

## Γενετική και Επιγενετική μελέτη στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης

Δημήτριος Ι. Χανιώτης\* και Φραγκίσκος Ι. Χανιώτης

Ίδρυμα Ιατροβιολογικών Ερευνών Ακαδημίας Αθηνών (ΙΙΒΕΑΑ), Κέντρο Κλινικής  
Έρευνας, Τομέας Καρδιάς Αγγείων.

Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα (ΤΕΙ) Αθήνας, Σχολή Επαγγελματιών Υγείας  
Πρόνοιας (ΣΕΥΠ).

\*Αλληλογραφία: [chaniotisdimitris@gmail.com](mailto:chaniotisdimitris@gmail.com)

### Περίληψη

Η αθηροσκλήρωση είναι μία σύνθετη εξελικτική και συστηματική νόσος των αρτηριών που προσβάλλει κυρίως τον έσω χιτώνα των μεγάλων και μεσαίων αρτηριών της συστηματικής κυκλοφορίας. Η χρόνια φλεγμονώδης αντίδραση παίζει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση της παθοφυσιολογίας της νόσου και η διήθηση του έσω χιτώνα από μονοκύτταρα-μακροφάγα και T λεμφοκύτταρα σε συνδυασμό με την συνυπάρχουσα ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τη συσσωρευμένη οξειδωμένη LDL είναι τα κυρίαρχα ευρήματα της αθηρογένεσης.

Στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης εμπλέκονται πολλαπλοί γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες αλλά και το μικροπεριβάλλον των κυττάρων στις περιοχές βλάβης. Αν και πρόσφατα έχει αναγνωριστεί μεγάλος αριθμός υπεύθυνων γονιδίων, γενετικών πολυμορφισμών και ευπαθών τόπων σε χρωμοσωμικές περιοχές που συνδέονται με την αθηροσκλήρωση, ωστόσο η επιγενετική διεργασία, που ρυθμίζει την χρωμοσωμική οργάνωση και γενετική έκφραση είναι αυτή που παίζει κύριο ρόλο στην παθογένεια της αθηροσκλήρωσης. Η επιγενετική αναφέρεται στην μελέτη των αλλαγών της γονιδιακής έκφρασης οι οποίες δεν σχετίζονται με αλλαγές σε επίπεδο γονιδιακής αλληλουχίας αλλά με λεπτές μοριακές τροποποιήσεις της χρωματίνης κυρίως, όπως η μεθυλίωση του DNA, και στις μεταβολές της μετά-μετάφρασης στις ιστόνες.

Η έρευνα που διεξάγεται σε επίπεδο γενετικής έχει στόχο την καταπολέμηση της αθηροσκληρωτικής νόσου, η οποία, τις τελευταίες δεκαετίες, έχει καταστεί πρώτη αιτία θνησιμότητας στο Δυτικό κόσμο αλλά και σε άλλες χώρες της Άπω Ανατολής και του Τρίτου κόσμου όπου η επίπτωση από καρδιαγγειακά νοσήματα σημειώνει άλματα και καταγράφεται το 80% της παγκόσμιας ετήσιας θνησιμότητας που οφείλεται σε αυτά. Είναι προφανές όμως ότι αλλαγές στον τρόπο ζωής και ιδιαίτερα ανθυγιεινές διατροφικές επιλογές αλλά και το κάπνισμα συμβάλλουν προς την κατεύθυνση και εμπλέκονται στην αθηρογένεση.

Παρά την αδιαφιλονίκητη πρόοδο που έχει σημειωθεί σε σχέση με την κατανόηση της παθογένεσης της αθηροσκλήρωσης πολλές αιτιολογικές εξηγήσεις της νόσου ακόμη παραμένουν αδιευκρίνιστες.

### Εισαγωγή

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα (ΚΑΑΝ) αποτελούν την πρώτη αιτία θανάτου παγκοσμίως και σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, από 17,1 εκατομμύρια ετήσιους θανάτους το 2004, που αντιστοιχεί στο 29% της παγκόσμιας θνησιμότητας, εκτιμάται ότι θα φτάσουν τα 23,6 εκατομμύρια το 2030. Δυσανάλογα η κατανομή αυτή, που αφορά το 82% του συνόλου των θανάτων από καρδιαγγειακά

νοσήματα, συμβαίνει σε χώρες χαμηλής και μέσης οικονομικής στάθμης, ισότιμα σε άνδρες και γυναίκες. Κυριότερη έκφραση της ΚΑΑΝ είναι η στεφανιαία νόσος (ΣΝ) υπεύθυνη για τους μισούς περίπου θανάτους, καθώς και τα αγγειακά εγκεφαλικά επεισόδια (ΑΕΕ)

Τα καρδιαγγειακά νοσήματα όμως είναι η κύρια αιτία θανάτου και στην Ευρώπη, σε ποσοστό που αγγίζει το 50% (54% γυναίκες και 43% άνδρες) και σε απόλυτους αριθμούς αντιστοιχεί σε 4 εκατομμύρια καρδιαγγειακούς θανάτους ετησίως. Σύμφωνα με την Αμερικανική Καρδιολογική Εταιρεία οι καρδιαγγειακές παθήσεις είναι η κυριότερη αιτία θανάτου και στις ΗΠΑ (2002) και συγκεκριμένα η στεφανιαία νόσος και το αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο ευθύνονται για το 38% των θανάτων. Το άμεσο και έμμεσο κόστος των καρδιαγγειακών νοσημάτων στην Ευρώπη για το έτος 2003, υπολογίστηκε στα 169 δισεκατομμύρια Ευρώ, με το 21% να αποτελεί κόστος λόγω απώλειας παραγωγικότητας. Στις ΗΠΑ για το 2006 το συνολικό κόστος υπολογίστηκε στα 403,1 δισεκατομμύρια δολάρια, ποσό διπλάσιο από το αντίστοιχο κόστος που προκαλείται λόγω καρκίνου.

Στην Ελλάδα σύμφωνα με την Εθνική Στατιστική Υπηρεσία το 2003 περίπου 51.600 θάνατοι (49%) οφείλονταν σε καρδιαγγειακές παθήσεις, ( 55% γυναίκες και 45% άνδρες), με συχνότερη αιτία θανάτου στις γυναίκες τα ΑΕΕ και στους άνδρες τη ΣΝ.

Ο κυριότερος μηχανισμός αιτιοπαθογένεσης της καρδιαγγειακής νόσου είναι η αθηροσκλήρωση, δηλαδή η βλάβη του ενδοθηλίου των αγγείων με εναπόθεση λιπιδίων κυρίως χοληστερόλης και φωσφολιπιδίων και δημιουργία αθηρωματικής πλάκας<sup>1</sup>.

Παλιότερα, η αθηροσκλήρωση είχε περιγραφεί ως εκφυλιστική νόσος που αποτελούσε αναπόφευκτη συνέπεια της γήρανσης. Η έρευνα τα τελευταία χρόνια έχει δείξει ότι κάτι τέτοιο δεν ισχύει, και η αθηροσκλήρωση περιγράφεται πλέον ως χρόνια -εξελικτική- φλεγμονώδης κατάσταση, των μεγάλων και μεσαίων αρτηριών της συστηματικής κυκλοφορίας, που μπορεί να προληφθεί και αρχίζει νωρίς από την παιδική ηλικία αλλά οι κλινικές εκδηλώσεις παρουσιάζονται συνήθως κατά τη μέση ηλικία και αργότερα.

Για την αθηροσκλήρωση ευθύνονται διάφοροι παράγοντες κινδύνου, η αρτηριακή υπέρταση, το κάπνισμα, ο σακχαρώδης διαβήτης, τα υψηλά επίπεδα λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας του ορού (LDL) και της λιποπρωτεΐνης πολύ χαμηλής πυκνότητας του ορού (VLDL), η χαμηλή HDL χοληστερόλη, η παχυσαρκία, η ανθυγιεινή διατροφή, το στρες και η κατάθλιψη, το οικογενειακό ιστορικό πρώιμης στεφανιαίας νόσου, το χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο. Οι παράγοντες αυτοί που ανήκουν στους καθιερωμένους (κλασικούς) παράγοντες κινδύνου που ερμηνεύουν, σύμφωνα με στοχαστικά μοντέλα, το 90% του επιπλέον κινδύνου για εμφάνιση στεφανιαίας νόσου στο γενικό πληθυσμό, αλλά εξηγούν μόνο το 50% της μεταβλητότητας της νόσου μεταξύ των πληθυσμών.

Η φλεγμονή παίζει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση της παθοφυσιολογίας της νόσου με την LDL χοληστερόλη (LDL-χ) να συμμετέχει ενεργά στη διαδικασία αυτή. Έτσι σε ένα περιβάλλον υπερχοληστερολαιμίας και ενδοθηλιακής δυσλειτουργίας αυξημένες συγκεντρώσεις LDL εξαγγειώνονται εισερχόμενες στον έσω χιτώνα, στον υπενδοθηλιακό χώρο, όπου και υφίστανται οξειδωτική τροποποίηση από τα κυτταρικά στοιχεία του αρτηριακού τοιχώματος. Στον υπενδοθηλιακό χώρο, η LDL τροποποιείται και τα μακροφάγα κύτταρα συσσωρεύουν τροποποιημένες λιποπρωτεΐνες και μετατρέπονται σε αφρώδη κύτταρα. Τα λεία μυϊκά κύτταρα (ΛΜΚ) μεταναστεύουν από το μέσο χιτώνα στον έσω, συσσωρεύουν και αυτά

λιπίδια, πολλαπλασιάζονται και παράγουν εξωκυττάριο ιστό. Τελικά, προκαλείται αθηρωματική βλάβη, που περιλαμβάνει έναν νεκρωτικό πυρήνα γεμάτο από εστέρες χοληστερόλης και ελεύθερη χοληστερόλη και που καλύπτεται από ένα στρώμα λείων ΛΜΚ και εξωκυττάριου ιστού που φράσσουν τον αρτηριακό αυλό. Στα πρώτα στάδια της αθηροσκλήρωσης, το αγγειακό τοίχωμα δέχεται την εναπόθεση νέων στρωμάτων στο εσωτερικό των αγγείων μέσω διάτασης, ώστε να διατηρήσει το μέγεθος του αυλού. Όταν η μάζα που προήλθε από τη βλάβη καλύψει περίπου το 40% της περιοχής, που καλύπτει το έσω ελαστικό πέταλο, υπερσκελίζονται οι μηχανισμοί προσαρμογής και η αύξηση του όγκου της μάζας οδηγεί σε μείωση του μεγέθους του αρτηριακού αυλού και απόφραξη της αρτηρίας. Οι περιοχές των προχωρημένων βλαβών, που παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη συσσώρευση περιέχουν μακροφάγα και είναι ιδιαίτερα επιρρεπείς σε ρήξη, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε αιμορραγία και θρόμβωση, ενώ στη χειρότερη των περιπτώσεων προκαλεί έμφραγμα του μυοκαρδίου.

### Υποδοχείς Τροποποιημένων Λιποπρωτεϊνών

Οι υποδοχείς αποδόμησης των μακροφάγων (YAM) τύπου AI, AII και AIII είναι τριμερείς γλυκοπρωτεϊνικές μεμβράνες<sup>2,3</sup>. Οι YAM τύπου AI και AII σχηματίζουν δεσμό και απορροφούν τροποποιημένη LDL<sup>2</sup> καθώς και ακετυλιωμένη LDL, οξειδωμένη LDL και γλυκοζυλιωμένη LDL, ενώ ο YAM τύπου AIII είναι κυρίαρχος αρνητικός υποδοχέας που αδυνατεί να απορροφήσει τους συνδέτες του<sup>4</sup>. Η έκφραση των YAM τύπου AI και AII, ο ρυθμός δράσης τους αυξάνεται κατά την αθηροσκλήρωση<sup>5-9</sup>. Εξαιτίας του γεγονότος ότι η έκφραση και ο ρυθμός της δραστηριότητας των YAM δε μειώνεται από την αύξηση της χοληστερόλης, που περιέχεται στο κύτταρο, αυτοί οι υποδοχείς τύπου A μπορούν να επιφέρουν συνεχή συσσώρευση τροποποιημένων λιποπρωτεϊνών στα μακροφάγα κύτταρα και με αυτόν τον τρόπο να προκαλέσουν τη δημιουργία αφρωδών κυττάρων<sup>2</sup>, γεγονός που πρωτογενώς δημιουργεί αθηροσκλήρωση. Οι YAM μπορούν να σχηματίσουν δεσμούς με μεσοκυττάρια πρωτεογλυκάνες και έτσι να προσκολληθούν σταθερά τα μακροφάγα στις περιοχές με αθηρωματική βλάβη. Η ικανότητα των YAM να σχηματίζουν δεσμούς μεταξύ των τελικών προϊόντων της γλυκοζυλίωσης και του κολλαγόνου της τροποποιημένης γλυκόζης IV<sup>12</sup> δηλώνει τη συμβολή τους στην επιταχυνόμενη αθηροσκλήρωση, η οποία αποτελεί σημαντικό πρόβλημα των διαβητικών.

