

ANDRZEJ LEDWOŻYW, ADAM KADZIOLKA

Rola monocytów w miażdżycy i angiopatii cukrzycowej

Zakład Patofizjologii Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Badania przeprowadzone na płytkach krwi (37) i krwinkach czerwonych (47) dowiodły, że komórki te odgrywają ważną rolę w procesach prowadzących do uszkodzenia ściany naczynia krwionośnego. Ostatnio okazało się także, że i monocyty mają w tym swój udział.

Monocyty są integralną częścią systemu obrony organizmu i uczestniczą w przewlekłych stanach proliferacyjnych przebiegających ze zwłóknieniem; od gojenia się ran do przewlekłych chorób zapalnych.

Ten pogląd, ucieleśniający komórkową teorię odporności Miecznikowa (33) przez długi czas dominował, jeśli chodzi o biologiczną rolę monocytów i nie pozwalał dostrzec ich udziału także w patogenezie miażdżycy mimo, że udział krwinek białych w wykrzepianiu krwi znany jest od ponad stu lat. Dopiero ostatnio notuje się coraz więcej badań, dotyczących znaczenia leukocytozy u chorych z zawałem serca (19).

Obecność enzymów hydrolitycznych, które pozwalają monocytom na trawienie sfagocytowanego materiału ma zasadnicze znaczenie w teorii Miecznikowa (33). Do chwili obecnej zidentyfikowano ponad 50 różnych substancji, wykazujących szeroki zakres aktywności w monocytach (12, 38). Większość z nich bierze bezpośredni lub pośredni udział w rozwoju uszkodzeń naczyń. Sposób, w jaki substancje te wywierają swoje działanie, można uporządkować następująco.

Uszkodzenie ściany naczynia krwionośnego

Komórki śródbłonna, stanowiące pierwszą linię w utrzymaniu integralności ściany naczynia krwionośnego, są bardzo wrażliwe na uszkodzenie przez rodniki tlenowe (38). Monocyty produkują wiele bardzo reaktywnych metabolitów tlenu: anion nadtlenny (O_2^-), nadtlenek wodoru (H_2O_2), rodnik hydroksylowy ($OH^\bullet$) i tlen atomowy (1O_2) (38). Zauważono, że metabolity te mogą uszkadzać komórki śródbłonna i hamować produkcję prostacykliny w ścianie naczynia (48). Powoduje to zaburzenia w równowadze hemostatycznej utrzymywanej przez metabolity kwasu arachidonowego, tym bardziej, że głównym metabolitem tego kwasu w monocytach jest tromboksan A_2 (40).

Uszkodzenia powodują też uwalnianie przez monocyty obojętne proteazy i kwaśne hydrolazy (12, 38). Spośród tych enzymów kolagenaza i elastaza zdolne są do trawienia swych substratów w ścianie naczynia. Produkty działania fosfolipaz monocytów mogą także wywierać

niekorzystne efekty i zmieniać przepuszczalność ściany naczynia oraz zdolność naczyńworochową naczyń (23). Działanie tych enzymów w uszkodzaniu struktury ściany naczynia krwionośnego jest dodatkowo potęgowane przez aktywator plazminogenu — inny enzym monocytów (21). Przekształcanie plazminogenu w plazminę pod działaniem tego enzymu może też aktywować kolagenazę fibroblastów.

Uczynnianie i przyspieszanie procesu krzepnięcia krwi

Uwalnianie plazminy może też powodować rozpuszczanie włókniaka, rozszczepienie niektórych białek dopełniacza, jak C1 i C3, aktywację czynnika Hagemana i prekalikreiny (38). W ostatnich latach zdolność monocytów do uczynniania procesu krzepnięcia krwi (PCA, procoagulant activity) stała się obiektem intensywnych badań. Zdolność ta przejawia się na różnych poziomach procesu krzepnięcia, jak tromboplastyna tkankowa, czy aktywator czynnika X lub protrombinaza (15, 29). Prawdopodobnie zdolność ta obejmuje też czynniki XI i XII, prekalikreinę i kininogen o wysokim ciężarze cząsteczkowym (15, 29). Aktywacja tej zdolności może prowadzić do wytrącania się włókniaka dokoła aktywnych monocytów (24). Należy podkreślić, że oprócz różnych stymulatorów mogących działać na monocyty w prądzie krwi, ich adhezja do komórek śródbłonna może także spowodować uczynnienie się aktywności prokoagulacyjnej.

