

Т.В. Талаева

Институт кардиологии, Киев

Ключевые слова: моноциты, нейтрофильные гранулоциты, эндотелиоциты, адгезивные молекулы.

МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КЛЕТОК КРОВИ И СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ В РЕАЛИЗАЦИИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО И ИММУННОГО ОТВЕТОВ

Резюме. Анализ современной литературы свидетельствует о том, что взаимодействие клеток крови и сосудистой стенки является начальным и важнейшим фактором развития разнообразных физиологических и патологических реакций. В частности, оно лежит в основе иммунной защиты организма, обеспечивая постоянную транссосудистую миграцию лимфоцитов в ткани и лимфатические узлы в целях обнаружения чужеродных антигенов. В условиях повреждения тканей, оксидантного стресса, действия провоспалительных медиаторов – цитокинов и хемокинов – экспрессия адгезивных молекул на эндотелии и лейкоцитах является начальным этапом их рекрутирования в очаг воспаления, что сопровождается возникновением широкого спектра реакций, имеющих в своей основе защитный характер, но приводящих при чрезмерной длительности или интенсивности к дополнительному развитию дистрофических и некротических изменений. Такой процесс характерен для локального воспаления в стенке артериальных сосудов, который лежит в основе развития атеросклероза, для возникновения острого коронарного синдрома, реперфузионного повреждения тканей сердца, ремоделирования сосудистой стенки и развития рестеноза после ангиопластики. Сложность процесса экспрессии эндотелиоцитами и клетками крови различных классов адгезивных молекул и их взаимодействия с соответствующими лигандами определяет четкую этапность развития воспаления и особый характер его регуляции на каждом этапе.

Циркуляция клеток белой крови происходит главным образом в транспортной форме, и их основное функциональное назначение реализуется в тканях, куда они мигрируют через сосудистую стенку. Первым этапом процесса транссосудистой миграции лейкоцитов является их взаимодействие с клетками эндотелия, и именно с него в живом организме инициируются и развиваются разнообразные физиологические и патологические реакции. Это характерно прежде всего для локального воспаления в стенке артериальных сосудов, лежащего в основе развития атеросклероза. Воспаление имеет также прямое отношение к возникновению острого коронарного синдрома, реперфузионному повреждению тканей сердца, ремоделированию сосудистой стенки и развитию рестеноза после проведения ангиопластики. В зависимости от характера воспалительной реакции – острая, хроническая или иммунная – в нее вовлекаются различные подклассы лейкоцитов – моноциты, нейтрофильные гранулоциты, лимфоциты, и селективность их мобилизации является сложной проблемой патогенеза воспаления.

Трансэндотелиальная миграция лейкоцитов является сложным процессом и представления о нем начали складываться только в последние годы. Прежде всего он является результатом активации эндотелиоцитов и лейкоцитов с экспрессией на их

поверхности адгезивных молекул, селективных для отдельных подклассов лейкоцитов. Так, в 1-й день развития острого инфаркта миокарда в зоне поражения развивается острый воспалительный ответ с инфильтрацией нейтрофильных гранулоцитов в некротизированную ткань, а на 3-й день – моноцитов. В результате высвобождения из активированных нейтрофильных гранулоцитов большого количества активных форм кислорода (АФК), кислых протеаз, цитокинов и других провоспалительных медиаторов происходит «оглушение» и дополнительное повреждение частично ишемизированного миокарда в пределах «сумеречной зоны» с расширением зоны некроза (Jourdan J.E. et al., 1999). Блокада молекул адгезии на нейтрофильных гранулоцитах и эритроцитах и угнетение высвобождения медиаторов тканевого повреждения из нейтрофильных гранулоцитов существенно ослабляют поражение миокарда в условиях ишемии и реперфузии (Mehta J.L., Li D.Y., 1999).

Молекулы межклеточной адгезии – это связанные с плазматической мембраной белки, обеспечивающие высокоселективное межклеточное взаимодействие. В ряде случаев отдельная молекула межклеточной адгезии способна взаимодействовать с несколькими лигандами благодаря наличию в ней разных участков связывания. Хотя связывание мо-

лекул адгезии с лигандами обычно происходит с низким сродством, avidность взаимодействия может быть довольно высокой за счет того, что адгезивные молекулы расположены на поверхности клеток компактными кластерами и образуют участки многоточечного связывания (Ройт А. и соавт., 2000).

В соответствии с современной классификацией адгезивные молекулы подразделяются на 3 типа: а) селектины; б) интегрины; в) суперсемейство иммуноглобулинов.

Селектины (P-селектин, L-селектин, E-селектин) являются гликопротеинами и экспрессируются на тромбоцитах, некоторых типах лейкоцитов и эндотелии (Jourdan J.E. et al., 1999). Молекулы селектинов пронизывают клеточную мембрану и имеют N-концевой домен, который обладает лектиноподобными свойствами, то есть способностью связываться с углеводными конечными группами лигандов.

P-селектин (CD 62P) - адгезивные молекулы, экспонирующиеся эритроцитами и тромбоцитами при активации; они обеспечивают их взаимодействие с лейкоцитами (Prentis C.R.M., 1999). P-селектин эритроцитов хранится в тельцах Вейбель-Паладе, и его экспрессия на клетках как артериального, так и венозного эндотелия индуцируется провоспалительными медиаторами типа свободных радикалов, тромбина, компонентов комплемента, гистамина, перекиси водорода (Lefer A.M., 1997). Экспрессия P-селектина достигает максимума уже через 10–20 мин реперфузии, а затем несколько ослабляется в результате смывания в кровь (Daví G. et al., 1998). Помимо перемещения на поверхность эритроцитов молекул P-селектина, хранящихся внутриклеточно, довольно быстро происходит их синтез *de novo*, и выраженная экспрессия mRNA P-селектина в эритроцитах установлена уже через 80 мин после выраженного уменьшения кровотока в коронарной артерии собаки (Eguchi H. et al., 1999).

Экспрессия молекул P-селектина на мембране тромбоцитов при их стимуляции происходит также достаточно быстро (в течение 5–10 мин) путем перемещения из внутриклеточного депо в а-гранулах (Lefer A.M., 1997). К стимулам, инициирующим этот процесс, относятся провоспалительные медиаторы, тромбин, гистамин, перекись водорода.