Εκτός από υποδοχέας της λιποπρωτεΐνης, ο YAM, τύπου A έχει και άλλες πολλές λειτουργίες. Έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί κατιονικά ανεξάρτητη προσκόλληση των μακροφάγων σε κυτταρική καλλιέργεια<sup>13</sup>, όπως και σε αποπτωτικά θυμοκύτταρα<sup>14,16</sup> και κύτταρα B<sup>16</sup>. Ο YAM τύπου A μπορεί να σχηματίσει δεσμούς με το λιποτειχοτικό οξύ των gram-θετικών βακτηρίων<sup>17</sup> και με την ενδοτοξίνη των gram-αρνητικών βακτηρίων<sup>18</sup>. Η ενδοτοξίνη αυξάνει το ρυθμό δράσης του μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα άλφα (TGF-α) ο οποίος προκαλεί υπόταση, δυσλειτουργίες των οργάνων και μερικές φορές επιφέρει τον θάνατο μετά από σοβαρές λοιμώξεις. Τα μοντέλα των διαγονιδιακών και των εξουδετερωμένων χοιριδίων (DEX) τύπου A είναι πιο επιρρεπή σε θανατηφόρο σηπτικό σοκ σε σχέση με τα άγρια χοιρίδια<sup>9,19</sup>.

Οι συνδέτες των περιτοναϊκών μακροφάγων που αποσπάστηκαν από τα μοντέλα DEX τύπου A παρουσιάζουν μόνο 20% δραστηριότητα προσκόλλησης στην ακετυλιωμένη LDL<sup>20</sup>, 40–70% δραστηριότητα προσκόλλησης στην οξειδωμένη LDL<sup>20</sup> και 30%

στην γλυκοζυλιωμένη LDL. Παρόλο που η ικανότητα σύνδεσης και πρόσληψης της τροποποιημένης LDL μειώνεται στα μοντέλα ΔΕΧ Τύπου Α, ο ρυθμός μεταβολισμού της οξειδωμένης ή της ακετυλιωμένης LDL που εισάγεται σε αυτά μπορεί να συγκριθεί με αυτόν στα άγρια χοιρίδια. Αυτό αποτελεί ένδειξη ότι και άλλοι τροποποιημένοι υποδοχείς της LDL εμπλέκονται στη διαδικασία πρόσληψης των συνδετών<sup>21</sup>.

Τα μοντέλα ΔΕΧ τύπου ΑΙ και ΑΙΙ παρουσιάζουν χαμηλή επιρρέπεια στη αθηροσκλήρωση και έχουν διασταυρωθεί με διάφορα μοντέλα αθηρωματικών χοιριδίων έτσι ώστε να αξιολογηθεί περαιτέρω ο ρόλος των υποδοχέων αποδόμησης των μακροφάγων τύπου Α στο σχηματισμό βλαβών. Το ιστορικό των μοντέλων ΔΕΧ της απολιποπρωτεΐνης Ε (ΑpoE) αποδεικνύει ότι η μείωση των υποδοχέων αποδόμησης τύπου Α προκαλεί περίπου 60% λιγότερες βλάβες σε σχέση με τα απλά μοντέλα χοιριδίων της απολιποπρωτεΐνης Ε (ΑpoE)<sup>9</sup>. Στο μοντέλο ΔΕΧ με υποδοχέα LDL, η μείωση των υποδοχέων αποδόμησης των μακροφάγων τύπου Α προκαλεί μείωση της αθηροσκλήρωσης μόνο κατά 20%. Παρόλα αυτά, και οι δύο τύποι ΔΕΧ παρουσιάζουν αφρώδη μακροφάγα στην περιοχή των αθηρωματικών βλαβών, αποδεικνύοντας ότι οι υποδοχείς αποδόμησης του τύπου ΑΙ και ΑΙΙ δεν είναι οι μοναδικοί υποδοχείς που μπορούν να προκαλέσουν το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων. Σε αντίθεση με τα μοντέλα ΔΕΧ με υποδοχείς τη LDL και την ΑpoE, η μείωση της δραστηριότητας των υποδοχέων αποδόμησης του τύπου Α στα διαγονιδιακά χοιρίδια ΑpoE3Leiden επιφέρει την ανάπτυξη πιο σοβαρών βλαβών, όπως κρίνεται από την κυτταρική τους σύνθεση. Η υπερβολική έκφραση των υποδοχέων αποδόμησης τύπου Α στα κύτταρα που προέρχονται από το μυελό των οστών δεν αυξάνει την αθηροσκλήρωση ή το σχηματισμό αφρωδών κυττάρων στο μοντέλο ΔΕΧ της ΑpoE, και το γονίδιο των υποδοχέων αποδόμησης τύπου Α που εμφυτεύεται στο μοντέλο ΔΕΧ με υποδοχέα LDL μειώνει την αθηροσκλήρωση<sup>25</sup>. Ο λόγος που συμβαίνουν αυτά μπορεί να εξηγηθεί από την κάθαρση της απολιποπρωτεΐνης Β (ΑpoB), που περιέχει τροποποιημένες λιποπρωτεΐνες από την κυκλοφορία των υποδοχέων αποδόμησης τύπου Α που εκφράζονται στο ήπαρ. Επιπλέον, η υπερβολική έκφραση των υποδοχέων αποδόμησης τύπου Α αυξάνει τα επίπεδα της HDL χοληστερόλης, μειώνει τους εστέρες χοληστερόλης στο ήπαρ και αυξάνει τη ροή των χολικών οξέων.

Η CD36 είναι μία υδροφοβική μεμβράνη γλυκοπρωτεΐνης που βρίσκεται στα αιμοπετάλια, στα ερυθροκύτταρα, στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στα κύτταρα Β, στα μακροφάγα και σε πολλά νεοπλασματικά κύτταρα. Ανήκει στις πρωτεΐνες υποδοχέων αποδόμησης τύπου Β και μπορεί να δημιουργήσει μακριές αλυσίδες που περιλαμβάνουν λιπαρά οξέα, HDL, τροποποιημένη οξειδωτικά LDL, θρομβοσπονδίνη και αποπτωτικά κύτταρα, ώστε να προκαλέσει προσκόλληση. Η CD36 αρχικά χαρακτηρίστηκε ως υποδοχέας ερυθροκυττάρων προσβεβλημένων από την ελονοσία και απέκτησε νέο ενδιαφέρον, όταν ανακαλύφθηκε ότι μπορεί επίσης να λειτουργήσει ως υποδοχέας της οξειδωμένης (Ox)LDL. Η έκφραση της CD36 αυξάνεται τόσο καθώς τα μονοκύτταρα μετατρέπονται σε μακροφάγα όσο και ως αντίδραση σε αθηρωματικές κυτταροκίνες όπως η ιντερλευκίνη (IL-4) και ο παράγοντας διέγερσης της αποικίας μονοκυττάρων (M-CSF). Μερικοί φλεγμονώδεις ενδιάμεσοι παράγοντες όπως ο λιποπολυσακχαρίτης, μειώνουν το ρυθμό της έκφρασης της CD36. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η παρατήρηση ότι η έκφραση της CD36 αυξάνεται καθώς τα κύτταρα συσσωρεύουν OxLDL, γεγονός που προκαλεί την πιθανότητα σχηματισμού αφρωδών κυττάρων. Ένα άλλο σημαντικό

χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι, αντίθετα με τους υποδοχείς της αποδόμησης τύπου AI και AII, η CD36 μπορεί επίσης να δεσμεύσει και να εσωτερικεύσει ελάχιστα την τροποποιημένη LDL, η οποία περιέχει πολλές από τις αθηρογόνες ιδιότητες της OxLDL, αλλά πιθανώς παρουσιάζει μεγαλύτερη ημίσεια ζωή κατά την κυκλοφορία.

Εκτός από το γεγονός ότι είναι προαθηρογόνος υποδοχέας, η CD36 έχει και ορισμένες αντιαθηρωματικές ιδιότητες. Η CD36 διευκολύνει τις αντιαγγειογενετικές ιδιότητες της θρομβοσπονδίνης 1 και η δράση της να σταματά την αγγειογένεση στα τοιχώματα των αγγείων εμποδίζει την ανάπτυξη της αθηρωματικής πλάκας. Η κάθαρση των αποπτωτικών κυττάρων περιορίζει την καταστροφή των ιστών από τους τοξικούς ενδοκυττάρους παράγοντες και αυξάνει τη σταθερότητα της πλάκας. Από την άλλη, αφού συνδεθούν, με τη συμβολή των υποδοχέων αποδόμησης, με μια επιφάνεια που είναι καλυμμένη με OxLDL, τα μακροφάγα εκκρίνουν H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> που μπορεί να οξειδώσει περαιτέρω την LDL και να λειτουργήσει τοξικά πάνω στα κύτταρα. Αυτή η οξειδωτική δράση τουλάχιστον μερικώς προκαλείται από την CD36.

Έχει αποδειχθεί στα μοντέλα ΔEX με μακροφάγα της ApoE και της CD36 ότι η πρόσληψη της τροποποιημένης LDL με χαλκό και της τροποποιημένης LDL από ρίζες αζώτου που αντιδρούν στα λευκοκύτταρα μειώνεται κατά 60 και 70% αντίστοιχα, καθώς και τα διπλά μοντέλα ΔEX με CD36 και ApoE παρουσιάζουν 80% λιγότερες βλάβες όταν τρέφονται με τροφές δυτικού τύπου σε σχέση με τα απλά μοντέλα ΔEX που τρέφονται με ApoE. Επιπλέον, η έκφραση της CD36 έχει παρατηρηθεί στα αφρώδη κύτταρα των αθηροσκληρυντικών βλαβών του ανθρώπου.

Η έλλειψη σε CD36 έχει παρατηρηθεί στους ανθρώπους. Στις περισσότερες περιπτώσεις πρόκειται για έλλειψη τύπου II, κατά την οποία μόνο τα αιμοπετάλια λειτουργούν ελαττωματικά ως προς τον υποδοχέα CD36. Όμως, στην έλλειψη τύπου I τα άτομα πραγματικά παρουσιάζουν ανωμαλία ως προς την CD36. Τα μακροφάγα που απομονώνονται από αυτά τα άτομα δεσμεύουν και εσωτερικεύουν 40% λιγότερη OxLDL σε σχέση με τα άτομα που δεν παρουσιάζουν αυτή τη βλάβη. Η έλλειψη σε CD36 έχει συνδεθεί με τη δυσλειτουργία της καρδιάς. Στην Ιαπωνία, το 38% των ασθενών με υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια παρουσιάζουν έλλειψη σε CD36, που πιθανώς να είναι η αιτία για τη δυσμενώς επηρεασμένη μεταφορά των λιπαρών οξέων στο μυοκάρδιο. Αυτό μπορεί να περιορίσει τα αποτελέσματα των μελλοντικών θεραπειών που έχουν σχεδιαστεί για να αποκλείσουν τη δραστηριότητα της CD36.

Άλλος ένας σημαντικός τύπος υποδοχέα αποδόμησης B είναι οι υποδοχείς αποδόμησης τύπου BI (SR-BI). Πρόκειται για υποδοχέα της HDL που μπορεί επίσης να δεσμεύσει λιποπρωτεΐνες που περιέχουν ApoB, όπως η LDL, τα ανιονικά φωσfolιπίδια και τα γηρασμένα ή αποπτωτικά κύτταρα. Ο SR-BI συμβάλλει στην εκλεκτική κυτταρική πρόσληψη της HDL. Παρατηρείται μεγάλη έκφραση στο ήπαρ και στους στεροειδογενείς ιστούς όπως τα επινεφρίδια, οι ωοθήκες, ο μαστικός αδένας ενός εγκύου χοιριδίου. Χαμηλά επίπεδα έκφρασης SR-BI μπορούν να παρατηρηθούν στο έντερο. Η ηπατική λιπάση εντοπίζεται στους ιστούς που εκφράζουν υψηλά επίπεδα SR-BI και μπορεί να επηρεάσει το μεταβολισμό της HDL και των άλλων λιποπρωτεϊνών με τη διέγερση της μεταφοράς της χοληστερόλης από την HDL. Έχει σημειωθεί ότι τα χοιρίδια που παρουσιάζουν έλλειψη σε ηπατική λιπάση παρουσιάζουν επίσης μεταβαλλόμενη έκφραση SR-BI mRNA. Επομένως, είναι πιθανόν ότι ο SR-BI και η ηπατική λιπάση λειτουργούν μαζί κατά την εκλεκτική πρόσληψη εστέρα της χοληστερόλης HDL.

