

ГУМОРАЛЬНЫЙ И КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ ПРОТИВ АТЕРОСКЛЕРОЗА: ВОЗМОЖНОСТЬ СОЗДАНИЯ ВАКЦИНЫ

общ. мед.

Академик РАМН **НАГОРНЕВ В. А.**, член-корреспондент РАМН **КЕТЛИНСКИЙ С. А.**

ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН»,
ГНЦ «Государственный научно-исследовательский институт
особо чистых биопрепаратов ФМБА России»,
Санкт-Петербург

Нагорнев В. А., Кетлинский С. А. Гуморальный и клеточный иммунитет против атеросклероза: возможность создания вакцины // Мед. акад. журн. 2009. Т. 9. № 3. С. 3–15. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12; ГНЦ «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов ФМБА России», Санкт-Петербург, 197110, ул. Пудожская, 7.

Развитие атеросклероза находится под влиянием врожденного и приобретенного иммунитета. Врожденный иммунный ответ совершается макрофагами, дендритными клетками, экспрессирующими на поверхностной мембране клеток скэвнджер- и Toll-подобные рецепторы, а также естественные антитела, способные распознавать белки, липиды, нуклеиновые кислоты, углеводы. Т- и В-лимфоциты с помощью антигенных рецепторов могут также, но с большей специфичностью, участвовать в распознавании молекул, в том числе наиболее важных в атеросклерозе. Имеются наблюдения, предполагающие, что селективная супрессия проатерогенных или селективная активация антиатерогенных иммунных ответов может обеспечить новые подходы для предотвращения или лечения атеросклероза.

Ключевые слова: атерогенез, врожденный и адаптивный иммунитет, вакцина против атеросклероза

Nagornev V. A., Ketlinsky S. A. Humoral and cellular immunity against atherosclerosis: possibility to develop a vaccine // Med. Acad. Journ. 2009. Vol. 9. № 3. P. 3–15. Institute of Experimental Medicine RAMS, St. Petersburg; SSC «State Research Institute of Highly Pure BioSubstances», St. Petersburg, 197110.

Development of atherosclerosis is influenced by innate and adaptive immune responses. Innate immunity based on detection of pathogen-associated molecular patterns by pattern recognition receptors on macrophages and dendritic cells. Pattern recognition receptors binding a wide range of protein, carbohydrates, lipids and nucleic acids, but those considered most important in atherosclerosis are scavenger receptors and the Toll-like receptors. Recent observation has suggested the possibility that selective suppression of proatherogenic immune responses or selective activation of antiatherogenic immune response may provide new approaches for atherosclerosis prevention and treatment.

Key words: atherogenesis, innate and adaptive immunity, vaccine against atherosclerosis.

Окисленные формы липопротеинов низкой плотности иммуногенны и активируют клеточный и гуморальный иммунные ответы. Оба типа ответов являются провоспалительными и, возможно, играют основную роль в атеросклерозе. Иммунологический ответ на модифицированные липопротеины низкой плотности (мЛПНП) может быть направлен на пептиды, ассоциированные с ГКГС II класса (МНС II класса) в случае Th-клеток. Тогда как различные эпитопы: модифицированные лизиновыми группами, модифицированные фосфолипиды, белки, ассоциированные с окисленными ЛПНП, — участвуют как антигены для В-клеток [2–5].

ВРОЖДЕННЫЙ ИММУНИТЕТ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Врожденный иммунитет при атеросклерозе использует естественную селекцию рецепторов, которые обеспечивают начальную защиту от инвазирующих патогенов и поддерживают гомеостаз против

собственных антигенов. Эти рецепторы были названы «Pattern recognition receptor (PRR)», а те паттерны, которые они связывают, — «Pathogen associated molecular patterns (PAMPs)» [61]. Мишенью для многих PRR являются эпитопы для специфического окисления. Однако еще не совсем известно, почему PRR вовлекаются в атеросклероз. Может быть, это связано с тем, что эпитопы, специфические для окисления, являются одинаковыми для здоровья и заболевания. Однако анализ показывает, что эпитопы представлены «опасными сигналами», среди которых липополисахариды, поверхностные фосфатидилсерины и белки, измененные альдегидами, которые относятся к классу PAMP. Благодаря естественной селекции множество PRR связывают такие эпитопы. Они включают оба клеточных PRR, таких как скэвнджер-рецептор (SR) и toll-like receptors (TLRs), экспрессирующихся на макрофагах, и растворимые PRR, такие как пентраксины и естественные антитела (Nabs). ApoE^{-/-}-дефицитные мыши, у которых развивается спонтанный атеросклероз, имеют высокий

уровень естественных антител против окисленных эпитопов липопротеинов низкой плотности.