Regulacja wzrostu głównych składników komórkowych ściany naczynia krwionośnego

Wzrost komórek śródbłonna (31), fibroblastów (14, 46) i komórek mięśni gładkich (31) może być aktywowany przez produkty monocytów. Sugeruje się, że interleukina-1 jest czynnikiem promocyjnym wzrostu komórek śródbłonna (39), zaś różne produkty monocytów czy powstających z nich makrofagów mogą aktywować wzrost fibroblastów i komórek mięśni gładkich. Produkty te, zwane czynnikami wzrostu pochodzącymi z makrofagów (MDGF, macrophage-derived growth factors) mogą mieć udział w nieprawidłowym i wzmożonym wzroście fibroblastów oraz komórek mięśni gładkich, które są głównymi składnikami płytki miażdżycowej (14, 46). Produkcja i uwalnianie MDGF mogą być wydatnie wzmożone po ekspozycji monocytów na fibronektynę zarówno w

formie rozpuszczalnej, jak i związanej z powierzchnią (30). Ponieważ fibronektyna jest głównym czynnikiem powodującym przylepanie się monocytów, produkowanym przez komórki ściany naczyń (śródbłonek i fibroblasty) (36), adhezja monocytów do ściany naczyń może być bodźcem pobudzającym produkcję MDGF. Ostatnio stwierdzono jednak, że po adhezji monocytów do powierzchni, mogą one produkować także czynniki hamujące wzrost komórek śródbłoka (27). Produkcja czynników hamujących oraz wzmagających wzrost komórek śródbłoka przez monocyty, może stwarzać szereg interesujących zagadnień, które winny być przedmiotem przyszłych badań, np. w jaki sposób regulowana jest produkcja tych przeciwnie działających czynników, który z nich dominuje w poszczególnych stanach patologicznych itp.

Wiadomości wyjaśniające mechanizmy adhezji monocytów do komórek śródbłoka przynoszą ważne informacje o ich udziale we wczesnych stadiach uszkodzeń tętnic w miażdżycy. Tak więc adhezja monocytów do komórek śródbłoka może indukować w nich syntezę i uwalnianie różnych związków, jak PCA, czynniki regulujące wzrost (36), czynniki cytotoksyczne i enzymy (12, 38). Aczkolwiek bieżące piśmiennictwo nie podaje szczegółowych informacji o roli tych produktów w procesie normalnej diapedozy monocytów w porównaniu ze zwiększoną ich adhezją, to ten ostatni proces winien prowadzić do wzmożonego uwalniania tych czynników i tym samym powodować dezintegrację ściany naczyń krwionośnego.

Przyjmuje się obecnie, że przyleganie monocytów do ściany naczyń zachodzi za pośrednictwem fibronektyny (36) przez oddziaływanie ze specyficznym, wrażliwym na trawienie trypsyną receptorem na powierzchni monocytów (6). Same monocyty także mogą produkować fibronektynę (36), jednak jej efekt adhezyjny jest mniej wyraźny (6), niż efekt wywierany przez ścianę naczyń. Niemniej jednak monocyty mogą syntetyzować i wydelać wiele składników dopełniacza, np. C1 — C3 (38), które po aktywacji i degradacji komórek tworzą produkty stymulujące migrację i adhezję monocytów; mogą także łączyć się z cząsteczkami lub komórkami opłaszczonymi przez składnik C3 dopełniacza. Ustalono, że procesy te zachodzą za pośrednictwem odpowiednich receptorów na powierzchni monocytów (10, 50) i mogą działać synergistycznie z receptorami fragmentów Fc IgG (51). Istnieje coraz więcej dowodów, że w procesy te zaangażowane są receptory Mo-1 na powierzchni monocytów (3, 11), szczególnie po stwierdzeniu, że receptor C3bi jest ściśle związany z receptorem Mo-1 (11, 50). Adhezja monocytów za pośrednictwem Mo-1 i fibronektyny jest bardzo prawdopodobna, gdyż uczynienie tych receptorów zachodzi pod działaniem wielu wspólnych czynników stymulujących (1, 2, 3, 11, 41, 50, 51). Co wię-

cej, wystawienie monocytów na działanie fibronektyny stymuluje uczynienie się receptorów dla fragmentu Fc IgG oraz C3b i C3bi (6, 41).