Η υπερβολική ηπατική έκφραση της SR-BI επιφέρει την εικονική εξαφάνιση της HDL από την κυκλοφορία και την επακόλουθη αύξηση της χολικής χοληστερόλης κατόπιν επαγωγής μέσω του αδενοϊού του γονιδίου του SR-BI. Παρόμοιο αποτέλεσμα στη συγκέντρωση της HDL δημιουργήθηκε σε διαγονιδιακά χοιρίδια που παρουσίαζαν υπερβολική έκφραση της SR-BI στο ήπαρ. Επιπλέον, τα διαγονιδιακά χοιρίδια παρουσίασαν μείωση των λιποπρωτεϊνών χωρίς την HDL και των επιπέδων της ApoA-I του πλάσματος, πιθανώς εξαιτίας της αυξημένης ηπατικής πρόσληψης λιπιδίων της HDL και της επακόλουθης κάθαρσης της HDL, της ApoA-I από το νεφρό. Ακόμη, το διαγονίδιο SR-BI μείωσε την αθηροσκλήρωση. Όταν τα χοιρίδια που εξέφρασαν υψηλά ή χαμηλά επίπεδα του διαγονιδίου SR-BI διασταυρώνονταν με διαγονιδιακά χοιρίδια που έφεραν ανθρώπινη ApoA-I, βρέθηκε ότι τα χοιρίδια που εξέφρασαν χαμηλά επίπεδα SR-BI παρουσίαζαν μειωμένη αθηροσκλήρωση, ενώ τα χοιρίδια που εκκένωναν υψηλά επίπεδα SR-BI παρουσίαζαν επίπεδα αθηροσκλήρωσης παρόμοια με τα διαγονιδιακά ApoB, αλλά αυξημένη αθηροσκλήρωση σε σχέση με τα χοιρίδια που είχαν χαμηλά SR-BI /ApoB. Η γονιδιακή μεταφορά μέσω του αδενοϊού του SR-BI σε μοντέλα ΔΕΧ με υποδοχείς της LDL μειώνει την αθηροσκλήρωση, πιθανώς εξαιτίας της αύξησης στην αντίθετη μεταφορά της χοληστερόλης από τους περιφερικούς ιστούς στο ήπαρ και την έκκριση χοληστερόλης στη χολή.

Ένα μοντέλο ΔΕΧ του SR-BI έχει επίσης δημιουργηθεί. Αυτό το μοντέλο χοιριδίων παρουσιάζεται φυσιολογικό αλλά τα ομόζυγα θηλυκά είναι στείρα, μάλλον εξαιτίας της μη φυσιολογικής στεροειδογένεσης, που προκαλείται από την επηρεασμένη σύνθεση της HDL. Στα ετερόζυγα χοιρίδια παρατηρείται πάνω από 50% δραστηριότητα στους υποδοχείς, ενώ τα θηλυκά είναι γόνιμα. Το επίπεδο της χοληστερόλης του ομόζυγου μοντέλου ΔΕΧ του SR-BI δείχνει μια αύξηση 2.2 και το μόριο της HDL είναι μεγαλύτερο, περισσότερο ετερογενές στο μέγεθος και περιέχει περισσότερη ApoE. Στα διπλά μοντέλα ΔΕΧ του SR-BI και της ApoE, οι συγκεντρώσεις της VLDL και της λιποπρωτεΐνης μέσης πυκνότητας είναι αυξημένες, ενώ η αθηροσκλήρωση παρατηρείται στην καρδιά πέντε εβδομάδες μετά τη γέννηση – μια χρονική στιγμή κατά την οποία τα μονά μοντέλα ΔΕΧ δεν παρουσιάζουν καμία βλάβη.

Ο υποδοχέας της οξειδωμένης LDL που μοιάζει με τη λεκτίνη (LOX-1) έχει τη διατηρημένη δομή της οικογένειας λεκτινών τύπου C και έχει τη δυνατότητα να δεσμεύει και να εσωτερικεύει την οξειδωτικά τροποποιημένη LDL αλλά όχι την ενδογενή ή ακετυλιωμένη LDL. Το μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του LOX-1 μπορεί να αναστέλλει τη σύνδεση της OxLDL με τα ενδοθηλιακά κύτταρα κατά 5–70%. Ο ρυθμός έκφρασης του LOX-1 δεν ρυθμίζεται από την αγγειοτασίνη II στα ενδοθηλιακά κύτταρα της στεφανιαίας αρτηρίας του ανθρώπου και προκαλεί αύξηση, που βασίζεται στη συγκέντρωση της πρόσληψης της <sup>125</sup>I OxLDL από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Αυτή η πρόσληψη μπορεί να παρεμποδιστεί από τους αναστολείς AT<sub>1</sub>, αλλά όχι από τους αναστολείς AT<sub>2</sub>. Άλλοι επαγωγείς της έκφρασης του LOX-1 είναι τα προφλεγμονώδη ερεθίσματα περιλαμβανομένου του παράγοντα νέκρωσης των όγκων-α (TNF-α), του παράγοντα νέκρωσης των όγκων-β (TNF-β), της βακτηριακής ενδοτοξίνης καθώς και των εστέρων της φορβόλης, της OxLDL, της βλαπτικής επίδρασης της ροής, της λυζοφοσφατιδυλχολίνης, της υπερχοληστερολαιμίας, και της υπέρτασης. Η OxLDL κυρίως εκφράζεται στις αθηρωματικές βλάβες του ανθρώπου καθώς και στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στα μακροφάγα και στα ενεργοποιημένα

αγγειακά ΛΜΚ. Στις πρώιμες αρτηριοσκληρυντικές βλάβες ο LOX-1 κυρίως εκφράζεται στο ενδοθήλιο πριν τη συσσώρευση των αφρωδών κυττάρων, αλλά σε πιο προχωρημένες βλάβες εκφράζεται στα μακροφάγα και τα ΛΜΚ, υποδηλώνοντας έτσι κάποιο ρόλο στο σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων. Σε ένα μοντέλο κονίκλων με υπερχοληστερολαιμία, ο LOX-1 εκφράζεται στο ενδοθήλιο πριν από τη συσσώρευση των αφρωδών κυττάρων, υποδεικνύοντας έτσι ότι μπορεί να παίξει κάποιο ρόλο στη δραστηριοποίηση των ενδοθηλιακών κυττάρων κατά την πρώιμη αθηροσκλήρωση. Πέρα από το σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων, ο LOX-1 είναι ο ενδιάμεσος παράγοντας πολλών άλλων κυτταρικών λειτουργιών: η σύνδεση της OxLDL στον LOX-1 προκαλεί κυτταρικό οξειδωτικό stress και δραστηριοποίηση του πυρηνικού παράγοντα κάπα Β (NF-κΒ), ενώ η αύξηση του ρυθμού δράσης της μονοκυτταρικής χημειοτακτικής πρωτεΐνης (MCP-1) στην οποία συμβάλλει η OxLDL εξαρτάται από τον LOX-1. Ο LOX-1 υποστηρίζει την προσκόλληση των κυττάρων στην ινονεκτίνη, στα gram-θετικά και στα gram-αρνητικά βακτήρια. Η πρόσληψη της OxLDL με τον LOX-1 ως ενδιάμεσο παράγοντα από καλλιεργημένα ανθρώπινα ενδοθηλιακά κύτταρα της στεφανιαίας αρτηρίας προκαλεί απόπτωση, ενώ η πρόσληψη της OxLDL από τον LOX-1 μειώνει τους ρυθμούς δράσης του Bcl-1 και αυξάνει τους ρυθμούς δράσης του Bax, προκαλώντας απόπτωση στα ΛΜΚ.

Πέρα από τον LOX-1, που συνδέεται με μεμβράνη, ο LOX-1 έχει και διαλυτή μορφή. Η διαλυτή μορφή του LOX-1 35-kD σχηματίζεται από την πρωτεϊνολυτική διάσπαση η οποία μπορεί να περιλαμβάνει πρωτεάσες σερίνης. Πολλές πρωτεΐνες με τη μορφή μεμβράνης έχουν τις αντίστοιχες διαλυτές τους μορφές, οι οποίες άλλοτε τις συναγωνίζονται και άλλοτε τις ανταγωνίζονται. Ορισμένες διαλυτές πρωτεΐνες σχηματίζονται κατά τις νόσους. Η διαλυτή μορφή του LOX-1 είναι η πρώτη διαλυτή πρωτεΐνη της οικογένειας των υποδοχέων αποδόμησης, που αναγνωρίστηκε. Θα χρειαστούν περαιτέρω μελέτες για να καθοριστεί κατά πόσο η παρουσία της στην κυκλοφορία έχει σχέση με την αθηροσκλήρωση και κατά πόσο η διαλυτή μορφή του LOX-1 μπορεί να ανταγωνιστεί τη δραστηριότητα του LOX-1 της μεμβράνης.

### Μόρια Προσκόλλησης

Η αυξημένη προσκόλληση των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο είναι ένα πρώιμο σύμπτωμα της αθηροσκλήρωσης. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κυττάρων ή μεταξύ του κυττάρου και της θεμέλιας ουσίας πραγματοποιούνται με την παρουσία των μορίων προσκόλλησης, ως ενδιάμεσοι παράγοντες, που μπορούν επίσης να λειτουργήσουν κατά τη μετανάστευση των κυττάρων, κατά τη σήμανση και σε άλλες αγγειακές αντιδράσεις. Το ενδοθήλιο φαίνεται να αντιδρά σε διαφορετικά ερεθίσματα με το να εκφράζει μόρια προσκόλλησης, όπως τις ιντεγκρίνες και τις σελεκτίνες, αυξάνοντας έτσι την προσκόλληση των μονοκυττάρων και των λεμφοκυττάρων T στο ενδοθήλιο<sup>22</sup>.

Οι ιντεγκρίνες είναι ετεροδιμερή μόρια που αποτελούνται από υπομονάδες άλφα και βήτα, οι οποίες μπορούν να συμβάλλουν στην αλληλεπίδραση μεταξύ των κυττάρων και των συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Οι ιντεγκρίνες εκφράζονται σε μια ποικιλία τύπων κυττάρου. Οι ιντεγκρίνες β<sub>1</sub>, οι επονομαζόμενες ως αντιγόνα 1-6, συντελούν στην προσκόλληση στο μόριο προσκόλλησης των αγγειακών κυττάρων 1 (VCAM-1) και τις πρωτεΐνες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, όπως η ινονεκτίνη, το κολλαγόνο, ή η λαμινίνη. Οι ιντεγκρίνες β<sub>2</sub>, (LFA-1 και Mac-1) βρίσκονται στα λευκοκύτταρα και δρουν ως ενδιάμεσοι παράγοντες για την προσκόλληση σε διακυτταρικά μόρια προσκόλλησης (ICAM) 1-3 και σε ινωδογόνο.

Οι ιντεγκρίνες  $\beta_3$  βρίσκονται στα μεγακαρυοκύτταρα και τα αιμοπετάλια, και συνδέονται με αρκετές πρωτεΐνες, όπως το ινωδογόνο, η ινονεκτίνη, ο παράγοντας von Willebrand, η θρομβοσπονδίνη και η οστεοποντίνη. Η οικογένεια των γονιδίων της ανοσοσφαιρίνης περιλαμβάνει μόρια που λειτουργούν ως συνδέτες (μόρια διασύνδεσης) για τις ιντεγκρίνες. Μεταξύ των μελών αυτής της οικογένειας συμπεριλαμβάνονται τα VCAM-1, τα ICAM-1, τα ICAM-2 και τα ICAM-3. Το μόριο προσκόλλησης του αιμοπεταλιακού / ενδοθηλιακού κυττάρου (PECAM) είναι επίσης μέλος αυτής της οικογένειας, όμως αντί να λειτουργεί ως συνδέτης στις ιντεγκρίνες, συνδέεται με άλλο μόριο PECAM. Η έκφραση των μορίων προσκόλλησης μπορεί να ρυθμιστεί από διαφορετικές κυτταροκίνες. Η έκφραση του VCAM-1 προκαλείται από την IL-1 και από τον TNF- $\alpha$  και η έκφραση του ICAM-1 από την IL-1, τον TNF- $\alpha$  και την ιντερφερόνη γάμμα (IFN- $\gamma$ ). Το PECAM εκφράζεται στα μονοκύτταρα, τα ουδετερόφιλα, τα αιμοπετάλια και ορισμένες υποκατηγορίες των κυττάρων. Αλλά η IFN- $\gamma$  και η IFN- $\alpha$  μπορούν να προκαλέσουν εκ νέου διανομή του PECAM-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα<sup>23</sup>.

Οι σελεκτίνες είναι η τρίτη ομάδα των μορίων προσκόλλησης. Έχουν αναγνωρισθεί τρεις τύποι σελεκτινών: η σελεκτίνη E, που συνδέεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τη σελεκτίνη P, τα μεγακαρυοκύτταρα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τη σελεκτίνη L, που κυρίως εκφράζεται στα λευκοκύτταρα. Η σελεκτίνη P αποθηκεύεται σε σωματίδια αιμοπεταλίων άλφα, σε σώματα Weibel-Palade και μεταφέρεται εύκολα στην επιφάνεια των κυττάρων κατόπιν της διέγερσης<sup>24</sup>, ενώ η σελεκτίνη E πρέπει να συνδεθεί για να είναι παρούσα στη μεμβράνη του κυττάρου. Η IL-1, τα λιποσακχαρίδια και ο TNF- $\alpha$  προκαλούν την έκφραση της σελεκτίνης E<sup>24</sup>. Οι συνδέτες σελεκτίνης είναι υδατάνθρακες, με προσθήκη υπολειμμάτων σιαλικού οξέος που σχετίζονται άμεσα με τα σιαλικά παράγωγα Lewis C και Lewis A.