Естественные антитела к фосфорилхолину, стимулированные пневмококковой вакциной, уменьшают включение окисленных макрофагами ЛПНП и уменьшают атеросклероз мышей. Было продемонстрировано, что иммунизация мышей модифицированными малондиальдегидом ЛПНП, которые не подвергнуты головной группой фосфорилхолина, приводит к значительному увеличению естественных антител к фосфорилхолину. Этот эффект был атрибутом увеличения продукции IL-5. Таким образом, была открыта новая связь между врожденным и адаптивным иммунитетом. Были получены моноклональные антитела к фосфорилхолину и показано, что пассивная иммунизация гиперлипидемических мышей этими антителами уменьшала развитие атеросклероза с дальнейшей поддержкой атеропротективной роли для гуморального иммунного ответа против фосфорилхолина [81].

В процессе формирования ранних стадий атеросклеротических бляшек у ApoE^{-/-}-мышей циркулирующие иммуноглобулины относятся к IgG_{2a}, которые характерны для Th1-иммунного ответа. На более продвинутых стадиях развития атеросклероза у этих мышей происходит смещение продукции иммуноглобулинов, характерных для Th2-иммунного ответа. Эти изменения наблюдаются у гиперхолестеринемических мышей.

Toll-подобные рецепторы в атеросклерозе. TLR являются членами суперсемейства, содержащего рецептор для IL-1, который имеет значительную гомологию в их цитоплазматическом домене, названы как Toll/IL-1R (TIR) домен [38]. Связывание большинства TLR приводит к передаче трансмембранных сигналов, которые активируют NF-κB и митоген-активированную киназу (МАРК) пути [61, 84]. Было продемонстрировано, что ряд TLR вовлечены в формирование неинтимы и гиперплазии интимы, изменяя воспалительные ответы на экзогенные и эндогенные стимулы [80]. Хотя TLRs и вызывают защиту от инфекций, различные работы демонстрируют увеличение экспрессии TLR1, 2 и 4 в атеросклеротических повреждениях человека, показывая механистическую связь TLR, воспаления и атеросклероза [50, 92], которая сопряжена с проведением сигнала TLR в ядро клетки и прямой регуляцией генов, вызывающих воспаление.

Ассоциация TLR2 с атеросклерозом. Предполагается, что TLR2 является новой мишенью для терапевтического вмешательства в атерогенез. Во-первых, TLR2 опосредует ответы на липопротеины, происходящие из множества патогенов. Во-вторых, TLR2 имеет уникальную способность гетеродимеризоваться с TLR1 или TLR6, увеличивая, таким обра-

зом, ранг липидной специфичности, которые вносят вклад в развитие атерогенеза в контексте воздействия различных патогенов. Так, например, *Porphyromonas gingivalis* играет роль в развитии атеросклероза. Было продемонстрировано, что TLR2 играет важную роль в патогенезе атеросклероза у ApoE^{+/-}-мышей, усиленного бактериальной инфекцией. Значимую роль в поражении аорты играет эндогенная жировая диета и инокуляция бактерий. Мыши, дефицитные в TLR2, TLR4 и MyD88, имеют слабое поражение аорты атеросклеротическими бляшками. Хотя имеется вероятность, что инфекционный «взрыв» вносит вклад в прогрессирование атеросклероза, однако и эндогенные лиганды могут инициировать и модулировать сигнальные пути Toll-like-рецепторов. Выяснилось, что нестабильность бляшек наблюдается у ApoE^{+/-}-TLR2^{+/-}-мышей, тогда как у ApoE^{+/-}-TLR^{+/-}- и ApoE^{+/-}-TLR2^{-/-}-мышей бляшки имеют морфологию, указывающую на их стабильность, характеризующуюся меньшим содержанием макрофагов, сниженным апоптозом, меньшими отложениями липидов и более высокой массой гладкомышечных клеток. Максимум продукции провоспалительных цитокинов было отмечено у ApoE^{+/-}-TLR^{+/-}-мышей [54].

Экспрессия TLR4 при атеросклерозе. При атеросклерозе количество экспрессируемого TLR4 отчетливо увеличивается в эндотелии, покрывающей атеросклеротическую бляшку [23]. Культивируемые эндотелиальные клетки сосудов человека практически не экспрессируют TLR4, тогда как эти рецепторы начинают выявляться в больших количествах в ответ на провоспалительные цитокины [25]. Однако остается неясно, каким образом TLR4, находясь в эндотелии, может влиять на развитие атеросклероза. Сосудистые гладкомышечные клетки (ГМК), которые находятся под атеросклеротической бляшкой, экспрессируют TLR4 в больших количествах, чем в норме [75].