W procesie uszkodzenia komórek śródbłoka uruchomione zostaje błędne koło, faworyzujące adhezję monocytów i degradację struktury naczyń. Dostępne dane wskazują, że w przypadku uszkodzenia komórek śródbłoka np. przez wirusy lub czynniki utleniające, uczynieniu ulegają receptory dla fragmentów Fc IgG, C3 i C3bi, nieczynne w normalnych, nie uszkodzonych komórkach śródbłoka (8, 42, 43). Uszkodzone komórki śródbłoka mogą też produkować więcej fibronektyny (9). Aktywacja monocytów w wyniku zwiększonej ich adhezji może spowodować wydzielanie interleukiny-1, uczynniającej właściwości prokoagulacyjne (PCA) i dalszą adhezję monocytów (7).

Usuwanie uszkodzonych komórek śródbłoka ze światła naczyń może mieć poważne następstwa. Wyższe stężenia fibronektyny w warstwie podśródbłonkowej (36) i bezpośrednia dostępność czynników chemotaktycznych pochodzących z komórek mięśni gładkich dla monocytów (32) może wzmacniać ich penetrację do głębszych warstw ściany naczyniowej. Ponieważ płytki krwi także posiadają receptory dla fibronektyny (36), bezpośrednia ekspozycja warstw podśródbłonkowych może także zwać płytki z przysięnnego prądu krwi. W wyniku tego uwolnione zostają z płytek dalsze czynniki chemotaktyczne dla monocytów: czynnik wzrostu pochodzący z płytek (PDGF, platelet-derived growth factor) i czynnik płytkowy 4 (PF 4, platelet factor 4) (13). Uwalnianie PDGF w tych obszarach może też indukować migrację komórek mięśni gładkich do błony wewnętrznej naczyń (13) i wraz z MDGF wzmacniać proliferację fibroblastów (23).

Udział monocytów w tworzeniu płytki miażdżycowej widać najwyraźniej w dwu sytuacjach patologicznych: hipercholesterolemii i cukrzycy. Badania mikroskopowe u zwierząt, u których miażdżycę wywoływano dietą o dużej zawartości cholesterolu, wykazują intensywną inwazję krążących monocytów do błony wewnętrznej naczyń zarówno w stadiach wczesnych (16, 17), jak i późnych (18, 26). Zjawisko to może potęgować wzmożony transport znacznych ilości cholesterolu osocza z jego lipoproteinowymi nośnikami (głównie lipoproteidami o niskiej gęstości, LDL — low density lipoproteins) do błony wewnętrznej naczyń i zmianę naciekowej charakterystyki lipidowej warstwy wewnętrznej na wytwórczą charakterystykę płytki miażdżycowej (4). Badania morfologiczne wykazały, że obciążone lipidami monocyty, mogą ulegać transformacji w komórki piankowe, co powoduje pojawienie się nacieczeń tłuszczowych oraz, w dalszej konsekwencji, rozwój płytki miażdżycowej (4, 17, 18, 52). Transport cholesterolu zawartego w LDL do ściany naczyń przez monocyty, możliwy jest dzięki dostępności „zmiaatających” receptorów dla LDL

na powierzchni zarówno krążących monocytów, jak i pochodzących z nich makrofagów (45). Alternatywną drogą jest pochłanianie i degradacja acetylo-LDL, produktu metabolizmu LDL w komórkach śródbłonka. Akumulacja tego związku w makrofagach od dawna uważana jest za przyczynę powstawania komórek piankowych (20).

U chorych na cukrzycę często rozwija się miażdżyca i inne choroby naczyń, w wyniku zaburzeń licznych procesów metabolicznych i hematologicznych (5, 34). Oprócz istnienia nieprawidłowości w budowie lipoproteidów (49), udział monocytów w rozwoju angiopatii cukrzycowej nie ulega wątpliwości z powodu kilku innych czynników występujących szczególnie często u tych chorych.