Η προσκόλληση των λευκοκυττάρων μπορεί να διαιρεθεί σε ορισμένα στάδια με σειρά αλληλουχίας: σχηματισμός δεσμού, κύλιση, σταθερή προσκόλληση και διαπήδηση. Υπάρχουν ξεχωριστοί υποδοχείς, που είναι κυρίως υπεύθυνοι για κάθε στάδιο, αν και οι λειτουργίες τους μπορεί να συμπίπτουν. Ο σχηματισμός δεσμού των λευκοκυττάρων προκαλείται από τις σελεκτίνες L και P, οι οποίες αλληλεπιδρούν με συνδέτες στα λευκοκύτταρα. Η σελεκτίνη L επίσης παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Η σταθερή προσκόλληση συντελείται μέσω της αλληλεπίδρασης μεταξύ των πολύ όψιμων αντιγόνων ιντεγκρινών ( $\alpha_4\beta_1$ ) και του VCAM-1 ή των λευκοκυτταρικών ιντεγκρινών ( $\alpha_1\beta_2$ ) και του ICAM-1 και η διαπήδηση εξαρτάται από το PECAM-1. Πολλά αθηρωματικά ερεθίσματα επηρεάζουν την έκφραση των μορίων προσκόλλησης. Για παράδειγμα, η OxLDL αυξάνει τη μονοκυτταρική προσκόλληση μέσω του ICAM-1, και του NF- $\kappa$ B και βελτιώνει την έκφραση του VCAM-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Τα τελικά προϊόντα της γλυκοζυλίωσης, που ανευρίσκονται στο διαβήτη αυξάνουν την έκφραση των VCAM-1 και των ICAM-1 μέσω του υποδοχέα RAGE, ενώ το κάπνισμα αυξάνει την έκφραση του ICAM-1 και την φωσφορυλίωση του PECAM-1.

### **Αυξητικοί παράγοντες και Κυτταροκίνες**

Οι εξ αιμοπεταλίων αυξητικοί παράγοντες των πεπτιδίων (PDGFs), ο ινοβλαστικός αυξητικός παράγοντας (FGF), ο αγγειακός ενδοθηλιακός παράγοντας αύξησης (VEGF) και ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας (TGF) εμπλέκονται σε πολλές σημαντικές κυτταρικές διεργασίες κατά την αθηρογένεση<sup>25</sup>. Με εξαίρεση τον TGF  $\beta$ ,



οι αυξητικοί παράγοντες είναι θετικοί ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου, ενισχύοντας τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό. Λειτουργούν επίσης ως ρυθμιστές της διαφοροποίησης και της απόπτωσης. Οι PDGF, VEGF και ο βασικός (b) FGF λειτουργούν ως διαμεσολαβητές μέσω των υποδοχέων του τύπου της διαμεμβρανικής τυροσινικής κινάσης, οι οποίοι ενεργοποιούν πληθώρα σημάτων, επιφέροντας τη μεταβολή των κυτταρικών λειτουργιών.

Ο PDGF λειτουργεί ως διμερές, αποτελούμενος από αλυσίδες PDGF-A, PDGF-B, PDGF-C και PDGF-D, δημιουργώντας τόσο ομοδιμερή όσο και ετεροδιμερή. Οι αλυσίδες PDGF-A και PDGF-B παράγονται στα αιμοπετάλια και συσσωρεύονται στα σωματία άλφα, στα ΛΜΚ, στα λευκοκύτταρα και στα ενδοθηλιακά κύτταρα, αλλά η έκφραση της αλυσίδας PDGF-A και PDGF-B ρυθμίζεται ανεξάρτητα. Ο PDGF συνδέεται με τους διαμεμβρανικούς υποδοχείς, οι οποίοι επίσης αποτελούνται από δύο υπομονάδες, την PDGF-α και την PDGF-β, που λειτουργούν και ως ομοδιμερή και ως ετεροδιμερή. Ο PDGF-BB μπορεί να συνδεθεί με όλες τις υπομονάδες υποδοχέων, αλλά ο PDGF-AA μπορεί να συνδεθεί μόνο με ομοδιμερή του υποδοχέα PDGF-α, ενώ ο PDGF-AB δεν μπορεί να συνδεθεί με ομοδιμερή PDGF-β. Η συνάφεια των ισομόρφων των PDGF με τους διμερείς υποδοχείς ποικίλει, και συνεπώς, η αντίδραση ενός κυττάρου στη διέγερση, που προκαλεί ο PDGF εξαρτάται από τον τύπο του υποδοχέα, που εκφράζει το κύτταρο. Οι ινοβλάστες και τα ΛΜΚ εκφράζουν και τους υποδοχείς α και β, αλλά γενικά τείνουν να εκφράζουν περισσότερους υποδοχείς β. Τα μακροφάγα εκφράζουν τους υποδοχείς β, ενώ τα αιμοπετάλια και τα μεγακαρυοκύτταρα εκφράζουν τους υποδοχείς α. Το επίπεδο έκφρασης του υποδοχέα του PDGF δεν είναι σταθερό, αλλά ποικίλει ανάλογα με τη φλεγμονή και τη διέγερση, που προκαλούν οι διαφορετικές κυτταροκίνες. Η δραστηριοποίηση των υποδοχέων β προκαλεί χημειοταξία, ενώ η δραστηριοποίηση των υποδοχέων α αναστέλλει τη χημειοταξία στα ΛΜΚ και στους ινοβλάστες. Η δραστηριοποίηση του υποδοχέα PDGF προκαλεί την ανάπτυξη του κυττάρου, την αναδιοργάνωση της ακτίνης και την αναστολή της απόπτωσης.

Ο PDGF (ειδικότερα ο PDGF-BB) είναι μία μιτογόνο ουσία για τα ΛΜΚ και τους ινοβλάστες. Η πρωτεΐνη του PDGF και η έκφραση του υποδοχέα του PDGF-β μπορεί να ανιχνευθεί στις αθηρωματικές πλάκες και οι υποδοχείς του PDGF-α εκφράζονται στο ενδοθήλιο, που έχει υποστεί βλάβη. Πειραματικά πρότυπα έχουν αποδείξει ότι η χορήγηση του PDGF-BB προκαλεί τη διαμόρφωση ενός νέου έσω χιτώνα αγγείων, η οποία μπορεί να ανασταλεί μέσω των εξουδετερωτικών αντισωμάτων εναντίον του PDGF ή μέσω ενός αναστολέα της κινάσης του υποδοχέα PDGF χαμηλού μοριακού βάρους. Ο PDGF αυξάνει τον αριθμό των κυττάρων που περνούν το έσω ελαστικό πέταλο και είναι σχετικά εύκολο να διατηρηθούν τα ΛΜΚ που αναπτύσσονται χωρίς τον PDGF. Αυτό υποδεικνύει ότι η διέγερση μετανάστευσης και όχι η μιτογόνο δραστηριότητα είναι ο βασικός ρόλος του PDGF στις περιπτώσεις αθηροσκλήρωσης. Παρουσιάζει επίσης ενδιαφέρον η παρατήρηση ότι στην αλυσίδα του PDGF-A και του PDGF-B τα επίπεδα mRNA αυξάνονται στα μονοπύρηνα κύτταρα των ασθενών με υπερχοληστερολαιμία και ότι η ανοσοποίηση μέσω του PDGF-BB αναστέλλει την εξέλιξη των βλαβών της αορτής σε κόνικλους που έλαβαν τροφή με χοληστερόλη. Αυτές οι παρατηρήσεις συνδέουν τον PDGF με την αθηροσκλήρωση, που προκαλείται από την αυξημένη χοληστερόλη. Επιπλέον, ο PDGF μπορεί να βελτιώσει τον παράπλευρο σχηματισμό καθώς και το σχηματισμό λειτουργικών αγγειακών αναστομώνσεων.

Ομοίως με τον PDGF, η χορήγηση του bFGF προκαλεί ενίσχυση του έσω χιτώνα των αγγείων και αναστέλλει την απόπτωση, ενώ η αναστολή του bFGF από

αντιαγγελιοφόρα ολιγονουκλεοτίδια αναστέλλει την πρόωρη πάχυνση του έσω χιτώνα των αγγείων και προκαλεί απόπτωση. Ο bFGF είναι επίσης ένας διεγέρτης αγγειογένεσης και βοηθά στην ανάπτυξη νέων τριχοειδών αγγείων. Ο συνδυασμός του bFGF και του VEGF αποτελεί ένα πολύ έντονο αγγειογενετικό ερέθισμα και ο bFGF είναι δυνατό να προκαλέσει την έκφραση του VEGF. Ο bFGF μπορεί ακόμα να λειτουργήσει καρδιοπροστατευτικά, όπως διαφαίνεται από την ισχαιμία-επαναιμάτωση της στεφανιαίας αρτηρίας, στην οποία υποβλήθηκε πρότυπο κονίκλων, καθώς είναι δυνατή η μείωση του μεγέθους του εμφράγματος τη χρονική ακριβώς στιγμή, που τα νέα τριχοειδή αγγεία δεν έχουν ακόμα σχηματιστεί.

Τουλάχιστον πέντε διαφορετικές μορφές πρωτεΐνης του VEGF παράγοντα ως αποτέλεσμα της εναλλακτικής συγκόλλησης του mRNA, που κωδικοποιούνται από ένα μόνο γονίδιο. Ο VEGF-A και ο υποδοχέας αυτού, ο KDR/Flk-1, υφίστανται αύξηση του ρυθμού δράσης τους εξαιτίας των υποξικών και των ισχαιμικών συνθηκών. Ο bFGF είναι δυνατό να ενισχύσει την έκφραση του VEGF, και ο PDGF-BB είναι δυνατό να ενισχύσει την έκφραση τόσο του bFGF όσο και του VEGF.

Ο VEGF είναι ένας αγγειογενετικός αυξητικός παράγοντας, που μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη του ενδοθηλίου και να ενισχύσει τη σύνθεση του NO και του PGI<sub>2</sub> και συνεπώς να περιορίσει τη διαμόρφωση των νέων αγγείων του έσω χιτώνα μετά από τον κατακερματισμό του αθηρώματος κατά την αγγειοπλαστική. Εξαιτίας των αγγειογενετικών τους ιδιοτήτων, τα διαφορετικά ισόμορφα του VEGF έχουν δοκιμαστεί σε μοντέλα με ισχαιμία του μυοκαρδίου και μοντέλα με ισχαιμία στα άκρα και φαίνεται ότι ο VEGF είναι δυνατό να αναπτύξει νέα αγγεία, τα οποία οδηγούν στην καλύτερη αιμάτωση των ιστών. Πρόσφατες έρευνες υποδεικνύουν ότι ο σχηματισμός νεοαγγείων και αγγείων μέσα στην αθηρωματική πλάκα είναι ένδειξη προχωρημένης αθηροσκλήρωσης και επαναστένωση μετά από τοποθέτηση stent<sup>26</sup>. Προς το παρόν, δεν είναι γνωστό ποιοι παράγοντες εμπλέκονται στο σχηματισμό νεοαγγείων στην πλάκα, όμως ο VEGF μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο που παράγεται από τα αρτηριακά ΛΜΚ και από τον ινοβλαστικό αυξητικό παράγοντα (FGF).

Ο TGF-β διακρίνεται σε τρεις μορφές, τους TGF-β<sub>1</sub>, TGF-β<sub>2</sub> και TGF-β<sub>3</sub>. Ο TGF-β επιφέρει λειτουργικές δράσεις, που εξαρτώνται από τη δραστηριοποίηση του κυττάρου-στόχου. Γενικά ο TGF-β αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των κυττάρων και προκαλεί την παραγωγή εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και την απόπτωση. Στα μακροφάγα, ο TGF-β καταστέλλει τη δραστηριοποίηση και αναστέλλει τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των μονοκυττάρων / μακροφάγων. Όταν όμως ο TGF-β δραστηριοποιηθεί, τότε προκαλεί διέγερση των μακροφάγων, που με τη σειρά τους εκκρίνουν ουροκινάση. Στα ΛΜΚ ο TGF-β αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση, αλλά προκαλεί διέγερση στα ΛΜΚ, τα οποία και εκκρίνουν μιτογόνες ουσίες όπως ο PDGF. Επίσης, ο TGF-β ρυθμίζει την αναδιαμόρφωση της κυτταροσκελετικής ακτίνης και την εξάπλωση των κυττάρων και προκαλεί την παραγωγή εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ο TGF-β αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και προκαλεί την παραγωγή εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Ο TGF-β επιφέρει απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων και των ΛΜΚ, αλλά εάν η απόπτωση προκληθεί από άλλους παράγοντες, τότε ο TGF-β μπορεί να προστατέψει τα κύτταρα από την απόπτωση.