Экспрессия молекул P-селектина на поверхности тромбоцитов обеспечивает их взаимодействие со специфическими лигандами, находящимися на поверхности нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов (Eguchi H. et al., 1999). Ими являются постоянно экспрессируемый на поверхности лейкоцитов сиалированный олигосахарид Lewis X (групповой антиген крови системы Льюис-Lewis X), ассоциированный с белком CD15 (Kodaki S. et al., 1999), а также недавно описанный P-селектин - гликопротеиновый лиганд-1 (PSGL-1). Экспрессия PSGL-1 возникает на более позднем этапе активации лейкоцитов (через 4–6 ч реперфузии) (Jourdan J.E. et al. 1999). L-селектин (CD62L) - адгезивные молекулы, постоянно экспрессируемые на кончике псевдоподий мононуклеаров. При их активации часто возникает «смывание» L-селектина, что сопровождается активацией

b2-интегринового комплекса (CD11/CD18) лимфоцитов и моноцитов (Lefer A.M., 1997). Лигандами для L-селектинов являются как гликопротеин Sgp-200 с многочисленными O-связанными углеводными группами, ассоциированный с белком CD34, так и углеводы в составе MAdCAM-1; оба они постоянно экспрессированы на поверхности клеток высокого эндотелия венул. Вследствие связывания L-селектина с этими адгезивными молекулами лимфоцитов из кровотока постоянно мигрируют через венозную стенку и направляются в периферические лимфоузлы (Ройт А. и соавт., 2000). E-селектин - адгезивные молекулы, которые экспрессируются только клетками эндотелия в условиях активации воспалительными цитокинами: фактором некроза опухоли-а (ФНО-а), интерлейкином-1 (ИЛ-1) или бактериальным эндотоксином (Lefer A.M., 1997). Экспрессия E-селектина по сравнению с P- и L-селектинами происходит замедленно, на протяжении 4–6 ч, и осуществляется путем синтеза белка *de novo*. E-селектины также связываются с сиалированной формой углеводной детерминанты (Lewis X), которая экспрессируется на лейкоцитах ряда субпопуляций.

Интегрины - обширная группа молекул межклеточной адгезии, которые экспрессируются на поверхности различных клеток, в том числе лейкоцитов. Все белки, входящие в это суперсемейство, состоят из двух нековалентно связанных полипептидных цепей (a и b), пронизывающих клеточную мембрану. Семейство интегринов делят на три основные подсемейства по типу b-цепи (b1, b2, b3). b1-Интегрины в основном участвуют в связывании лейкоцитов со структурами внеклеточного матрикса, b2-интегрины - в адгезии лейкоцитов к эндотелию и клеткам иммунной системы, а b3-интегрины (цитoadгезины) - в адгезии тромбоцитов к нейтрофильным гранулоцитам в очагах воспаления или местах повреждения сосудов, а также в адгезии моноцитов к эндотелию.

Комплекс CD11/CD18 является b2-интегрином, который экспрессируется на поверхности нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов. Эти интегрины имеют различные a-субъединицы (aL, aM, aX) и общую b-субъединицу. Комплекс CD11/CD18 накапливается во вторичных гранулах нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов. При их активации провоспалительными медиаторами, включая фактор активации тромбоцитов и лейкотриены B₄, а также после их прокатывания по эндотелию происходит быстрое перемещение комплекса из гранул на поверхность клеток и их экспрессия (Jourdan J.E. et al., 1999). b2-Интегрины LFA-1 (CD11a/CD18) и MAC-1 (CD11b/CD18), экспрессированные на нейтрофильных гранулоцитах и моноцитах, способствуют их взаимодействию с молекулами межклеточных адгезивных молекул-1 и 2 (ICAM-1 и ICAM-2) на поверхности клеток эндотелия (Schratzberger P. et al., 1998).

VLA-4 (CD49d) является b1-интегриновой адгезивной молекулой, которая экспрессируется только активированными моноцитами и обеспечивает селективное их связывание с сосудистыми адгезивными молекулами-1 (VCAM-1) на эндотелии

(Zapolska-Downar D. et al., 2001). VCAM-1 являються переважно ендотеліальними адгезивними молекулами і експресуються після активації еритроцитів запалювальними медіаторами. Взаємодія VLA-4 і VCAM-1 забезпечує «прокатывание» моноцитів по поверхні ендотеліа і адгезивний ефект взаємодії β_2 -інтегрину моноцитів з ICAM-1 (Meisel S.R. et al., 1998). Взаємодія інтегрінових комплексів лейкоцитів з їх лігандами на ендотеліа приводить до міцної адгезії нейтрофілних гранулоцитів і моноцитів до судинної стінки (Jourdan J.E. et al., 1999).

Способність інтегрінов зв'язуватися з лігандами залежить від наявності двохвалентних катіонів. В нормі LFA-1 експресований на лейкоцитах в низкоафінному стані, але при підвищенні концентрації Mg^{2+} переходить в високоафінне. При підвищенні концентрації Ca^{2+} інтегрини на поверхні кліток перерозподіляються, формують високоафінні «плями» (Ройт А. і соавт., 2000).

$\alpha v\beta 3$ -Інтегрінові рецептори, які експресуються на моноцитах/макрофагах і здатні до їх трансендотеліальної міграції за допомогою взаємодії з адгезивними молекулами PECAM-1 (тромбоцитарно-ендотеліальними адгезивними молекулами-1), експресовуваними ендотелієм (Bishop G.G. et al., 2001).

До суперсімейства іммуноглобулінів належить ряд адгезивних молекул, розташованих переважно на ендотеліа і мають в своєму складі Ig-подібні домени. До них належать: ICAM-1 і ICAM-2, VCAM-1, PECAM-1 і молекули адгезії високого ендотеліа венул лімфоїдних образів в слизових оболонках типу MAdCAM-1, названі раніше адресином-1. Експресія цих молекул на ендотеліа судин має постійний характер, але значно посилюється при його стимуляції прозапалювальними цитокинами і модифікованими ліпопротеїнами (Ridker P.M., 1998; Pasceri V. et al., 2000).