Komórki śródbłonka chorych na cukrzycę produkują więcej fibronektyny, niż komórki osobników zdrowych (22). Ich monocyty posiadają też więcej receptorów fibronektyny i receptorów Mo-1 na swej powierzchni, w porównaniu z kontrolą (44). Biorąc pod uwagę fakt, że receptory Mo-1 zaangażowane są w wytwarzaniu jonów nadlenkowych (3, 41), obserwacja ta jest zgodna z doniesieniami o większej produkcji tych jonów przez monocyty chorych na cukrzycę (18). Doniesienia wskazujące na zdolność monocytów do wywoływania uszkodzeń komórek śródbłonka naczyń i kłębków nerkowych (25) oraz do waskularyzacji rogówki (35) uzasadniają ich udział w wielu chorobach naczyń krwionośnych.

Piśmiennictwo

1. Arnout M. A., Hakim R. M., Todd R. F., Dana N., Cotten H. R.: *N. Engl. J. Med.* 312, 457, 1985.
2. Arnout M. A., Spits H., Terhorst C., Pitt J., Todd R. F.: *J. Clin. Invest.* 74, 1291, 1984.
3. Arnout M. A., Todd R. F., Dana M., Melamed J., Schlosman S. F., Cotten H. R.: *J. Clin. Invest.* 72, 171, 1983.
4. Assman G., Schmitz G.: *Haematol. Blood Transf.* 17, 131, 1981.
5. Banga J. D., Sica J. J.: *Clin. Hematol.* 15, 465, 1986.
6. Beauclerc M. P., Amrani D., Mosesson M. W., Biaco C.: *J. Exp. Med.* 153, 42, 1981.
7. Beauclerc M. P., Pover J. S., Wheeler M. E., Cotran R. S.: *Gimbrone M. A.: J. Clin. Invest.* 76, 2003, 1985.
8. Cines D. B., Lyss A. P., Bina M.: *J. Clin. Invest.* 69, 123, 1982.
9. Clark R. A. F., Quin J. H., Winn H. J., Lanigan J. M., Dellepella P., Colvin R. B.: *J. Exp. Med.* 156, 646, 1982.
10. Cook J., Kazatchkine M.: *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* 25, 297, 1983.
11. Dana N., Todd R. F., Pitt J., Springer T. A., Arnout M. A.: *J. Clin. Invest.* 73, 153, 1984.
12. Davies P., Bonney R. J.: *J. Reticuloendothelial Soc.* 26, 37, 1979.
13. Deuel T. F., Senior R. M., Huang J. S., Griffin G. L.: *J. Clin. Invest.* 69, 1046, 1982.
14. Dohlman J. G., Payan D. G., Goetze E. J.: *Immunology* 52, 577, 1984.
15. Edgington T. S.: *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* 25, 1, 1983.
16. Gee A. P., Minta J. O.: *Am. J. Haematol.* 17, 29, 1984.
17. Gerrity R. G.: *Am. J. Pathol.* 103, 181, 1981.
18. Gerrity R. G.: *Am. J. Pathol.* 103, 191, 1981.
19. Grimm R. H., Neaton J. D., Ludwig W.: *J. Am. Med. Assoc.* 254, 1932, 1985.
20. Goldstein J. L., Brown M. S.: *J. Lab. Clin. Med.* 85, 15, 1975.
21. Gordon S., Unkeless J. C., Cohn Z. A.: *J. Exp. Med.* 140, 995, 1974.
22. Hattas B., Barnes A. J., Cederholm-Williams S. A., Moore J., Shorby M. E.: *Diabetologia* 27, 493, 1984.
23. Harlan J. M.: *Blood* 65, 513, 1985.