Η χορήγηση του TGF-β αυξάνει το πάχος του νέου έσω χιτώνα της καρωτιδικής

αρτηρίας σε κονίκλους των οποίων οι αρτηρίες έχουν διανοιχθεί. Αυτό συμβαίνει, διότι κυρίως ο TGF-β αυξάνει την παραγωγή της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Τα εξουδετερωτικά αντισώματα του TGF-β που χορηγούνται κατά τη χρονική στιγμή της απόφραξης με μπαλονάκι αναστέλλουν τον εσωτερικό πολλαπλασιασμό και την ίνωση στην αορτή του ποντικίου. Τα ισόμορφα TGF-β<sub>1</sub> και TGF-β<sub>3</sub> εκφράζονται κατά το πρώιμο στάδιο των βλαβών στον άνθρωπο, ενώ οι υποδοχείς του TGF-β τύπου I και II αυξάνουν το ρυθμό δράσης τους στις πρώιμες λιπώδεις γραμμώσεις. Παρόλα αυτά στην περίπτωση των προχωρημένων βλαβών η έκφραση του TGF-β<sub>1</sub> και των υποδοχέων του εντοπίζεται σε απομονωμένες περιοχές και το επίπεδο έκφρασης του υποδοχέα TGF-β τύπου II παρουσιάζει μείωση. Η έκφραση του υποδοχέα TGF-β τύπου I φαίνεται να μην επηρεάζεται. Στις επαναστενωτικές αλλοιώσεις, αυξάνεται ο ρυθμός έκφρασης του υποδοχέα TGF-β τύπου II αλλά τα χαμηλά επίπεδα του υποδοχέα TGF-β τύπου II σε παλαιότερες βλάβες, πιθανώς να υποδεικνύουν ότι τα κύτταρα είναι ανθεκτικά στην ανασταλτική επίδραση του πολλαπλασιασμού του TGF-β.

Η ηλικία φαίνεται να επηρεάζει το αποτέλεσμα της μεσολάβησης του TGF-β<sub>1</sub>. Έχει αποδειχθεί ότι οι γηραιότεροι ποντικοί αναπτύσσουν πιο σοβαρές βλάβες σε σχέση με τους νεαρούς ποντικούς και όταν γίνεται μεταμόσχευση αορτής από γηραιούς ποντικούς σε νεαρούς η ηλικία της αορτής καθορίζει το επίπεδο του εσωτερικού πολλαπλασιασμού. Τα ΛΜΚ, που απομονώνονται από τα γηραιά ζώα παράγουν ανάλογες ποσότητες TGF-β<sub>1</sub> με αυτά που απομονώνονται από τα νεαρά ζώα, αλλά τα γηραιά κύτταρα είναι ανθεκτικά στην επίδραση του TGF-β<sub>1</sub>. Ομοίως, στον άνθρωπο τα ΛΜΚ που απομονώνονται από τις βλάβες παράγουν κανονικά επίπεδα ενεργού και λανθάνοντα TGF-β<sub>1</sub>. Όμως είναι απόλυτα ανθεκτικά στην αναστολή της ανάπτυξης, που προκαλείται από τον TGF-β<sub>1</sub> εξαιτίας των χαμηλών επιπέδων των υποδοχέων TGF-β τύπου II.

Αν και τα κύτταρα έχουν χάσει την ανασταλτική αντίδραση του πολλαπλασιασμού στον TGF-β<sub>1</sub>, διατηρούν άλλες δράσεις με τη μεσολάβηση του TGF-β<sub>1</sub>. Τα αλλοιωμένα κύτταρα παρουσιάζουν μία αύξηση της τάξεως του 30% στη σύνθεση του DNA. Επιπλέον, παρουσιάζουν διπλή έως και τριπλή αύξηση στην παραγωγή της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας σε σχέση με τα κύτταρα που απομονώθηκαν από φυσιολογική αορτή. Στην περίπτωση που τα ΛΜΚ, που προέρχονται από αλλοίωση δεν παρουσιάζουν ευαισθησία στην ανασταλτική επίδραση του πολλαπλασιασμού του TGF-β<sub>1</sub> μεταφερθούν με τη βοήθεια των υποδοχέων TGF-β τύπου II, τα κύτταρα γίνονται ευαίσθητα στην ανασταλτική επίδραση του TGF-β. Αυτό υποδεικνύει ότι το εσωκυττάριο σύστημα σήμανσης παραμένει ανέπαφο. Πέρα από τη διαφοροποίηση στο επίπεδο έκφρασης του υποδοχέα TGF-β, τα κύτταρα που αποσπώνται από τις αθηρωματικές πλάκες μπορεί να περιέχουν μικρές απώλειες στους υποδοχείς TGF-β τύπου II, με αποτέλεσμα να μην αντιδρούν. Επίσης, οι τροποποίηση στη φάση που ακολουθεί τη μετάφραση, όπως για παράδειγμα οι αλλαγές στη γλυκοζυλίωση, μπορούν να αλλάξουν την ικανότητα των υποδοχέων να αντιδρούν στα ερεθίσματα του TGF-β<sub>1</sub>.

Η *IL-1* και ο *TNF-α* είναι πιθανώς οι δυο πιο ισχυρές προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες, αν και ορισμένες από τις επιδράσεις του *TNF-α* μπορεί να οφείλονται στην πρόκληση της έκφρασης της *IL-1*. Η *IL-1* υφίσταται σε δύο μορφές, την *IL-1α* και την *IL-1β*, οι οποίες είναι παράγωγα διαφορετικών γονιδίων, αλλά λειτουργούν μέσω των ίδιων υποδοχέων. Τα αυξημένα επίπεδα της *IL-1β*, της *IL-8* και της χημειοτακτικής

πρωτεΐνης των μονοκυττάρων (MCP-1) εντοπίζονται στα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα ασθενών με στηθάγχη. Η IL-1 και ο TNF- $\alpha$  αυξάνουν τους ρυθμούς έκφρασης μεγάλου αριθμού γονιδίων, συμπεριλαμβανομένων των ILs 1-8, του TNF- $\alpha$ , του TNF- $\beta$ , της IPN- $\gamma$ , του GM-CSF, του G-CSF, του M-CSF, του ενισχυτού παραγωγής υπεροξυσωματίων (PPARs), των μορίων προσκόλλησης και της COX-2, και πολλές από τις δράσεις της IL-1 και του TNF- $\alpha$  επιφέρονται μέσω αυτών των μεσολαβητών δεύτερης φάσης. Ο συνδέτης CD40 προκαλεί την έκφραση της προδρόμου IL-1 $\beta$  και του μετατρεπτικού ενζύμου 1 $\beta$ . Η σήμανση της IL-1 πραγματοποιείται μέσω του υποδοχέα IL-1 τύπου I, όμως η IL-1 συνδέεται επίσης με τον μη σηματοδοτικό υποδοχέα τύπου II. Ο ανταγωνιστής του υποδοχέα IL-1 (IL-1ra) είναι ενδογενής ανταγωνιστής ικανός να συνδέσει και τους δύο υποδοχείς χωρίς σήμανση. Η θεραπεία με IL-1ra αναστέλλει το σχηματισμό λιπιδίων γραμμώσεων στο μοντέλο ΔEX της ApoE. Επιπλέον, το μοντέλο ΔEX της IL-1ra αναπτύσσει θανάσιμη χρόνια φλεγμονή του αρτηριακού τοιχώματος, το οποίο είναι άμεσα συνδεδεμένο με τη μαζική διατοίχωματική διήθηση των ουδετεροφύλων, των μακροφάγων και των λεμφοκυττάρων CD4<sup>+</sup>. Ο πολυμορφισμός της IL-1ra συνδέεται με τη στεφανιαία νόσο.

Η IFN- $\gamma$  είναι μια κυτταροκίνη που εκκρίνεται από τα κύτταρα Th 1 ως αντίδραση στην αγγειακή λοίμωξη ή στην επαγωγή, που προκαλείται από τους IL-1 και TNF- $\alpha$ . Οι IL-4, TGF- $\beta$  και σε κάποιο βαθμό οι IFN- $\alpha$  και IFN- $\beta$  αναστέλλουν τη δράση της. Η IFN- $\gamma$  ενεργοποιεί μακροφάγα προκειμένου να εκφράσει μόρια MHC της τάξεως II και να εκκρίνει τους IL-1, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$  και ρίζες οξυγόνου καθώς και να αναστείλει την παραγωγή κολλαγενάσης. Επιπλέον, στον άνθρωπο οι αθηρωματικές βλάβες περιέχουν κλώνους κυττάρων T $\alpha$ , τα οποία αντιδρούν στην OxLDL μέσω της έκκρισης IFN- $\gamma$ . Η IFN- $\gamma$  και η IL-6 ενεργοποιούν τα κύτταρα T, τα μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τους ινοβλάστες και μπορούν να προκαλέσουν το σχηματισμό αθηρωματικών ανευρυσμάτων στην κοιλιακή αορτή.

Η IL-10 είναι μια αντιφλεγμονώδης κυτταροκίνη που εκκρίνεται από τα κύτταρα Th 2, τα κύτταρα B, τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα. Η IL-10 αναστέλλει την παραγωγή της κυτταροκίνης των λεμφοκυττάρων Th 1, την παρουσίαση του αντιγόνου και τον πολλαπλασιασμό. Τα επίπεδα του TNF- $\alpha$  είναι υψηλότερα και επιμένουν περισσότερο στα μοντέλα ΔEX της IL-10 στα οποία χορηγήθηκε λιποπολυσακχαρίδιο σε σχέση με τα μοντέλα μη ΔEX της IL-10. Επίσης, το μοντέλο ΔEX της IL-10 παρουσιάζει τριπλάσια αύξηση συσσώρευσης λιπιδίων και αυξημένη συσσώρευση τόσο των κυττάρων T όσο και της έκφρασης της IFN- $\gamma$ , καθώς και χαμηλή περιεκτικότητα κολλαγόνου στις αθηρωματικές βλάβες. Η IL-10 μειώνει το ρυθμό έκφρασης του ICAM-1 και του VCAM-1 στα ενδοθηλιακά κύτταρα της ομφαλικής φλέβας του ανθρώπου, που ενεργοποιήθηκαν με την IL-1, μειώνει την παραγωγή της IL-6 και της IL-8 και τον πολλαπλασιασμό των ενεργοποιημένων ΛΜΚ. Η IL-10 επίσης μειώνει ελάχιστα την τροποποιημένη προσκόλληση του μονοκυττάρου που προκαλείται από τη LDL. Η μεταφορά γονιδίων της IL-10 περιορίζει τη δραστηριοποίηση του NF- $\kappa$ B και την έκφραση των VCAM-1 και ICAM-1 στα χοιρίδια.

Οι IL-4 και IL-13 προκαλούν την έκφραση του VCAM-1 και της σελεκτίνης E, ενώ η IL-13 ενισχύει την απελευθέρωση των IL-8 και MCP-1 μέσω των ΛΜΚ, που διεγέρθηκαν με την κυτταροκίνη. Η IL-13 μειώνει το ρυθμό έκφρασης της επαγωγίσιμης συνθάσης του νιτρικού οξειδίου (iNOS) στα ΛΜΚ ποντικού, που έχουν

διεγερθεί με λιποπολυσακχαρίδιο. Η IL-4 και η IL-13 είναι ικανές να προκαλέσουν αγγειογένεση και η IL-4 επηρεάζει την εξέλιξη της πρώιμης φλεγμονώδους αθηροσκλήρωσης, που προκαλείται από την υπερθέρμανση της πρωτεΐνης 65.

Το νιτρικό οξείδιο είναι παράγωγο της L-αργινίνης, που συντίθεται από τρεις συνθάσες νιτρικού οξειδίου (NOS): ιδιοσυστατικά εκφραζόμενη ενδοθήλια NOS (eNOS), επαγωγίμη NOS (iNOS) και νευρωνική NOS (nNOS)<sup>27</sup>. Η αρτηριακή βλάβη, που απομακρύνει το ενδοθήλιο, όπως κατά την αγγειοπλαστική και την ενδαρτηρεκτομή, μειώνει τη δραστηριότητα της eNOS αλλά αυξάνει τη δραστηριότητα της iNOS. Επίσης, πολλές φλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως η IL-1β, ο TNF-α και η INF-γ προκαλούν έκφραση της iNOS.

Η ενδογενής σύνθεση του νιτρικού οξειδίου ρυθμίζει την αγγειακή χάλαση και αναστέλλει την προσκόλληση των αιμοπεταλίων και των μονοκυττάρων, τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων, τον πολλαπλασιασμό των ΛΜΚ, τη μετανάστευση και την παραγωγή της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Το νιτρικό οξείδιο δρα αντιφλεγμονώδως με την αναστολή της δραστηριοποίησης του NF-κΒ και της πυρηνικής μετατόπισης και επομένως, αναστέλλει την παραγωγή πολλών φλεγμονοδόν κυτταροκινών και χυμοκινών, όπως η MCP-1. Το νιτρικό οξείδιο επίσης αναστέλλει την έκφραση των ICAM-1, των VCAM-1 καθώς και τη σύνθεση του M-CFS.