TLR4 может прямо взаимодействовать с метаболизмом макрофагов, предполагая дополнительный механизм, с помощью которого TLR4 может нарушать атерогенез, что наблюдается в ранних атеросклеротических поражениях. В сформированных атеросклеротических бляшках TLR4 многосторонне влияет на ГМК. Так, он усиливает их пролиферацию, участвует в гиперплазии интимы сосудов, индуцирует экспрессию провоспалительных цитокинов и протеаз, которые играют роль в формировании и моделировании развитых повреждений сосудов. В отсутствие TLR4 не наблюдается ремодулирование тканей пораженных атеросклерозом сосудов. TLR4, стимулированный клетками адвентиции, индуцирует ремодуляцию артерий. TLR4 asp299Gly и Thr399Ile являются единичной заменой нуклеотида, что приводит к нарушению сигналинга ЛПС и способнос-

ти вызывать воспаление. Вариант ко-сегрегации 299Gly и 399Ile относится к высокому риску инфаркта миокарда, но это выявлено у малого количества людей [49].

Нейтрофильные лейкоциты при атеросклерозе. Эпидемиологические и клинические исследования показали, что увеличенное количество нейтрофилов в циркуляции является независимым фактором риска для поражения коронарных артерий сердца. Активированные нейтрофилы могут участвовать в окислении ЛПНП, индуцируемом миелопероксидазами нейтрофилов [68].

Нейтрофилы (НФ) участвуют в атеросклерозе, но их роль недостаточно изучена. Ряд авторов считает нейтрофилы важными в развитии атеросклероза. НФ обнаружены в атеросклеротической бляшке у ApoE^{-/-}-мышей и в адвентиции аорты.

Острая гипертриглицеридемия является активатором нейтрофилов путем прямого взаимодействия между TLRs и лейкоцитами и включением жирных кислот. Активация лейкоцитов триглицеридами служит альтернативой провоспалительного и атерогенного механизма, наблюдаемого при оксидативном стрессе [8].

В эксперименте адаптивное перенесение НФ из крови нормальных мышей мышам, дефектным по LDLR^{-/-}, приводило к их накоплению в бляшке. Более того, длительное нарушение взаимосвязи между CXCR4 и CXCL12 (SDF1a), под воздействием антагонистов или в случае генетического дефекта *sxcr4*, ингибирует формирование аортальной аневризмы путем активации эластазы. Эти данные показывают, что нейтрофилы способствуют прогрессии атеросклероза [73, 93].

Роль макрофагов в атеросклерозе. Макрофаги, образующиеся из моноцитов, в большом количестве находятся в атеросклеротических бляшках и в некоторых из них численно превосходят сосудистые гладкомышечные клетки. Множество фенотипов макрофагов обнаружено в бляшках, включая воспалительные макрофаги, а также пенистые клетки, которые начинают образовываться, когда происходит процесс накопления в цитозоле эфиров холестерина. Слои липопротеидных частиц, составляющих основу атеросклеротических бляшек, представлены в основном макрофагами, трансформирующимися в пенистые клетки, они экспрессируют скэвенджер-рецепторы, входящие в семейство CD36, CD68, CXCL16, лектиновый тип рецептора окисленных ЛПНП, SR-A (скэвенджер-рецептор А) и SR-B1. Ранее считалось, что SR являются центральными в формировании пенистых клеток и играют роль в развитии атеросклероза. Однако удаление молекул семейства SR не привело к предполагаемому результату, так как развитие атеросклероза скорее увеличивалось, чем снижалось. Эти данные позволили предположить, что

SR могут лишь помогать формированию пенистых клеток [64]. Тем не менее утверждается, что накопление моноцитов при атерогенезе у мышей является прогрессивным и пропорциональным степени заболевания [81].

Инфильтрирующие стенку артерий макрофаги вносят вклад в различные пути к локальному воспалению. Зрелые макрофаги располагают RRP, распознающими свои и не свои ЛПНП, и удаляют только их окисленные формы, но не нативные. Удаление цитотоксических и провоспалительных форм ЛПНП в начале развития атеросклероза может носить характер защиты, но в случае прогрессивного накопления макрофагами липидов или преобладания пенистых клеток приводит к формированию атеросклеротических повреждений. Моноциты/макрофаги и Т-клетки образуют специализированные, привязанные к эндотелию, зоны, обозначенные как «иммунные синапсы» (моноцит/эндотелиальная клетка – контакт; Т-клетка/эндотелиальная клетка – контакт). Иммунные синапсы образуются с участием адгезивных молекул и хемоаттрактантов, концентрация которых в этих зонах достаточно велика, что и способствует формированию периферических супрамолекулярных комплексов (pSMAC) [20]. В связи с этим при атерогенезе у человека или на начальных стадиях экспериментального атеросклероза отмечается очаговая адгезия мононуклеарных клеток на неповрежденном эндотелии.

АДАПТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ В ЗАЩИТЕ ОТ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Известный патолог Р. Вирхов еще в позапрошлом веке отметил, что атеросклеротические бляшки содержат не только липиды, но и множество других клеток, среди которых имеются клетки воспаления. Аничков Н. Н. идентифицировал их как гладкомышечные клетки, макрофаги и лимфоциты. Хотя открытие Аничкова Н. Н. о холестероле как этиологическом агенте атеросклероза стало историческим, его наблюдения о макрофагах и лимфоцитах в поражении сосудов были забыты [1, 9, 37].

Т-лимфоциты в мышинной модели атеросклероза. Т-лимфоциты присутствуют в атеросклеротической бляшке на всех стадиях ее развития [5, 37]. CD4+Т-клетки являются преимущественной клеточной популяцией среди Т-лимфоцитов, находящихся в атеросклеротических повреждениях у ApoE^{-/-} и LDLR^{-/-}-мышей [72]. Восстановление иммунного дефицита scid/scid-мышей CD4+Т-клетками убыстряет развитие у них атеросклероза. Известно, что CD4+Т-клетки участвуют только в прогрессивной стадии развития, но не в инициации атерогенеза у ApoE^{-/-}-мышей [24, 95]. В табл. 1 суммирована активность Т-клеток в атеросклерозе.

Таблица 1

Роль Т-лимфоцитов в развитии атеросклероза

Мышиные модели	Автор
Адаптивный перенос усложняет течение атеросклероза	80
Реконституция иммунодефицитных мышей SCID/SCID Т-хелперами приводит к ускорению заболевания	80
Удаление CD4+Т-клеток с помощью анти-CD4-антител уменьшает жирные полосы у мышей C57BL/6 с атерогенной диетой	45
Дефицит Th1-клеток уменьшает развитие атеросклероза	86, 15
IFN-γ, продуцируемый Th1, активирует атеросклероз	15, 86
IFN-γ может выполнять антиатерогенную роль, так как он блокирует экспрессию ЛПНП и их окисление. Оба процесса происходят в условиях окисления в интиме сосуда, а IFN-γ их контролирует	26
Th2 ингибируют атерогенез	55, 82
CD4 регуляторные Т-клетки, TGF-β, IL-10 подавляют воспаление сосудов и снижают атеросклероз	55, 82
CD8 Т-клетки вносят вклад в формирование аневризмы при атеросклерозе	42
CD8 Т-клетки, активированные внутриклеточным антигеном, могут способствовать развитию атеросклеротических повреждений	24
У дефицитных по Т-bet (транскрипционный фактор для IFN-γ) мышей развитие атеросклероза снижено	15

Анализ представленных в таблице данных указывает на то, что Th-лимфоциты играют решающую роль в развитии атеросклероза. Популяции Т-клеток разнообразны как по фенотипу, так и по функциональной активности. Одна из этих популяций – Th1, характеризующиеся продукцией IFN-γ и TNF и их способностью активировать макрофаги. Почти во всех бляшках Т-клеточные клоны продуцируют IFN-γ, наличие которого может быть продемонстрировано с помощью гистохимии. Присутствие IL-12 в бляшках еще более достоверно указывает на то, что Th1 дифференцируется под воздействием Т-bet и IL-12 и, возможно, дифференцировка Th1 происходит в атеросклеротических повреждениях. X. Zhou et al. [95] охарактеризовали иммунный ответ в сосудах у ApoE-дефицитных мышей и показали, что эти повреждения содержат большое количество CD4 Т-cells [94], макрофаги активируются и экспрессируют HLA II (IA-антигены) класса с помощью IFN-γ, который продуцируется располагающимися рядом Th1-клетками. Обнаружение выраженных иммунных