24. Hogg N.: *J. Exp. Med.* 157, 473, 1983.
25. Holdsworth S. R., Neale T. J.: *Lab. Invest.* 51, 172, 1984.
26. Joris I., Zand T., Nunnani J. J., Krolkowski F. J., Majno G.: *Am. J. Pathol.* 113, 341, 1983.
27. Kahalen M. B., De Lusto F., Bock W., Le Roy E. C.: *Clin. Immunol. Immunopathol.* 39, 242, 1986.
28. Kitahara M., Eyre H. J., Lynch R. E., Rallison M. L., Hill H. R.: *Diabetes* 29, 251, 1980.
29. Lyberg T., Prydz H.: *Nouv. Rev. Fr. Hematol.* 25, 291, 1983.
30. Martin B. M., Gimbrone M. A., Majeau G. R., Enanue E. R., Cotran R.: *Am. J. Pathol.* 111, 367, 1983.
31. Martin B. M., Gimbrone M. A., Enanue E. R., Cotran R.: *J. Immunol.* 31, 1510, 1981.
32. Mazzone T., Jensen M., Chait A.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80, 5794, 1983.
33. Metchnikoff E.: *Virch. Arch.* 96, 177, 1884.
34. Moore S.: *Metabolism* 35, 13, 1985.
35. Moore S., Sholley M. M.: *Am. J. Pathol.* 120, 87, 1985.
36. Mosesson M. W., Amrani D. L.: *Blood* 56, 145, 1980.
37. Mustard J. F., Packham M. A.: *N. Engl. J. Med.* 311, 665, 1984.
38. Nathan C. F., Murray H. W., Cohn Z. A.: *N. Engl. J. Med.* 303, 622, 1980.
39. Ooi B. S., Mac Carthy E. P., Hsu A., Ooi Y. M.: *J. Lab. Clin. Med.* 102, 428, 1983.
40. Paulowski N. A., Kaplan G., Hamill A. L., Cohn Z. A., Scott W. A.: *J. Exp. Med.* 158, 393, 1983.
41. N. M., Takahashi T., Brown E. J.: *Exp. Med.* 159, 137, 1984.
42. Ryan U. S.: *Fed. Proc.* 45, 101, 1986.
43. Ryan U. S., Schultz D. R., Ryan J. W.: *Science* 214, 557, 1981.
44. Settiadi H., Wautier J. L.: *Arch. Mal. Coeur* 79, 547, 1986.
45. Traber M. G., Kayden H. J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77, 5466, 1980.
46. Wahl S. M.: *Myelofibrosis and the biology of connective tissue*, Alan R. Liss Inc., New York 1984, s. 143.
47. Wautier J. L., Paton C., Wautier M. P., Pintigny D., Abadie E., Passa P., Caen J. P.: *N. Engl. J. Med.* 305, 237, 1981.
48. Whorton A. R., Montgomery M. E., Kent R. S.: *J. Clin. Invest.* 76, 295, 1985.
49. Winocour P. H., Ishola M., Durrington P. N., Anderson D. C.: *Lancet* 1, 1176, 1986.
50. Wright S. D., Rao P. E., Van Voorhis W. C., Craigmyle L. S., Iida K., Taale M. A., Westberg E. F., Goldstein G., Silverstein S. C.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80, 5699, 1983.
51. Yancey K. B., O'Shea J., Chused T., Brown E., Takahashi T., Frank N. M., Lawley T. J.: *J. Immunol.* 135, 465, 1985.
52. Zucker-Franklin D., Grusky G., Marcus A.: *Lab. Invest.* 38, 620, 1978.

Adres autora: dr Andrzej Ledwożyw, ul. Grażyny 29/13, 20-602 Lublin

NEILL S. D., HANNA J., O'BRIEN J. J., MC CRACKEN R. M.: Wydalanie *Mycobacterium bovis* przez bydło zakażone doświadczalnie. (Excretion of *Mycobacterium bovis* by experimentally infected cattle). *Vet. Rec.* 123, 340-343, 1988 (13)

Trzy grupy cieląt, każda licząca 5 sztuk w wieku 4-7 miesięcy zakażono donosowo *Mycobacterium bovis* w dawce 10^6 cfu, $9,6 \times 10^3$ cfu i 92 cfu. Zakażenie rozwinęło się u cieląt, którym podano duże dawki zarazków. Po zakażeniu wystąpiła lag faza, w której nie udało się wyizolować *M. bovis* ze śluzówki jamy nosowej. Wszystkie zwierzęta wydalaly *M. bovis*. Jednakże czas jaki upłynął od momentu zakażenia do wydalania zarazka, ilość zarazków wydalanych były zależne od wielkości dawki zakażnej. Z reguły *M. bovis* był wydalany przez kilka tygodni, chociaż u dwóch cieląt czas ten wynosił 18 tygodni. U cieląt zakażonych 92 cfu *M. bovis* nie rozwinęła się gruźlica, a testy alergiczne z użyciem PPD ssaków i ptaków wypadły ujemnie. Niemniej jednak od jednego z takich cieląt *M. bovis* wyisolowano z jamy nosowej 100 dnia po zakażeniu.