### Χυμοκίνες

Οι χυμοκίνες είναι ισχυροί ενεργοποιητές και χημειοτακτικοί παράγοντες των λευκοκυττάρων. Η οικογένεια των χυμοκινών διακρίνεται σε τέσσερις ομάδες, τις CXC, CX<sub>3</sub>C, CC και C με βάση τη θέση των υπολειμμάτων κυστεΐνης στην αλυσίδα των αμινοξέων. Οι χυμοκίνες προκαλούν ενεργοποίηση των κυττάρων με το να συνδέονται με συγκεκριμένους υποδοχείς που έχουν ενωθεί με τη G-πρωτεΐνη. Οι χυμοκίνες εκφράζονται σε μεγάλες ποσότητες στα προσβεβλημένα κύτταρα και στην περιοχή του νεκρωτικού λιπιδικού πυρήνα των αθηρωματικών πλακών. Η έκφρασή τους προκαλείται από έναν αριθμό αθηρογόνων ερεθισμάτων, συμπεριλαμβανομένων των οξειδωμένων λιπιδίων, την αγγειακή κάκωση, τους αυξητικούς παράγοντες όπως τον PDGF και τις κυτταροκίνες, συμπεριλαμβανομένων των TNF-α, IL-1β, και INF-γ. Οι χυμοκίνες και οι υποδοχείς των χυμοκινών εκφράζονται διαφορετικά σε όλους τους τύπους των προσβεβλημένων κυττάρων. Πολλές χυμοκίνες συμπεριλαμβανομένων της MCP-1 και της IL-8 παρουσιάζονται αυξημένες σε ασθενείς με οξεία στεφανιαία σύνδρομα, ενώ αυξημένα επίπεδα των MCP-1, RANTES και MIP-1α παρατηρούνται στην κυκλοφορία ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια. Επιπλέον, οι χυμοκίνες όπως η MCP-1 εκφράζονται σε μεγάλες ποσότητες σε περιοχές αθηρωματικών βλαβών, όπου βρίθουν τα μακροφάγα, γεγονός που υπονοεί ότι η MCP-1 μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο στην προσέλκυση μονοκυττάρων στην προσβεβλημένη περιοχή. Περαιτέρω στοιχεία για τη σημασία των χυμοκινών έχουν συγκεντρωθεί από μελέτες σε μοντέλα χοιριδίων. Τα μοντέλα ΔEX της MCP-1 και της LDLR παρουσιάζουν περίπου 80% λιγότερες βλάβες ενώ τα μοντέλα ΔEX της MCP-1 με διαγονιδιακό ιστορικό ApoB έχουν περίπου 70% λιγότερες βλάβες σε σχέση με τα χοιρίδια που ανήκουν στην ομάδα ελέγχου. Και τα δύο μοντέλα χοιριδίων έχουν λιγότερα μονοκύτταρα στις προσβεβλημένες περιοχές. Ο CCR2 είναι υποδοχέας της MCP-1 και τα μοντέλα ΔEX του CCR2 και της ApoE παρουσιάζουν 50% λιγότερες βλάβες από τα μοντέλα ΔEX της ApoE από μόνα τους. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι ο υποδοχέας CCR2 αυξάνει τον ρυθμό δράσης του

στους υπερχοληστερολαιμικούς ασθενείς. Η OXLDL αυξάνει την έκφραση του CCR2 στα μονοκύτταρα και την μονοκυτταρική χημειοταξία στην MCP-1. Τέλος, η ανεπαρκής χορήγηση κυττάρων του μυελού των οστών σε CXCR2 σε μοντέλα ΔΕΧ προκαλεί 50% λιγότερες βλάβες σε σχέση με τα χοιρίδια που ανήκουν στην ομάδα ελέγχου.

### Παράγοντες Μεταγραφής

Οι ενισχυτές παραγωγής των υπεροξυσωματίων (PPAR) τύπου  $\alpha$ ,  $\delta$  και  $\gamma$  είναι μεταγραφικοί παράγοντες της οικογένειας των υποδοχέων που ενεργοποιούνται με συνδέτες, οι οποίοι κωδικοποιούνται από διαφορετικά γονίδια. Σχηματίζουν ετεροδιμερή με τον ρετινοειδή υποδοχέα X και ενώνονται με το στοιχείο αντίδρασης PPAR στον επαγωγέα των γονιδίων-στόχων. Πέρα από την προαγωγή της γενετικής μεταγραφής, μπορούν επίσης να παρεμποδίσουν τη μεταγραφή γονιδίων με το να αναστέλλουν άλλες οδούς μεταγραφής (NF- $\kappa$ B, STAT, AP-1) με τρόπο, που αφορά στην ανεξάρτητη ένωση του DNA.

Ο PPAR $\alpha$  εκφράζεται στους ιστούς, που συνδέονται με υψηλά ποσοστά μεταβολισμού των λιπαρών οξέων, όπως είναι ο νεφρός, το ήπαρ, η καρδιά και οι μύες. Ο PPAR $\gamma$  εκφράζεται στο λιπώδη ιστό και στο μαστικό αδένα. Επιπλέον, οι PPAR εκφράζονται στα ενδοθηλιακά κύτταρα και στα ΛΜΚ. Ο PPAR $\alpha$  εκφράζεται στα μονοκύτταρα και η έκφρασή του αυξάνεται καθώς τα μονοκύτταρα αλλάζουν σε μακροφάγα, ενώ ο PPAR $\gamma$  εκφράζεται μόνο στα μακροφάγα. Στις αθηρωματικές βλάβες οι PPAR εκφράζονται στο λιπιδικό πυρήνα στο ίδιο σημείο με τα ΛΜΚ, τα μακροφάγα και τα αφρώδη κύτταρα <sup>28</sup>. Ο PPAR $\delta$  εκφράζεται στην καρδιά, στο λιπώδη ιστό, στο έντερο, στον εγκέφαλο, στους μύες, στο σπλήνα, στον πνεύμονα και στα επινεφρίδια. Πολλές φλεγμονώδεις κυτταροκίνες όπως η IL-1, ο TNF- $\alpha$  και η IL-6 μειώνουν την έκφραση του PPAR $\gamma$  στα λιποκύτταρα, ενώ η IL-4 αυξάνει την έκφραση. Οι συνδέτες PPAR $\alpha$ , όπως τα προϊόντα αντίδρασης της λιποξυγενάσης από το αραχιδονικό οξύ (υδροξυοκταδεκαδιενοϊκό οξύ 9- και 13-) αυξάνουν το ρυθμό έκφρασης του PPAR $\alpha$ . Ομοίως, οι μεταβολίτες του αραχιδονικού οξέος από τις οδούς της κυκλοξυγενάσης και της λιποξυγενάσης αυξάνουν το ρυθμό έκφρασης του PPAR $\gamma$ . Οι συνθετικοί ενεργοποιητές των PPAR $\alpha$  και PPAR $\gamma$  είναι οι φιβράτες και οι ευαισθητοποιητές στη δράση της ινσουλίνης, γλιταζόνες αντίστοιχα. Ως συνδέτες των PPAR θεωρούνται και ορισμένα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα.

Οι PPARs διαμορφώνουν τη φλεγμονή και επηρεάζουν το μεταβολισμό των λιπιδίων: ο PPAR $\alpha$  αυξάνει τη δραστηριότητα της λιποπρωτεϊνικής λιπάσης και οι PPAR ελέγχουν την πρόσληψη των λιπαρών οξέων με την αύξηση της δράσης της πρωτεΐνης-μεταγωγέα των λιπαρών οξέων και την τρανσλοκάση των λιπαρών οξέων. Ο PPAR $\alpha$  επηρεάζει την ενδοκυττάρια μοίρα των λιπαρών οξέων με το να προκαλεί την έκφραση της συνθάσης του ακυλοσυνενζύμου A και την αποδόμηση των λιπαρών οξέων μέσω των οδών της υπεροξυσωματικής και της μιτοχονδριακής B οξειδωσης. Επιπλέον, ο PPAR $\alpha$  μπορεί να ενισχύσει την αποδόμηση του αραχιδονικού οξέος και των παραγώγων του, των φλεγμονωδών μεσολαβητών όπως οι λευκοτριένες B<sub>4</sub>, μέσω των οδών  $\beta$ - και  $\omega$ -οξειδωσης. Ο PPAR $\gamma$  μπορεί να συμμετέχει στον έλεγχο της φλεγμονής του λιπώδους ιστού με τη μείωση των επιπέδων έκφρασης του TNF- $\alpha$ .

Ο ρυθμός δράσης του PPAR $\gamma$  αυξάνεται στα δραστηριοποιημένα μακροφάγα και επηρεάζει τις αντιδράσεις των μακροφάγων στα φλεγμονώδη ερεθίσματα εντός του αρτηριακού τοιχώματος. Οι συνδέτες του PPAR $\gamma$  αναστέλλουν την παραγωγή

της iNOS και την έκφραση της μεταλλοπρωτεϊνάσης της θεμέλιας ουσίας (MMP) 9 καθώς και του υποδοχέα αποδόμησης τύπου A, όπως επίσης και την παραγωγή των TNF- $\alpha$ , IL- $\beta$  και IL-6. Παρόλα αυτά, τα αποτελέσματα, που επετεύχθησαν από πειράματα σε φυσικούς συνδέτες θα πρέπει να ερμηνευτούν με προσοχή, εφόσον τα εικοσανοειδή μπορούν να επηρεάσουν τα μακροφάγα και μέσω των εναλλακτικών οδών. Οι φιβράτες, ενεργοποιητές των PPAR $\alpha$ , αναστέλλουν την εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης στα χοιρίδια και στον άνθρωπο, και οι ενεργοποιητές PPAR $\gamma$  αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των ΛΜΚ και την εσωτερική υπερπλασία στις καρωτιδικές αρτηρίες του ανθρώπου. Ο PPAR $\gamma$  μπορεί να επηρεάσει την πρόιμη αθηρογένεση μέσω της αναστολής της προσκόλλησης των μονοκυττάρων, των κυττάρων T και των ηωσινοφίλων κυττάρων και μέσω της αναστολής της έκφρασης των MCP-1 και RANTES. Ο PPAR $\alpha$  αναστέλλει την έκφραση μέσω της κυτταροκίνης του VCAM-1. Οι PPARs επίσης εμπλέκονται στο σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων. Η OxLDL και τα οξειδωμένα λιπαρά οξέα προκαλούν το σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων και την έκφραση του PPAR $\gamma$ . Ο PPAR $\gamma$  ενώνεται με το στοιχείο αντίδρασης PPAR και προκαλεί την έκφραση του υποδοχέα της OxLDL CD36, που επιφέρει την ενεργοποίηση της έκφρασης του CD36 και το σχηματισμό των αφρωδών κυττάρων. Οι συνδέτες PPAR επίσης προκαλούν την έκφραση του υποδοχέα της HDL SR-B1.

Ο NF- $\kappa$ B είναι μεταγραφικός παράγοντας που σχετίζεται με το οξειδωτικό stress και τη δημιουργία φλεγμονής. Η ενεργοποίηση του NF- $\kappa$ B ελέγχεται από τον I $\kappa$ B, που αναστέλλει την ενεργοποίηση του NF- $\kappa$ B και από την κινάση I $\kappa$ B που απενεργοποιεί τον I $\kappa$ B. Ο NF- $\kappa$ B ρυθμίζει την έκφραση πολλών αθηρωγόνων γονιδίων, συμπεριλαμβανομένων των VCAM-1, των ICAM-1, της σελεκτίνης E, της MCP-1, της IL-8 και κυκλίνης D1. Ενεργοποιημένος NF- $\kappa$ B έχει ανιχνευθεί σε ανθρώπινες αθηρωματικές βλάβες αλλά είναι παντελώς απών από τα υγιή αγγεία.

Ο NF- $\kappa$ B μάλλον ελέγχεται από την οξειδοαναγωγική κατάσταση του κυττάρου και η δημιουργία ελευθέρων ριζών οξυγόνου μπορεί να αποτελεί κοινό βήμα στην ενεργοποίηση του NF- $\kappa$ B. Τα τελικά προϊόντα της γλυκοζυλίωσης, η ομοκυστεΐνη και η αγγειοτασίνη II προκαλούν οξειδωτικό stress και η ενδογενής LDL καθώς και η OxLDL δρουν ως προ-οξειδωτικά και επιφέρουν ενεργοποίηση του NF- $\kappa$ B. Επιπλέον, η αιμοδυναμική και άλλοι αθηρωγόνοι παράγοντες μπορούν να δημιουργήσουν στους κλάδους της αορτής προδιάθεση για αθηροσκλήρωση. Υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση ανάλογα με την περιοχή που εκφράζεται ο NF- $\kappa$ B στο ενδοθήλιο της αορτής και έχει αποδειχθεί ότι το VCAM-1, που ενεργοποιήθηκε από το γονίδιο του NF- $\kappa$ B εκφράζεται σε σημεία που παρουσιάζουν προδιάθεση σε αθηρωματικές βλάβες καθώς η υπερχοληστερολαιμία αυξάνει το ρυθμό έκφρασης του VCAM-1 σε αυτά τα σημεία. Ομοίως, η αθηρωγόνος διατροφή και τα λιποπολυσακχαρίδια ενεργοποιούν τον NF- $\kappa$ B και αυξάνουν το ρυθμό έκφρασης των VCAM-1 και της σελεκτίνης E σε αυτές τις περιοχές.