Запитання про постійність експресії клітинних адгезивних молекул на ендотеліа залишається дискусійним. ICAM-1 (CD54) – адгезивна молекула, яка є контрлігандом для інтегрінового комплексу LFA-1 (CD11a/CD18) і MAC-1 (CD11b/CD18) нейтрофілних гранулоцитів і моноцитів, за даними одних авторів експресується на мембрані еритроцитів конститутивно, але посилено – в умовах стимуляції (Kokura S. et al., 1999). Гіперекспресія ICAM-1 під впливом цитокинів або при реперфузії відзначається через 2–4 год, збігаючись за часом з гіперекспресією комплексу CD11/CD18 на лейкоцитах (Jourdan J.E. et al., 1999). ICAM-1 також локалізується на лімфоцитах і моноцитах, сприяючи їх взаємній адгезії з утворенням великих багатоклітинних агрегатів. В інших дослідженнях експресія як ICAM-1, так і VCAM-1 не відзначалась в неповрежених артеріях, але виявлялась тільки при активації ендотеліа прозапалювальними медіаторами – ФНО-1, ІЛ-1, інтерфероном і була залежною від фактора NF- κ B (Cerceca B. et al., 1997; Parry G.C.N.,

Mackman N., 1998). В той же час в культурі кліток ендотеліа відзначено конститутивний синтез ICAM-2, що дозволило передположити, що саме цей білок визначає базовий рівень зв'язування лейкоцитів з ендотелієм. Молекули VCAM-1 (CD106) є селективними адгезивними молекулами тільки для моноцитів крові і лігандами до них служать інтегрінові рецептори VLA-4 на моноцитах (Meisel S.R. et al., 1998; Zapolska-Downar D. et al., 2001).

Молекули PECAM-1 експресуються конститутивно на поверхні лейкоцитів, тромбоцитів, еритроцитів і локалізуються в останньому випадку на міжклітинних з'єднаннях; антитіла до PECAM-1 значно угнетяють трансендотеліальну міграцію лейкоцитів в умовах реперфузії з наступним зменшенням вираженості некрозу (Jourdan J.E. et al., 1999).

Процес взаємодії кліток крові з ендотелієм і вихід лейкоцитів з судинного русла через ендотеліа відбувається в декількох етапах, що визначається особливостями кінетики взаємодії різних адгезивних молекул з відповідними лігандами. Насамперед клітки крові займають крайове положення в судинному руслі, в результаті чого рух лейкоцитів по судині уповільнюється, і вони ніби прокатуються по ендотелію. Цей процес забезпечується взаємодією Р-селектину еритроцитів з його лігандом – фактором Льюїса X на нейтрофілних гранулоцитах і моноцитах, а наступне взаємодія Р-селектину з PSGL-1 приводить до нестійкої адгезії лімфоцитів до ендотеліа (Jourdan J.E. et al., 1999).

Способність прозапалювальних медіаторів ініціювати взаємодію адгезивних молекул з їх лігандами угнетена при повноцінній функціонуванні ендотеліа і нормальному высвобожденні з його допомогою відповідних з'єднань, насамперед оксиду азоту (NO). Зменшення продукції ендотелієм NO приводить до посиленої експресії Р-селектину на еритроцитах і активує адгезію моноцитів і нейтрофілних гранулоцитів до ендотеліа. Встановлено, що угнетення фази прокатывания лейкоцитів має вирішальне значення в запобіганні розвитку запальної реакції (Scalia R. et al., 1999). При важкому травматичному шоці вже через 15 хвилин відбувається зменшення высвобождения NO ендотелієм в поєднанні з посиленою експресією еритроцитів Р-селектину, що приводить до активації запальних кліток крові і супроводжується їх посиленою прокатыванием по ендотелію (Scalia R. et al., 1999).

Хронічне угнетення синтезу NO в експерименті шляхом введення L-NAME – блокатора NO-синтази викликає у мишей ранні прояви запальних змін – інфільтрацію моноцитів в коронарні судини і експресію моноцитарного хемотаксичного протеїна-1 (MCP-1) з наступним розвитком атеросклерозу – утолщення інтими, периваскулярний фіброз і кардіосклероз (Koyanagi M. et al., 2000; Kitamoto S. et al., 2000). При-

менение антител к MCP-1 предупреждало развитие воспаления и уменьшало выраженность утолщения интимы. В культуре эритроцитов показано, что угнетение синтеза NO приводит к усиленной экспрессии адгезивных молекул и продукции MCP-1 посредством развития оксидантного стресса и повышения активности ядерного фактора транскрипции NF-kB, который регулирует активность генов, ответственных за развитие воспалительного ответа (Koynagi M. et al., 2000; Beckman J.A. et al., 2001).

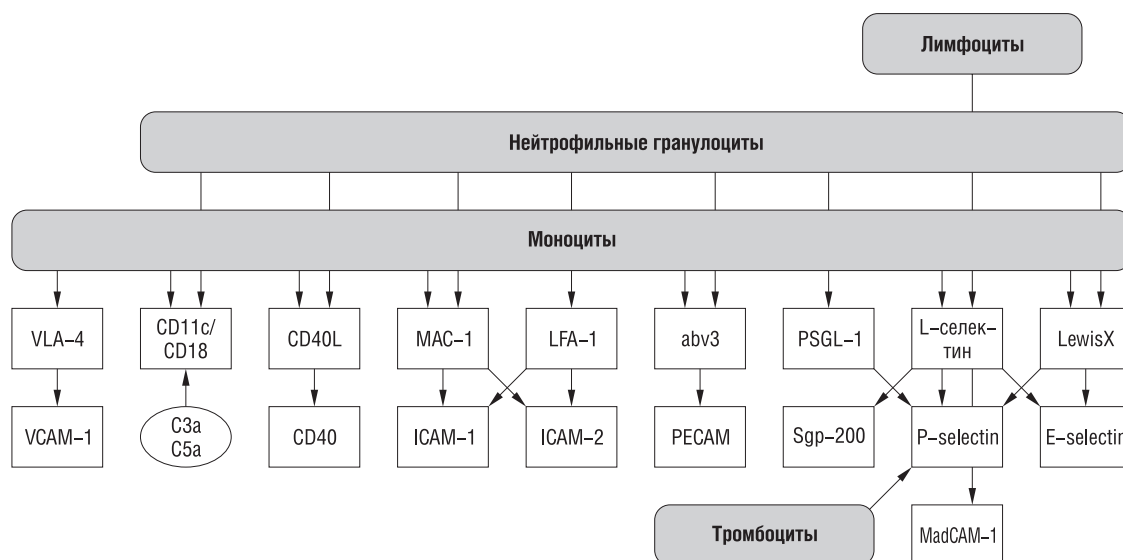
Экспрессия Р-селектина на эритроцитах с интенсивной адгезией воспалительных клеток крови и их миграцией в сосудистую стенку активируется также при стимуляции окисленными ЛПНП и их основного действующего начала лизофосфатидилхолина (ЛФХ); этот процесс значительно активируется при угнетении продукции NO (Pongratz G. et al., 1997; Mehta J.L., Li D.Y., 1999; Martin K.R. et al., 2000).

