурные аномалии сердца / А.С. Рудой [и др.]. – Минск, 2016. – 115 с.
9. Рудой, А.С. Аортопатии при наследуемых нарушениях соединительной ткани / А.С. Рудой [и др.]. – Минск, 2016. – 108 с.
10. Сердюков, В.Ю. Донозологический атеросклероз и ассоциированные состояния: значение, диагностика, лечение / В.Ю. Сердюков [и др.] // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2015. – № 3 (51). – С. 234–238.
11. Atkinson, M. A. Fatal attraction: chemokines and type 1 diabetes / M.A. Atkinson, S.B. Wilson // J. Clin. Invest. – 2002. – № 110 (11). – P. 1611–1613.
12. Bakin, A.V. p38 mitogen-activated protein kinase is required for TGFbeta-mediated fibroblastic transdifferentiation and cell migration / A.V. Bakin // J. Cell. Sci. – 2002. – Vol. 115. – P. 3193–3206.
13. Coll, B. Monocyte chemoattractant protein-1 and atherosclerosis: is there room for an additional biomarker / B. Coll [et al.] // Clin. Chim. Acta. – 2007. – № 383 (1–2). – P. 21–29.
14. Chen, M. Lisofylline, a novel anti-inflammatory agent, protects pancreatic b-cells from proinflammatory cytokine damage by promoting mitochondrial metabolism / M. Chen [et al.] // Endocrinology. – 2002. – № 143 (6). – P. 2341–2348.
15. Curtiss, L. K. Emerging role of Toll-like receptors in atherosclerosis / L. K. Curtiss, P. S. Tobias // J. Lipid Res. – 2009. – № 50 – P. 340–345.
16. Ghosh, T. K. Toll-like receptor (TLR) 2–9 agonists-induced cytokines and chemokines: comparison with T cell receptor-induced responses / T.K. Ghosh, D. J. Mickelson, J. Fink // Cell Immunol. – 2006. – № 243 (1). – P. 48–57.
17. Janssens, S. Role of Toll-like receptors in pathogen recognition / S. Janssens, R. Beyaert // Clin. Microbiol. Rev. – 2003. – № 16. – P. 637–646.
18. Katsargyris, A. Enhanced TLR4 endothelial cell immunohistochemical expression in symptomatic carotid atherosclerotic plaques / A. Katsargyris [et al.] // Expert Opin Ther Targets. – 2010. – № 14. – P. 1–10.
19. Krusinova, E. Fatty acid binding proteins in adipose tissue: a promising link between metabolic syndrome and atherosclerosis / E. Krusinova, T. Pelikanova // Diabetes Res Clin Pract. – 2008. – № 82 (2). – P. 127–134.

20. Li, J.M. Interleukin 18 binding protein (IL18-BP) inhibits neointimal hyperplasia after balloon injury in an atherosclerotic rabbit model / J.M. Li [et al.] // J. Vasc. Surg. – 2008. – № 47 (5). – P. 1048–1057.
21. Monaco, C. Toll-like receptor-2 mediates inflammation and matrix degradation in human atherosclerosis / C. Monaco [et al.] // Circulation. – 2009. – № 120. – P. 2462–2469.
22. Moustakas, A. Mechanisms of TGF-beta signaling in regulation of cell growth and differentiation / A. Moustakas [et al.] // Immunol. Lett. – 2002. – Vol. 82. – P. 85–91.
23. Siegel, P. Cytostatic and apoptotic actions of TGF-beta in homeostasis and cancer / P. Siegel, J. Massague // Nat. Rev. Cancer. – 2003. – Vol. 3. – P. 807–821.
24. Wang, P. Autocrine and exogenous transforming growth factor beta control cell cycle inhibition through pathways with different sensitivity / P. Wang // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol. 279. – P. 40237–40244.

A.V. Moskalev, V.B. Sboychakov, V.N. Tsygan, A.V. Apchel

Chemokines' role in immunopathogenesis of atherosclerosis

Abstract. *The results obtained and conflicting data of immunopathogenesis of inflammation and atherosclerosis are analyzed. The role of macrophages and T-lymphocytes in the endothelium damage and formation of an atherosclerotic plaque is shown. Chemokine-leading processes initiating the data processes – macrophage chemotactic protein, interleukin 8, fractalkine. An important role in the initiation of intercellular interaction with the subsequent development of the alliance CD40 and their ligands, expressed by various cell types, participants in the immune-inflammatory process – CD154. The role of subpopulations of T-lymphocytes – 1st, 2nd and 3rd, as well as regulatory T-lymphocytes in the atherosclerotic process was analyzed. An experimental data on the role of chemokines in the development of atherosclerotic process is described. The role of the factor inhibiting migration and providing the concentration of effector cells in the area of atherosclerotic plaque, which lead to its destabilization, is of great importance. It has been shown experimentally that the expression of inhibition factor migration correlates with the intensity of atherosclerotic process. The information on the factor contributing to the output of stromal cells is presented. Experimental data show that the development of coronary heart disease is associated with it. Its deficiency contributes to the development of the disease, and an increase - improves the course of the disease and has a stabilizing effect on atherosclerotic plaques. The role of chemokine (CXC motif) ligand 10 and 11 in the process of atherosclerosis has been experimentally proved. They have a controlled effect on chemotaxis and T-lymphocyte function in the process of atherosclerotic lesion formation.*

Key words: *atherosclerosis, immunology, cytokines, chemokines, lymphocytes, inflammation, low-density lipoprotein, ligand.*

Контактный телефон: 8-921-989-17-42; e-mail: sofiafarm@yandex.ru