### Απόπτωση

Τα μακροφάγα, τα κύτταρα T και τα ΛΜΚ στις αθηρωματικές και επαναστενωτικές βλάβες υφίστανται απόπτωση, η δε εμφάνιση της απόπτωσης είναι πιο συχνή στις προχωρημένες βλάβες από ότι στις λιπώδεις γραμμώσεις. Η απόπτωση ελέγχεται από έναν αριθμό διαφορετικών γονιδίων ή από οικογένειες γονιδίων, όπως τα Bcl-2, Bcl-A1 και Bcl-X<sub>L</sub>, που προστατεύουν τα κύτταρα από την απόπτωση σε αντίθεση με τα

Bax, Bad και Bid που επιφέρουν απόπτωση. Οι κασπάσες και το NO επίσης εμπλέκονται στην απόπτωση.

Η βλάβη ή η δυσλειτουργία του ενδοθηλίου προηγείται της αθηροσκλήρωσης. Οι αθηρωματικές βλάβες αναπτύσσονται σε περιοχές, που χαρακτηρίζονται από όχι καλή λειτουργία του αίματος και συχνά εντοπίζονται στις αρτηριακές διακλαδώσεις. Αυτές οι περιοχές σχετίζονται με το ρυθμό μετακίνησης των ενδοθηλιακών κυττάρων και με την απόπτωση. Η απόπτωση οδηγεί σε αυξημένη προσκόλληση στο ενδοθήλιο των μη ενεργοποιημένων αιμοπεταλίων. Επιπλέον, η διάνοιξη με αγγειοπλαστική τραυματίζει το ενδοθήλιο και αυξάνει έτσι την προσκόλληση των αιμοπεταλίων από τον αρτηριακό σπασμό με πιθανότητα να επιφέρει θρόμβωση της στεφανιαίας αρτηρίας και ισχαιμία του μυοκαρδίου. Με τον ίδιο τρόπο, η ισχαιμία του μυοκαρδίου και η ασταθής στηθάγχη έχουν συνδυαστεί με αυξημένες ποσότητες σωματιδίων της μεμβράνης – παράγωγα των ενδοθηλιακών κυττάρων, τα οποία υποδηλώνουν την παρουσία απόπτωσης. Η απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων προκαλείται από διάφορους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της απώλειας των αυξητικών παραγόντων, των υψηλών επιπέδων συγκέντρωσης γλυκόζης, της OxLDL, του οξειδωτικού stress, των δραστικών ριζών οξυγόνου και των χυμικών μεσολαβητών όπως η αγγειοτασίνη II, η αδρεναλίνη, η ενδοτοξίνη, ο TNF-α και οι συνδέτες PPAR. Τα προ-αποπτωτικά σημάδια συνήθως οδηγούν στη δραστηριοποίηση των κασπασών, ιδιαίτερα της κασπάσης -3 μέσω τουλάχιστον δύο διαφορετικών οδών: την οδό της κασπάσης -8 και την οδό του κυτοχρώματος c που ελέγχεται από πρωτεΐνες που μοιάζουν στην Bcl-2. Η απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων εμποδίζεται με αναστολείς της αγγειογένεσης όπως είναι η αγγειοστατίνη, η ενδοστατίνη και η θρομβοσπονδίνη-1 καθώς και ο TGF-β. Το NO που συντίθεται σε χαμηλά επίπεδα με τη μεσολάβηση της eNOS ως αντίδραση στη βλαπτική επίδραση της ροής αποτελεί επιπλέον αντιαποπτωτικό παράγοντα, που οδηγεί στην απενεργοποίηση της κασπάσης -3 κατά τη φάση, που ακολουθεί τη μετάφραση και στη μείωση του ρυθμού δράσης του αγγειοφόρου της απόπτωσης MKP-3. Επιπλέον, οι οδοί που εξαρτώνται από το NO μπορεί να εμπλέκουν πρωτεΐνες που μοιάζουν στην Bcl-2, στην κινάση πρωτεΐνης που εξαρτάται από το DNA καθώς και στην κινάση Akt. Πέρα από την ενεργοποίηση της παραγωγής NO, η βλαπτική επίδραση της ροής αυξάνει την αντιοξειδωτική ικανότητα των ενδοθηλιακών κυττάρων μέσω της αύξησης του ρυθμού δράσης του υπεροξειδίου δισμουτάσης Cu/Zn. Η ινσουλίνη, ο VEGF και η αγγειοποιητίνη αναστέλλουν την απόπτωση στα ενδοθηλιακά κύτταρα με μηχανισμούς που εξαρτώνται από το NO.

Η απόπτωση των ΛΜΚ παρατηρείται σε πρωτογενείς αθηρωματικές αλλοιώσεις καθώς και στην επαναστένωση. Η απόπτωση μπορεί να είναι ένας από τους παράγοντες, που επηρεάζουν τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας κυρίως με τη λέπτυνση του ινώδους επικαλύμματος. Η εσωτερική συσσώρευση των αφρωδών κυττάρων σχετίζεται με την αυξημένη απόπτωση, ενώ η διάνοιξη με μπαλονάκι προκαλεί δύο κύματα απόπτωσης. Το πρώτο κύμα λαμβάνει χώρα μόνο μερικά λεπτά αφού προκληθεί τραύμα από το μπαλονάκι και υποχωρεί πολύ γρήγορα. Το δεύτερο κύμα απόπτωσης συμβαίνει ημέρες ή εβδομάδες μετά την πρόκληση του τραύματος με χαμηλότερη συχνότητα. Άλλοι επαγωγείς της απόπτωσης των ΛΜΚ είναι η απώλεια αυξητικών παραγόντων, το οξειδωτικό stress, οι δραστικές ρίζες οξυγόνου, ο αυξητικός παράγοντας των νευρών, ο αυξητικός παράγοντας του συνδετικού ιστού, η ενδοθηλίνη-1, οι κυτταροκίνες TNF-α, IL-1 και IFN-γ καθώς και ο συνδέτης Fas. Ο συνδέτης Fas, προκαλεί απόπτωση όχι μόνο στα ΛΜΚ αλλά και στα κύτταρα T και



στα μακροφάγα. Η χορήγηση αγγειοτασίνης II έχει επιφέρει αντικρουόμενα αποτελέσματα, αλλά φαίνεται ότι οι υποδοχείς AT1 λειτουργούν αντι-αποπτωτικά και οι υποδοχείς AT2 προ-αποπτωτικά στα αγγειακά ΛΜΚ. Αντίθετα με τα ενδοθηλιακά κύτταρα, τα ΛΜΚ δεν εκφράζουν eNOS, όμως μπορεί να εκφράσουν iNOS, που μπορεί να οδηγήσει σε απόπτωση. Τα προσβεβλημένα ΛΜΚ εκφράζουν αυξημένες ποσότητες p53 και είναι περισσότερο επιρρεπή σε απόπτωση. Ο παράγοντας p53 επηρεάζει την απόπτωση με την αναστολή του ρυθμού της Bcl-2 που λειτουργεί αντι-αποπτωτικά. Επιπλέον, ο p53 αυξάνει το ρυθμό δράσης του ανταγωνιστή Bax, της Bcl-2 στα ΛΜΚ που βρίθουν λιπιδίων. Ο Bax είναι παντελώς απών από τα φυσιολογικά ΛΜΚ. Η απόπτωση επίσης προκαλείται από το Bad. Ο Bcl-X<sub>L</sub> συμμετέχει στη ρύθμιση της απόπτωσης στα ΛΜΚ, διότι το ολιγονουκλεοτίδιο στον Bcl-X<sub>L</sub> προωθεί την απόπτωση<sup>29</sup>.

### Μεταλλοπρωτεϊνάσες της Θεμέλιας Ουσίας

Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες της θεμέλιας ουσίας (MMPs) είναι οικογένεια πρωτεασών που αποδομούν τα συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και είναι πολύ βασικές για την αναδιαμόρφωση της θεμέλιας ουσίας, τη διήθηση των φλεγμονωδών κυττάρων, τη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας και την αγγειογένεση<sup>30</sup>. Επιπλέον, περιέχουν ορισμένες ιδιότητες αυξητικών παραγόντων και επηρεάζουν την απόπτωση, την επεξεργασία της πρωτεΐνης και τη συσσώρευση της θεμέλιας ουσίας. Οι MMPs συντίθενται ως προένζυμα από όλα τα είδη κυττάρων του αγγειακού τοιχώματος και η έκφρασή τους ρυθμίζεται από τρία επίπεδα: μεταγραφή, ενεργοποίηση των προενζύμων, και αναστολή της δραστηριότητας του ενζύμου από αναστολείς ιστού των MMP. Η έκφραση των MMPs προκαλείται από αρκετές κυτταροκίνες και αυξητικούς παράγοντες συμπεριλαμβανόμενων των TNF-α, IL-1, PDGF και bFGF, ενώ άλλοι μεσολαβητές αναστέλλουν τη σύνθεσή τους (IL-4, IL-10, INF-γ)<sup>31</sup>. Η άμεση αλληλεπίδραση μεταξύ των κυττάρων μπορεί να αυξήσει το ρυθμό έκφρασης των MMPs, όπως αποδεικνύεται από την ικανότητα των ενεργοποιημένων μεμβρανών των κυττάρων T να προκαλέσουν παραγωγή MMP-9 και αλληλεπίδραση μεταξύ του CD40 και των παραγώγων των μονοκυττάρων / μακροφάγων MMP-9, MMP-1, καθώς και έκφραση της MMP-3.

Η προσκόλληση και η διαπίδωση των μονοκυττάρων και των κυττάρων T στο ενδοθήλιο είναι ένα πρώιμο στάδιο της αθηροσκλήρωσης. Η προσκόλληση του λεμφοκυττάρου T στα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω του VCAM-1 προκαλεί έκφραση της MMP-2 και καθιστά ικανή τη μετανάστευση των κυττάρων T διαμέσου της βασικής μεμβράνης. Επίσης, η επαφή των μονοκυττάρων με το κολλαγόνο I και τη λαμινίνη προκαλεί την έκφραση των MMPs τους. Οι MMPs επηρεάζουν τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ΛΜΚ στις καρωτιδικές αρτηρίες των χοιριδίων που έχουν υποστεί τραυματισμό από το μπαλονάκι. Οι συνθετικοί αναστολείς των MMPs μειώνουν τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των ΛΜΚ μετά από τον τραυματισμό που προκαλείται από το μπαλονάκι.<sup>32,33</sup>

Όπως προαναφέρθηκε, η αγγειογένεση στην αθηρωματική πλάκα επιφέρει δυσμενείς επιπτώσεις αυξάνοντας το πάχος της πλάκας προκαλώντας εσωτερική αιμορραγία και ενδεχομένως θρόμβωση. Οι MMPs είναι αναγκαίες για την αποδόμηση της βασικής μεμβράνης και της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας πριν λάβουν χώρα ο πολλαπλασιασμός και η μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων και η αγγειογένεση. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα εκκρίνουν τις MMPs in vivo και τα

αντισώματα αντι-MMP-2 και αντι-MMP-9 αναστέλλουν το σχηματισμό αυλών in vitro. Επιπλέον, τα μακροφάγα ελευθερώνουν κυτταροκίνες που αυξάνουν το ρυθμό της έκφρασης των MMPs στα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Οι αθηρωματικές πλάκες, που περιέχουν μεγάλους νεκρωτικούς πυρήνες με συσσωρευμένα λιπίδια είναι πιο επιρρεπή σε ρήξη από ότι οι ινώδεις πλάκες και η ρήξη συνήθως εντοπίζεται στις άνω περιοχές των άκρων της βλάβης. Αυτές οι θέσεις περιέχουν μεγάλο αριθμό μακροφάγων, που είναι ικανά να εκκρίνουν MMPs, οι οποίες αποδομούν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία και προκαλούν λέπτυνση της πλάκας, δημιουργώντας προδιάθεση για ρήξη. Τα μακροφάγα μπορούν επίσης να εκκρίνουν κυτταροκίνες, οι οποίες προκαλούν παραγωγή MMPs από τα ΛΜΚ.