Процесс адгезии лейкоцитов к эндотелию находится под контролем локальных гормональных регуляторных факторов. Лейкоциты и эритроциты снабжены рецепторами ангиотензина II (А-II) и могут активироваться им с усиленной экспрессией Р-селектина на клеточной поверхности (Martin K.R. et al., 2000). Применение А-II в дозе 1 нмоль/л в течение 60 мин приводит к усилению «прокатывания» лейкоцитов по эндотелию в 5 раз, их адгезии - в 13 и миграции - в 20 раз. А-II также стимулирует высвобождение MCP-1 из артериальных эритроцитов, способствуя хемотаксису моноцитов (Piqueras L. et al., 2000). Возможно, поэтому гипертензия сочетается с миграцией моноцитов в сосудистую стенку, что приводит к инициации атеросклеротических изменений, и этот эффект угнетается ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (Piqueras L. et al., 2000).

Активированные тромбоциты способствуют активации нейтрофильных гранулоцитов и усиливают процесс их адгезии к эндотелию и миграции в сосудистую стенку при гипоксии и реоксигенации. Это обусловлено способностью активированных тромбоцитов адгезировать к лейкоцитам и затем «прокатываться» вместе с ними по эндотелию (Kodaki S. et al., 1999). Реперфузия изолированного сердца кролика

средой, содержащей только нейтрофильные гранулоциты, не оказывает угнетающего влияния на сердце, тогда как при содержании в перфузате нейтрофильных гранулоцитов и тромбоцитов реперфузия сопровождается дальнейшим увеличением нарушенной кардиодинамики (Kodaki S. et al., 1999). Активированные тромбоциты способны также активировать эритроциты, и после 6 ч гипоксии последние, инкубированные вместе с тромбоцитами, характеризовались повышенной (на 63%) адгезивностью к нейтрофильным гранулоцитам, способствуя их активации. Это взаимодействие осуществляется через Р-селектин и его блокада на тромбоцитах угнетает активацию нейтрофильных гранулоцитов, их адгезию к эндотелию, трансэндотелиальную миграцию и высвобождение супероксидного радикала, ослабляя выраженность реперфузионного повреждения (Kodaki S. et al., 1999). Взаимодействие тромбоцитов с моноцитами и нейтрофильными гранулоцитами медируется связыванием Р-селектина с его лигандом на лейкоцитах - Р-селектиновым гликопротеиновым лигандом-1, что приводит к их активации и индукции высвобождения хемокинов MCP-1 и ИЛ-8 и экспрессии моноцитов тканевого фактора (Manka D. et al., 2001). В результате экспрессия Р-селектина индуцирует трансэндотелиальную миграцию моноцитов и нейтрофильных гранулоцитов с развитием ранних воспалительных изменений, лежащих в основе начальных долипидных нарушений структуры стенки сосудов и повышения коагуляционного потенциала крови. Поэтому отсутствие гена Р-селектина у мышей с генетическим дефицитом апо-Е, склонных к развитию атеросклероза, на 94% угнетает развитие неоинтимы при содержании на атерогенной диете (Manka D. et al., 2001).

У пациентов с заболеваниями сердца происходит усиленная экспрессия Р-селектина на тромбоцитах, и в крови появляется его растворимая форма - sP-селектин (Eguchi H. et al., 1999). Высокая плазменная концентрация sP-селектина (137,3 нг/мл) соответствует наиболее высокому риску развития ишемической болезни сердца (ИБС), поэтому его уровень в крови является маркером и механизмом раннего



атеросклероза (Stiegler H. et al., 1997; Ridker P.M. et al., 2001).

Описан и иной механизм рекрутирования моноцитов в сосудистую стенку, опосредованный участием активированных тромбоцитов (Hundelshausen P. et al., 2001). Последние, стимулированные тромбином, высвобождают адгезивные молекулы RANTES, которые связываются с соответствующими рецепторами на моноцитах и эритроцитах, образуя между ними мостики. Неактивированные эритроциты экспрессируют только незначительное количество рецепторов RANTES, и поэтому повышение их адгезивности после взаимодействия с тромбоцитами отмечено только при стимуляции эндотелия провоспалительными цитокинами, в частности ИЛ-1. Это подтверждено исследованиями взаимодействия активированных тромбоцитов с активированными клетками эндотелиального монослоя, после чего на эритроцитах обнаружена иммобилизация RANTES (Hundelshausen P. et al., 2001). В то же время RANTES не способны связываться с тромбоцитами и потому не активируют их адгезию к моноцитам. Участие RANTES, продуцируемых тромбоцитами, является самостоятельным механизмом рекрутирования моноцитов, вызванного воспалением или атеросклерозом (Hundelshausen P. et al., 2001), и иммуногистохимически подтверждено, что RANTES присутствуют на эндотелии ранних атеросклеротических повреждений в сонных артериях апо-Е-дефицитных мышей, обеспечивая мобилизацию моноцитов.

Следующим этапом взаимодействия эритроцитов с клетками крови вслед за их «прокатыванием» и непрочной адгезией является активация; фиксированные лейкоциты подвергаются воздействию цитокинов, хемотаксических агентов, компонентов поверхности эндотелия и внеклеточного матрикса. Эти факторы способны активировать лейкоциты и включить программу их миграции. В результате прикрепления лейкоцитов происходит мобилизация интегринов и повышается их аффинность, что обеспечивает эффективное взаимодействие с эндотелиальными молекулами межклеточной адгезии.

Трансэндотелиальная миграция лейкоцитов обеспечивается участием иных типов адгезивных молекул. Для каждого этапа миграции клеток характерно участие специфического набора молекул адгезии и хемотаксических агентов. Молекулы, регулирующие миграцию лейкоцитов в очаг воспаления, отличаются от молекул, ответственных за нормальную миграцию лимфоцитов. Непримирированные лимфоциты постоянно экспрессируют L-селектин, обеспечивающий связывание с углеводными лигандами на клетках высокого эндотелия венул в лимфоидных образованиях слизистых оболочек и в периферических лимфоузлах. При остром воспалении происходит экспрессия целого ряда других адгезивных молекул на эндотелии и лигандов к ним на клетках крови. Нейтрофильные гранулоциты появляются в очаге остроо воспаления в его ранней стадии и это обусловлено в значительной мере экспрессией E-селектина на поверхности эндотелия, индуцированной цитокина-

ми. Стимуляция клеток эндотелия цитокинами типа ФНО-а или ИЛ-1 *in vitro* индуцирует экспрессию E-селектина спустя 4–12 ч, а через 24 ч она прекращается. Фиксация нейтрофильных гранулоцитов на эндотелии при участии E-селектина – первая необходимая стадия их миграции.

Важную роль в миграции нейтрофильных гранулоцитов, лимфоцитов и моноцитов выполняют экспрессируемые лейкоцитами b2-интегрины LFA-1 и MAC-1 (CR3), которые связываются с эндотелиальными молекулами межклеточной адгезии суперсемейства иммуноглобулинов. Так, LFA-1 взаимодействует с ICAM-1 и ICAM-2 на эндотелии сосудов, а MAC-1 – только с ICAM-1. В условиях культуры эритроциты конститутивно экспрессируют ICAM-2, и он, по-видимому, определяет фоновый уровень связывания лейкоцитов с эндотелием *in vivo*. Напротив, экспрессия клетками эндотелия ICAM-1, слабо выраженная в условиях нормы, резко усиливается при действии цитокинов (Kupatt C. et al., 1997; Gawaz M. et al., 2000). Экспрессия же b2-интегринов лейкоцитов и повышение их адгезивности стимулируется хемоаттрактантами ФАТ и ЛтВ₄. В условиях *in vitro* индуцированная экспрессия ICAM-1 наблюдается на протяжении 2–96 ч после стимуляции эндотелия с максимумом через 2–4 ч. Следует отметить, что LFA-1 и CR3 связываются с ICAM-1 на разных участках.

Экспрессия эндотелием молекул VCAM-1 и ICAM-1 синхронно индуцируется провоспалительными цитокинами. VCAM-1 связываются с b1-интегрином (VLA-4), который экспрессируется на лейкоцитах некоторых субпопуляций и опосредует избирательную адгезию моноцитов. VLA-4 – единственная b1-интегриновая молекула, принимающая участие в адгезии клеток крови к эндотелию, остальные опосредуют взаимодействие лейкоцитов с внеклеточным матриксом.

Экспрессия ICAM-1, VCAM-1 и дополнительная экспрессия ICAM-2 связаны с их синтезом *de novo*. В эритроцитах и моноцитах, активированных в условиях воспаления, происходит NF-κB-зависимая индукция генов, ответственных за образование адгезивных молекул и воспалительных медиаторов типа цитокинов, хемокинов и факторов роста. В свою очередь активация фактора NF-κB вызывается действием цитокинов, бактериальных токсинов, окисленных липопротеинов, АФК, напряжения сдвига, конечных продуктов продвинутого гликозилирования (AGE's), компонентов комплемента, гипоксии (Ridker P.M. et al., 1998). Фактор NF-κB является гетеродимером, в неактивной форме находится в цитоплазме и связан с ингибиторной субъединицей IκB. При действии активирующих факторов NF-κB диссоциирует с ней, перемещается в ядро и инициирует транскрипцию различных генов, ответственных за продукцию цитокинов, факторов роста и дифференциацию (Ouchi N. et al., 2001). В эритроцитах фактор NF-κB регулирует экспрессию адгезивных молекул ICAM-1 и VCAM-1 (Cerceska V. et al., 1997; Parry G.C.N., Mackman N., 1998).

Поскольку активация фактора NF-κB медируется радикальными формами кислорода, то антиок-

сиданты могут играть существенную роль в угнетении адгезии моноцитов и нейтрофильных гранулоцитов к эндотелию. Показано, что *in vitro* b-токоферол дозозависимо угнетает адгезию моноцитов и эритроцитов аорты в сочетании со снижением уровня растворимых молекул ICAM-1, которые являются рецептором моноцитарных CD11b. Предполагается, что этот эффект обусловлен гашением свободных радикалов кислорода и предупреждением активации фактора NF- κ B (Islam K.N. et al., 1998). Применение b-каротена угнетает экспрессию эритроцитов VCAM-1, индуцированную ИЛ-1, на 30%, E-селектина - на 38% (Martin K.R. et al., 2000).

После перенесенного инфаркта миокарда циркулирующие нейтрофильные гранулоциты и моноциты экспрессируют увеличенное количество адгезивных молекул LFA-1 и MAC-1, а моноциты также ICAM-1 и VLA-4, что указывает на их активацию и усиленное взаимодействие с эндотелием. Усиленная экспрессия ICAM-1 на моноциты может являться причиной образования их микроагрегатов путем взаимодействия этих молекул с LFA-1 и MAC-1 на нейтрофильные гранулоциты и моноциты (Meisel S.R. et al., 1998). Выраженность этих изменений в значительной мере определяет прогноз дальнейшего течения заболевания и отражает уровень риска развития острого коронарного синдрома.