### Συμπεράσματα

Η αθηροσκλήρωση είναι μία σύνθετη εξελικτική και συστηματική νόσος των αρτηριών που προσβάλλει κυρίως τον έσω χιτώνα των μεγάλων και μεσαίων αρτηριών της συστηματικής κυκλοφορίας. Η χρόνια φλεγμονώδης αντίδραση παίζει σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση της παθοφυσιολογίας της νόσου και η διήθηση του έσω χιτώνα από μονοκύτταρα-μακροφάγα και T λεμφοκύτταρα σε συνδυασμό με την συνυπάρχουσα ενδοθηλιακή δυσλειτουργία και τη συσσωρευμένη οξειδωμένη LDL είναι τα κυρίαρχα ευρήματα της αθηρογένεσης.

Στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης εμπλέκονται πολλαπλοί γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες αλλά και το μικροπεριβάλλον των κυττάρων στις περιοχές βλάβης. Αν και πρόσφατα έχει αναγνωριστεί μεγάλος αριθμός υπεύθυνων γονιδίων, γενετικών πολυμορφισμών και ευπαθών τόπων σε χρωμοσωμικές περιοχές που συνδέονται με την αθηροσκλήρωση, ωστόσο η επιγενετική διεργασία, που ρυθμίζει την χρωμοσωμική οργάνωση και γενετική έκφραση είναι αυτή που παίζει κύριο ρόλο στην παθογένεια της αθηροσκλήρωσης. Η επιγενετική αναφέρεται στην μελέτη των αλλαγών της γονιδιακής έκφρασης οι οποίες δεν σχετίζονται με αλλαγές σε επίπεδο γονιδιακής αλληλουχίας ( αλλαγή στην αλληλουχία του DNA) αλλά με λεπτές μοριακές τροποποιήσεις ( της χρωματίνης κυρίως) όπως η μεθυλίωση του DNA, και στις μεταβολές της μετά-μετάφρασης στις ιστόνες όπως ακετυλίωση και φωσφορυλίωση, οι οποίες ορίζουν στα κύτταρα ποια γονίδια θα ενεργοποιηθούν ή θα κατασταλούν μεταγραφικά.

Η έρευνα που διεξάγεται σε επίπεδο γενετικής έχει στόχο την καταπολέμηση της νόσου, η οποία, τις τελευταίες δεκαετίες, έχει καταστεί πρώτη αιτία θνησιμότητας στο Δυτικό κόσμο αλλά και σε άλλες χώρες της Άπω Ανατολής και του Τρίτου κόσμου όπου η επίπτωση από τη νόσο σημειώνει άλματα και καταγράφεται το 80% της παγκόσμιας ετήσιας θνησιμότητας από ΚΑΑΝ. Είναι προφανές όμως ότι αλλαγές στον τρόπο ζωής και ιδιαίτερα ανθυγιεινές διατροφικές επιλογές αλλά και το κάπνισμα συμβάλλουν προς την κατεύθυνση αυτή και επιπλέον επιφέρουν καθοριστικές επιγενετικές αλλαγές που εμπλέκονται στην αθηρογένεση.

Παρά την αδιαφιλονίκητη πρόοδο που έχει σημειωθεί σε σχέση με την κατανόηση της παθογένεσης της αθηροσκλήρωσης πολλές αιτιολογικές εξηγήσεις της νόσου ακόμη παραμένουν αδιευκρίνιστες. Η συνεχής ανακάλυψη γονιδίων σε συνδυασμό με τις υπάρχουσες μεθόδους και τα μοντέλα αθηροσκλήρωσης θα συμβάλλουν στη θεμελίωση της σημασίας των διαφόρων γονιδίων για αυτή.

### Βιβλιογραφία

1. Ross R: The pathogenesis of atherosclerosis: A perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362: 801-809.
2. Kodama T, Freeman M, Rohrer L, Zabrecky J, Matsudaira P, Krieger N Type I macrophage scavenger receptor contains alpha-helical and collagen-like coiled coll. *Nature* 1990;343: 531-535.
3. Rohrer L, Freeman M, Kodama T, Penman M, Krieger M: Coiled-coil fibrous domains mediate ligand binding by macrophage scavenger receptor type II. *Nature* 1990;343:570-572.
4. Gough PJ, Greaves DR, Gordon S: A naturally occurring isoform of the human macrophage scavenger receptor (SR-A) gene generated by alternative splicing blocks modified LDL up-take. *J Lipid Res* 1998;39:531-543.
5. Yla-Herttuala S, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, et al: Gene expression in macrophage-rich human atherosclerotic lesions: 15-Lipoxygenase and acetyl low density lipoprotein receptor messenger RNA colocalize with oxidation specific lipid-protein adducts. *J Clin Invest* 1991;87:1146-1152.
6. Greaves DR, Gough PJ, Gordon S: Recent progress in defining the role of scavenger receptors in lipid transport, atherosclerosis and host defence. *Curr Opin Lipidol* 1998;9:425-432.
7. Hiltunen TP, Luoma JS, Nikkari T, Ylä-Herttuala S: Expression of LDL receptor, VLDL receptor, LDL receptor-related protein, and scavenger receptor in rabbit atherosclerotic lesions: Marked induction of scavenger receptor and VLDL receptor expression during lesion development. *Circulation* 1998;97:1079-1086.
8. Naito M, Suzuki N, Mori T, Matsumoto A, Kodama T, Takahashi K: Coexpression of type I and type II human macrophage scavenger receptors in macrophages of various organs and foam cells in atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1992;141:591-599.
9. Suzuki N, Kurihara Y, Takeya M, et al: A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature* 1997;386:292-296.
10. Vlassara N, Brownlee M, Cerami A: High-affinity-receptor-mediated uptake and degradation of glucose-modified proteins: A potential mechanism for the removal of senescent macromolecules. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:5588-5592.
11. Takata K, Horiuchi S, Araki N, Shiga M, Saitoh M, Morino Y: Endocytic uptake of non enzymatically glycosylated proteins is mediated by a scavenger receptor for aldehyde-modified proteins. *J Biol Chem* 1988;263:14819-14825.
12. el Khoury J, Thomas CA, Loike JD, Hickman SE, Cao L, Silverstein SC: Macrophages adhere to glucose-modified basement membrane collagen IV via their scavenger receptors. *J Biol Chem* 1994;269:10197-10200.
13. Fraser I, Hughes D, Gordon S: Divalent cation-independent macrophage adhesion inhibited by monoclonal antibody to murine scavenger receptor. *Nature* 1993;364:343-346.
14. Platt N, da Silva RP, Gordon S: Class A scavenger receptors and the phagocytosis of apoptotic cells. *Immunol Lett* 1999;65:15-19.
15. Terpstra V, Kondratenko N, Sieinberg D: Macrophages lacking scavenger receptor A show a decrease in binding and uptake of acetylated low-density lipoprotein and of apoptotic thymocytes, but not of oxidatively damaged red blood cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94: 8127-8131.
16. Yokota T, Ehlin-Henriksson B, Hansson GK: Scavenger receptors mediate adhesion of activated B lymphocytes. *Exp Cell Res* 1998;239: 16-22.

17. Dunne DW, Resnick D, Greenberg J, Krieger M, Joiner KA: The type I macrophage scavenger receptor binds to gram-positive bacteria and recognizes lipoteichoic acid. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:1863-1867.
18. Hampton RY, Golenbock DT, Penman M, Krieger M, Raetz CR: Recognition and plasma clearance of endotoxin by scavenger receptors. *Nature* 1991;352:342-344.
19. Haworth R, Platt N, Keshav S, et al: The macrophage scavenger receptor type A is expressed by activated macrophages and protects the host against lethal endotoxic shock. *J Exp Med* 1997;186:1431-1439.
20. Lougheed M, Lum CM, Ling W, Suzuki N, Kodama T, Steinbrecher U : High affinity saturable uptake of oxidized low density lipoprotein by macrophages from mice lacking the scavenger receptor class A type I/II. *J Biol Chem* 1997;272:12938-12944.
21. Nicholson AC. Expression of CD36 in macrophages and atherosclerosis : the role of lip regulation of PPARgamma signaling. *Trends Cardiovasc Med* 2004;14:8-12.
22. Auer J, Weber T, Berent R, et al: Genetic polymorphisms in cytokine and adhesion molecule genes in coronary artery disease. *Am J Pharmacogenomics* 2003;3:317-28.
23. Ito T, Ikeda U. Inflammatory cytokines and cardiovascular disease. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2003;2:257-65.
24. Novelli G, Borgiani P, Giardina E, et al: Role of genetics in prevention of coronary atherosclerosis. *Curr Opin Cardiol* 2003;18:368-71.
25. Rasmussen HS, Rasmussen CS, Macko J. VEGF gene therapy for coronary artery disease and peripheral vascular disease. *Cardiovasc Radiat Med* 2002;3:114-7.
26. Humphries SE, Morgan L. Genetic risk factors for stroke and carotid atherosclerosis: insights into pathophysiology from candidate gene approaches. *Lancet Neurol* 2004;3:227-35.
27. Hamilton CA, Miller WH, Al-Benna S, et al: Strategies to reduce oxidative stress in cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)* 2004;106:219-34.
28. Tham DM, Wang YX, Rutledge JC. Modulation of vascular inflammatory by PPARs. *Drug News Perspect* 2003;16:109-16.
29. Martinet W, Kockx MM. Apoptosis in atherosclerosis: implications for plaque destabilization. *Verh K Acad Geneesk Belg* 2004;66:61-79.
30. Khurana R, Simons M. Insights from angiogenesis trials using fibroblast growth factor for advanced arteriosclerotic disease. *Trends Cardiovasc Med* 2003;13:116-22.
31. Major CD, Santulli RJ, Derian CK, et al: Extracellular mediators in atherosclerosis and thrombosis: lessons from thrombin receptor knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:931-9.
32. Janssens SP. Applied gene therapy in preclinical models of vascular injury. *Curr Atheroscler Rep* 2003;5:171-7.
33. Baker AH. Development and use of gene transfer for treatment of cardiovascular disease. *J Card Surg* 2002;17:543-8.
34. Lamon B.D., Hajjar D.P., Inflammation at the molecular interface of atherogenesis: an anthropological journey, *Am. J. Pathol.* 2008;173: 1253
35. Matouk C.C., Marsden P.A., Epigenetic regulation of vascular endothelial gene expression, *Circ. Res.* 2008;102:873.
36. Schleicher E, Friess U. Oxidative stress, AGE, and atherosclerosis. *Kidney Int Suppl* 2007(August (106)):S17-26.
37. Kanagalingam MG, Nelson SM, Freeman DJ, et al. Vascular dysfunction and

- alteration of novel and classic cardiovascular risk factors in mothers of growth restricted offspring. *Atherosclerosis* 2009;205(July (1)):244–250.
38. Leduc L, Levy E, Bouity-Voubou M, Delvin E. Fetal programming of atherosclerosis: Possible role of the mitochondria. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2010;149:127–130
39. WHO: Fact sheet No 317, updated September 2009: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>, accessed 23/6/2010.
40. Pyle A.L., Young P. P. Atheromas Feel the Pressure. *Biomechanical Stress and Atherosclerosis*. *Am J Pathol.*2010, doi:10.2353/ajpath.2010.090615.

## **Genetic and Epigenetic study in progression of atherosclerosis**

Dimitrios Chaniotis MD, PhD, FESC, Frangiskos Chaniotis MD, PhD, FESC

Technological Educational Institution (TEI) of Athens.  
Foundation of Biomedical Research, Academy of Athens

Atherosclerosis is a chronic disease of large and medium sized arteries which is characterized by accumulation of cholesterol in the arterial wall together with proliferation of arterial smooth muscle cells and accumulation of extracellular matrix components which lead to occlusion of blood vessels, myocardial infarction, peripheral vascular disease, amputations, aneurysms and stroke. Chronic inflammatory response with infiltration of monocyte-macrophages and T-cells and endothelial dysfunction are also prominent features of atherogenesis.

Atherosclerosis is a complex multifocal arterial disease involving interactions of multiple genetic and environmental factors. Advances in techniques of molecular genetics have revealed that genetic polymorphisms significantly influence susceptibility to atherosclerotic vascular diseases. A large number of candidate genes, genetic polymorphisms and susceptibility loci associated with atherosclerotic diseases have been identified in recent years and their number is rapidly increasing.

The contribution of epigenetic mechanisms to cardiovascular diseases remains poorly understood. It remains unclear whether epigenetic changes are causally related to the pathogenetic features, such as clonal proliferation of lesion smooth muscle cells, lipid accumulation and modulation of immune responses in the lesions, or whether they merely represent a consequence of the ongoing pathological process.

However, genetic and epigenetic changes could at least partly explain poorly understood environmental and dietary effects on atherogenesis and the rapid increases and decreases in the incidence of coronary heart disease observed in various populations.

### Address for correspondence:

Dimitrios I. Chaniotis, MD, PhD, FESC

**Prikonisou 18 – Keratsini 18755**

**Tel. +30 6973049444**

**E-mail: [chaniotisdimitris@gmail.com](mailto:chaniotisdimitris@gmail.com)**