Уровень VCAM-1 в крови определяется степенью поражения сосудистого эндотелия и является одним из важнейших индикаторов активности системного воспаления, отражая интенсивность атеросклеротического процесса и характер клинического течения ИБС (Zapolska-Downar D. et al., 2001). Оно значительно (на 60%) выше у больных со стабильной стенокардией по сравнению со здоровыми пациентами и на 50% повышено у больных с нестабильной стенокардией. Особенно высокий уровень VCAM-1 в крови (на 100% выше, чем у больных со стабильным течением патологического процесса) наблюдается у больных с нестабильной стенокардией и ангиографически интактными коронарными артериями, что свидетельствует о значительно более генерализованном поражении эндотелия (Prado K. et al., 1997). Артериовенозная разница концентрации VCAM-1 значительно более высока у больных с прогрессирующей формой атеросклероза, и поэтому она рассматривается как прогностический показатель повышения тяжести стеноза (Yamamoto H. et al., 1997). В то же время на фоне закономерно повышенного уровня sICAM-1 в крови у больных с ИБС различных форм клинического течения содержание L-селектина может быть как повышено, так и снижено, по-видимому, в результате длительной активации и истощения нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов. По данным других исследований, для хронического течения ИБС характерно достоверное повышение уровня ICAM-1 и L-селектина при неизменной концентрации VCAM-1 (Mehta J.L., Li D.Y., 1999). Кроме этого, при остром коронарном синдроме параллельно с усилением продукции адгезивных молекул клетками эндотелия закономерно возрастает экс-

прессия нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов адгезивных лигандов к ICAM-1 - MAC-1 (CD11b/CD118) (Mehta J.L., Li D.Y., 1999).

Взаимодействие клеток крови с эндотелием в значительной мере обеспечивается функционированием недавно описанной сигнальной системы CD40—CD40L. Эндотелиальный гликопротеин CD40 относится к семейству рецепторов ФНО-а (Mehta J.L., Li D.Y., 1999); он экспрессируется при действии провоспалительных цитокинов и рассматривается как маркер активации эндотелия (Byrne C.D., 1999). CD40 после взаимодействия с лигандом CD40L, который экспрессируется активированными лейкоцитами, вызывает экспрессию других эндотелиальных адгезивных молекул типа VCAM-1 и E-селектина, и поэтому может играть регуляторную роль в рекрутировании иммунокомпетентных клеток в атероматозную бляшку (Boer O.J. et al., 1997). В условиях культуры ткани установлено, что mRNA и белок CD40 постоянно экспрессируют не только эритроциты, но ГМК сосудов и макрофагов, что обеспечивает их взаимодействие с лейкоцитами. В атеросклеротической бляшке человека эритроциты, ГМК и макрофаги содержат CD40 и CD40L, тогда как клетки нормальных артерий не содержат CD40L (Mach F. et al., 1997; 1998).

Связывание эритроцитов через CD40 с CD40L Т-клеток и макрофагов приводит к экспрессии в эндотелии металлопротеиназ, частично в результате их синтеза *de novo* (Mach F. et al., 1997). Активация металлопротеиназ сопровождается деградацией белков соединительнотканного матрикса и ослабляет фиброзную капсулу, снижая стабильность атеромы (Mach F. et al., 1997). Применение моноклональных антител к CD40L у мышей с гиперхолестеринемией уменьшает размер атеросклеротического поражения, количество рекрутируемых макрофагов и Т-лимфоцитов, экспрессию адгезивных молекул VCAM-1 (Mehta J.L., Li D.Y., 1999).

Активированные и адгезировавшие лейкоциты высвобождают целый ряд цитотоксических медиаторов типа свободных радикалов кислорода, ФАТ, ЛтВ₄, протеолитических ферментов, а моноциты, кроме того, цитокины и тканевой фактор (Eguchi H. et al., 1999; Prentis C.R.M., 1999; Kodaki S. et al., 1999). Продукцируемые адгезировавшими клетками цитокины, АФК и биологически активные вещества усугубляют функциональную неполноценность эритроцитов, подавляя продукцию NO, стимулируют продукцию хемоаттрактантов и адгезивных молекул (Aukrust P. et al., 2001).

Взаимодействие адгезивных молекул PECAM-1, расположенных в основном на межклеточных соединениях эритроцитов, с их лигандами - avb3-интегринами на поверхности моноцитов/макрофагов, обеспечивает миграцию этих клеток крови через эндотелиальный монослой (Bishop G.G. et al., 2001). Молекулы PECAM-1 экспрессируются на латеральных поверхностях эритроцитов под действием хемоаттрактантов, высвобождаемых из клеток атеросклеротической бляшки (перекисей липидов, хемокинов и ЛтВ₄) (Prost D., Hakim J., 1997).

На эритроциты идентифицированы эндотелий-специфичные адгезивные молекулы - VE-cadherin

(CD144), которые концентрируются на межэндотелиальных клеточных контактах и определяют непрерывность эндотелиального слоя. Антитела к VE-cadherin нарушают межклеточное взаимодействие эритроцитов и их адгезию к базальной мембране. Угнетение экспрессии VE-cadherin в пределах пораженных микрососудов сочетается с усиленным входом иммунокомпетентных клеток в интимальный матрикс в очагах неоваскуляризации, свидетельствуя о дезорганизации связи между эритроцитами (Bobryshev Y.V. et al., 1999).

Пройдя сквозь эндотелий сосуда, лейкоциты взаимодействуют с белками внеклеточного матрикса (коллаген, ламинин, фибронектин и др.) и теряют L-селектин в результате энзиматического расщепления. Происходит смена функционального фенотипа, в результате чего циркулировавшая клетка приспособляется к перемещению в тканях.

Ряд адгезивных молекул поверхности лейкоцитов, обеспечивающих взаимодействие с внеклеточным матриксом, входят в группу b1-интегринов и названы «очень поздними антигенами» (very late antigens, VLA), поскольку впервые были идентифицированы на поверхности Т-клеток в поздней стадии активации. Эта группа включает рецепторы коллагена (VLA-2 и VLA-3), ламинина (VLA-3 и VLA-6) и фибронектина (VLA-3, VLA-4 и VLA-5). Сам факт их появления означает отдаленный этап активации лейкоцитов при их взаимодействии с внеклеточным матриксом.

На последующих этапах взаимодействия клеток крови с сосудистой стенкой происходит лизис базальной мембраны. Ферменты, выделяемые мигрировавшими клетками, лизируют коллаген и другие компоненты базальной мембраны эндотелия, что позволяет лейкоцитам проникать в ткани.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что взаимодействие клеток крови с сосудистой стенкой является важнейшим компонентом иммунной защиты организма, обеспечивая постоянную транссосудистую миграцию лимфоцитов в ткани и лимфатические узлы в целях обнаружения чужеродных антигенов. Помимо этого, экспрессия в условиях повреждения тканей адгезивных молекул на эндотелии и воспалительных клетках крови является начальным этапом их рекрутирования в очаг воспаления и инициирует широкий спектр изменений, в основном защитного характера, но приводящих при чрезмерно длительной или интенсивной активации к дополнительному развитию дистрофических и некротических изменений. Сложность процесса экспрессии эритроцитами и клетками крови различных классов адгезивных молекул и их взаимодействия с соответствующими лигандами определяют четкую этапность развития воспаления и особый характер его регуляции на определенном этапе.

ЛИТЕРАТУРА

Ройт А, Бростофф Дж, Мейл Д. (2000) Иммунология. Мир, Москва, 582 с.

Aukrust P., Berge R.K., Ueland T. et al. (2001) Interaction between chemokines and oxidative stress: possible pathogenic role in acute coronary syndromes. *J. Amer. Coll. Cardiol.*, 37(2): 485–491.

Beckman J.A., Goldfine A.B., Gordon M.B. et al. (2001) Ascorbate restores endothelium-dependent vasodilation impaired by acute hyperglycemia in humans. *Circulation*, 103(12): 1618–1623.

Bishop G.G., McPherson J.A., Sanders J.M. et al. (2001) Selective avb3-receptor blockade reduces macrophage infiltration and restenosis after balloon angioplasty in the atherosclerotic rabbit. *Circulation*, 103(14): 1906–1911.

Bobryshev Y.V., Cherian S.M., Inder S.J., Lord R.S.A. (1999) Neovascular expression of VE-cadherin in human atherosclerotic arteries and its relation to intimal inflammation. *Circulat. Res.*, 43(4): 1003–1017.

Boer O.J., Wal A.C., Loss C.M., Becker A.E. (1997) Expression of adhesion molecules on microvessels in advanced human atherosclerotic plaques: an alternative pathway for leucocyte recruitment into human atherosclerotic plaques. *Eur. Heart J.*, 18(Suppl.): 144.

Byrne C.D. (1999) Triglyceride-rich lipoproteins: are links with atherosclerosis mediated by a procoagulant and proinflammatory phenotype? *Atherosclerosis*, 145(1): 1–15.

Cerceka B., Yamashita M., Dimayuga P. et al. (1997) Nuclear factor- κ B and arterial injury. *Atherosclerosis*, 131(1): 59–66.

Davi G., Romano M., Mezzetti A. et al. (1998) Increased levels of soluble P-selectin in hypercholesterolemic patients. *Circulation*, 97(10): 953–957.

Eguchi H., Ikeda H., Murohara T. et al. (1999) Endothelial injuries of coronary arteries distal to thrombotic sites. Role of adhesive interaction between endothelial P-selectin and leukocyte sialyl Lewis X. *Circulat. Res.*, 84(5): 525–535.

Gawaz M., Brand K., Dickfeld T. et al. (2000) Platelets induce alterations of chemotactic and adhesive properties of endothelial cells mediated through an interleukin-1-dependent mechanism. Implications for atherogenesis. *Atherosclerosis*, 148(1): 75–85.

Hundelshausen P., Weber K.S.C., Huo Y. et al. (2001) RANTES deposition by platelets triggers monocyte arrest on inflamed and atherosclerotic endothelium. *Circulation*, 103(13): 1772–1777.

Islam K.N., Devaraj S., Jialal I. (1998) α -tocopherol enrichment of monocytes decreases agonist-induced adhesion to human endothelial cells. *Circulation*, 98(21): 2255–2261.

Jourdan J.E., Zhao Z.-Q., Vinten-Johansen J. (1999) The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc. Res.*, 43(4): 860–878.

Kitamoto S., Egashira K., Kataoka C. et al. (2000) Increased activity of Nuclear Factor- κ B participates in cardiovascular remodelling induced by chronic inhibition of nitric oxide synthesis in rats. *Circulation*, 102(15): 806–812.

Kodaki S., Sawa Y., Sano T. et al. (1999) Selectin on activated platelets enhances neutrophil endothelial adherence in myocardial reperfusion injury. *Circulat. Res.*, 43(4): 968–973.

Kokura S., Wolf R.E., Yoshikawa T. et al. (1999) Molecular mechanisms of neutrophil-endothelial cell adhesion induced by redox imbalance. *Circulat. Res.*, 84(5): 516–524.

Koyanagi M., Egashira K., Kitamoto S. et al. (2000) Role of monocyte chemoattractant protein-1 in cardiovascular remodelling induced by chronic blockade of nitric oxide synthesis. *Circulation*, 102(18): 2243–2248.

Kupatt C., Wolf D.A., Weber C. et al. (1997) Nitric oxide inhibits NF κ B activation by hypoxia and reoxygenation in coronary endothelial cells. *Eur. Heart J.*, 18(Suppl.): 340.

Lefler A.M. (1997) Selectins: vital vasculotropic vectors involved in vascular remodeling. *Circulation*, 96(10): 3258–3260.

Mach F., Schonbeck U., Libby P. (1998) CD40 signaling in vascular cells: A key role in atherosclerosis? *Atherosclerosis*, 137(Suppl. 1): S89–S95.

Mach F., Schonbeck U., Sukhova G.K. et al. (1997) Presence of CD40 and CD40L in human atherosclerotic plaque: implications for matrix metalloproteinases expression by endothelial cells. *Eur. Heart J.*, 18(Suppl.): 228.

Manka D., Collins R.G., Ley K. et al. (2001) Absence of P-selectin, but not intracellular adhesion molecule-1, attenuates neointimal growth after arterial injury in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*, 103(7): 1000–1005.

Martin K.R., Wu D., Meydani M. (2000) The effect of carotenoids on the expression of cell surface adhesion molecules and binding of monocytes to human aortic endothelial cells. *Atherosclerosis*, 150(2): 265–274.

Mehta J.L., Li D.Y. (1999) Inflammation in ischemic heart disease: Response to tissue injury or a pathogenetic villain? *Cardiovasc. Res.*, 43(2): 291–299.

Meisel S.R., Shapiro H., Radnay J., Neuman Y., Khaskia A.R., Gruener N., Pazner H., David D. (1998) Increased expression of neutrophil and monocyte adhesion molecules LFA-1 and Mac-1 and their ligand ICAM-1 and VLA-4 throughout the acute phase of myocardial infarction: possible implications for leukocyte aggregation and microvascular plugging. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 31(1): 120–125.

Ouchi N., Kihara S., Arita Y. et al. (2001) Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation*, 103(10): 1057–1063.

Pasceri V., Willerson J.T., Yeh E.T.H. (2000) Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*, 102(18): 2165–2168.

Pary G.C.N., Mackman N. (1998) NF- κ B mediated transcription in human monocytic cells and endothelial cells. *Trends Cardiovasc. Med.*, 8(3): 138–142.

Piqueras L., Kubes P., Alvarez P. et al. (2000) Angiotensin II induces leukocyte-endothelial cell interactions in vivo via AT1 and AT2 receptor-mediated P-selectin upregulation. *Circulation*, 102(17): 2118–2123.

Pongratz G., Pohle C.F., Bachmann K. (1997) Components from oxidatively modified low-density lipoproteins induce P-selectin expression on platelets. *Eur. Heart J.*, 18(Suppl.): 48.

Prado K., Ribeiro J.P., Quadros A., Clausell N. (1997) Higher plasma level of soluble vascular cellular adhesion molecule-1 are associated with the presence of chest pain in coronary artery disease. *Eur. Heart J.*, 18(Suppl.): 47.

Prentis C.R.M. (1999) Platelets and atherosclerosis. *Eur. Heart J.*, 1(Suppl. A): A3–A7.

Prost D., Hakim J. (1997) Phagocyte implications in advanced atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 131(Suppl. 1): S19–S21.

Ridker P.M. (1998) Interleukin adhesive molecule (ICAM-1) and the risks of developing atherosclerotic disease. *Eur. Heart J.*, 19(8): 1119–1121.

Ridker P.M., Buring J.E., Rifai N. (2001) Soluble P-selectin and the risk of future cardiovascular events. *Circulation*, 103(4): 491–495.

Ridker P.M., Cushman M., Stampher M.J. et al. (1998) Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. *Circulation*, 97(5): 425–428.

Scalia R., Hayward R., Armstead V.E., Minchenko A.G., Lefer A.M. (1999) Effect of recombinant soluble P-selectin glycoprotein ligand-1 on leukocyte-endothelium interaction in vivo in rat traumatic shock. *Circ. Res.*, 84(1): 93–102.

Schratzberger P., Dunzendorfer S., Reinisch N. et al. (1998) Release of chemoattractants for human monocytes from endothelial cells by interaction with neutrophils. *Cardiovasc. Res.*, 38(2): 516–521.

Stiegler H., Fischer Y., Schoebel F.C. et al. (1997) P-selectin b-tromboglobulin plasma levels as indicator for platelet- and leukocyte activation in acute myocardial infarction. *Eur. Heart J.*, 18(Suppl.): 69.

Yamamoto H., Uemura S., Tomoda Y. et al. (1997) Plasma soluble adhesion molecule and the progression of coronary atherosclerosis. *Eur. Heart J.*, 18(Suppl.): 48.

Zapolska-Downar D., Zapolska-Downar A., Markiewski M. et al. (2001) Selective inhibition by probucol of vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) expression in human vascular endothelial cells. *Atherosclerosis*, 155(1): 123–130.

МЕХАНІЗМИ ВЗАЄМОДІЇ КЛІТИН КРОВІ ТА СУДИННОЇ ТА ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ ЗАПАЛЬНОЇ ТА ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ

Т.В. Талаєва

Резюме. Аналіз сучасної літератури свідчить про те, що взаємодія клітин крові та судинної стінки є початковим та найважливішим чинником розвитку різних фізіологічних і патологічних реакцій. Зокрема, вона лежить в основі імунного захисту організму, що забезпечує постійну транссудинну міграцію лімфоцитів у тканини та лімфатичні вузли з метою виявлення чужорідних антигенів. В умовах пошкодження тканин, оксидантного стресу, дії прозапальних медіаторів — цитокінів та хемокі-

нів — експресія адгезивних молекул на ендотелії та лейкоцитах є початковим етапом їх рекрутування у вогнище запалення. Це супроводжується виникненням широкого спектра реакцій захисного характеру, у разі надмірної тривалості або інтенсивності призводять до додаткового розвитку дистрофічних і некротичних змін. Такий процес характерний для локального запалення у стінці артеріальних судин, що лежить в основі розвитку атеросклерозу, для виникнення гострого коронарного синдрому, реперфузійного пошкодження тканин серця, ремоделювання судинної стінки та розвитку рестенозу після ангіопластики. Складність процесу експресії ендотеліоцитами і клітинами крові різних класів адгезивних молекул та їх взаємодії з відповідними лігандами визначає чітку етапність розвитку запалення та особливий характер його регуляції на кожному етапі.

Ключові слова: моноцити, нейтрофільні гранулоцити, ендотеліоцити, адгезивні молекули.

THE MECHANISMS OF BLOOD CELLS AND VASCULAR WALL INTERACTION IN REALIZATION OF INFLAMMATORY AND IMMUNE RESPONSES

T.V. Talaeva

Summary. The analysis of current literature data shows that the interaction of blood cells with vascular wall is the initial and the most important component of manifold physiological and pathological reactions. In particular it is the basis of the immune defence of the organism, providing permanent transvascular lymphocytes migration in tissue and lymphatic nodes with the purpose of foreign antigen revealing. In conditions of tissue damage, oxidative stress, action of proinflammatory mediators — cytokines and chemokines — the expression of adhesive molecules by endothelium and leucocytes is the initial step of their recruiting in the nidus of inflammation. It is followed by the development of wide spectrum of reactions which have defensive direction but can also lead to the development of additional dystrophic and necrotic changes in cases of their excessive duration or intensity. It is typical for the local inflammation in arterial vascular wall leading to atherosclerosis development, for the initiation of acute coronary syndrome, reperfusion damage of myocardium, remodelling of vascular wall and restenosis development after angioplasty. The complex nature of the different classes adhesive molecules expression by endothelial and blood cells and their interaction with corresponding ligands determines the strict steps of the inflammation development and the special types of their regulation at every separate stage of the process.

Key words: monocytes, neutrophils, endothelial cells, adhesive molecules.

Адрес для переписки:

Талаєва Татьяна Владимировна
03151, Киев, ул. Народного ополчения, 5
Институт кардиологии им. Н.Д. Стражеско
АМН Украины