инfiltrатов у иммунодефицитных ApoE^{-/-}-мышей позволило прийти к выводу, что у «диких» мышей, содержащих ApoE, приведет к снижению количества бляшек. У иммунодефицитных scid/scid-мышей с отсутствием Т- и В-клеток, скрещенных с иммунодефицитными ApoE^{-/-}-мышьями, ожидалось выраженное развитие бляшек, но сравнительный анализ этих животных с иммунокомпетентными ApoE^{-/-}-мышьями показал, что число бляшек было уменьшено на 70%. Для того чтобы определить специфичность действия клеточного иммунитета на антиген, была применена методика адаптивного переноса с использованием ApoE^{-/-} х scid/scid-мышей как реципиентов. Лимфоциты CD4+ «дикого» типа животных после иммунизации окисленным ЛПНП были изолированы и введены иммунодефицитным ApoE^{-/-} х scid/scid-мышьям. Это вызвало увеличение количества повреждений в 4,5 раза по сравнению с ApoE^{-/-} х scid/scid, которым Е-клетки не были введены. Эти данные свидетельствуют о том, что клеточный иммунный ответ на модифицированные ЛПНП частицы включает выраженную проатерогенную активность. Основным антигеном, стимулирующим развитие иммунного ответа, являются липопротеины низкой плотности, модифицированные окислением (мЛПНП).

ВАКЦИНАЦИЯ ПРОТИВ АТЕРОСКЛЕРОЗА

Hansson G.K. [37] в своем обзоре предложил ряд терапевтических стратегий, в основе которых лежат антигены и регуляторные молекулы, на которые необходимо вызвать специфический защитный иммунный ответ от атеросклероза. Palinski et al. [67] показали, что при парентеральной иммунизации окисленными частицами LDL уменьшается атеросклероз у гиперлипидемических кроликов Watanabe. Подобные находки были доложены и позже [7, 16, 31]. Они показали, что атеропротективный иммунитет может быть индуцирован иммунизацией.

В табл. 2 приводятся конкретные мишени, блокирование которых может привести к защите от атеросклероза. Однако остается неясным, на какой срок будет ингибировано развитие атеросклероза и возникнут ли клетки памяти, при отсутствии которых предстоит проводить постоянную терапию.

Таблица 2

1. Антигенспецифическая иммунизация
 - Индуцирование блокирующих антител на LDL /oxLDL
 - Активирование Т-регуляторных клеток, специфичных для LDL /oxLDL и/или HSP60
2. Активизировать регуляторный / ингибиторный иммунитет
 - Интерлейкин 10 (IL-10)
 - Трансформирующий ростовой фактор-β (TGF-β)

- Поликлональные IgG-препараты (IVIg)
- Анти-LDL / oxLDL
- 3. Блокада сигналинга провоспалительных цитокинов
 - TNF
 - IFN- γ
 - Pentoxifyllin или другие Th1-ингибирующие компоненты
- 4. Блокада сигналинга костимуляторных факторов
 - CD40 / CD40L
 - OX40L / OX40
 - CD137L / CD137
 - LIGHT/lymphotoxin- β receptor
- 5. Ингибирование лейкотриенового пути
 - 5 липоксигеназа/ ω -LO активирующий пептид
 - Лейкотриен А4 гидролаза
 - Рецепторы лейкотриена В4
 - Рецепторы цистенил лейкотриена

Tnfrsf4 (OX40, CD134) являются членами семейства TNF-рецепторов и первично экспрессируются на активированных CD4⁺ и CD8⁺T-клетках у людей и мышей [10, 76]. OX40 и OX40L участвуют в активации T-, B-клеток и макрофагов, миграции T-клеток в воспалительную ткань, включая атеросклеротические бляшки.

Eva G. A. van Wanrooij et al. [89] показали, что содержание мышей, дефицитных по ApoE, на Western-диете приводит к T-клеточной активации, основанной на OX40-экспрессии, и рассматривают OX40 в качестве идеального кандидата на развитие T-клеточного иммунного ответа при атерогенезе. На мышях с нокаутом по рецептору ЛПНП (LDLR^{-/-}) был проверен эффект анти-OX40L-антител, что привело к значительной регрессии (53%) de novo образований атеросклеротических поражений аорты. Авторы отмечают, что не только центральная или локальная T-клеточная активация, но и B-клетки вовлечены в этот процесс. Более того, недавно T. Ito et al. [47] показали, что OX40L ингибирует генерацию продукции IL-10 первым типом регуляторных T-клеток. Эти клетки играют важную роль в развитии периферической толерантности, и показана их связь с атерогенезом [47, 56].

Поскольку атеросклероз является классическим Th-1 обусловленным заболеванием, то нарушение или изменение баланса T-клеток в ту или иную сторону сказывается на течении процесса в целом, органом-мишенью которого остается стенка артерий. Показано, что изменение Th1/Th2-баланса играет важную роль в деструкции атеросклеротических бляшек и является признаком развития ИБС, нестабильной стенокардии и острого инфаркта миокарда, связанного с образованием «головки» тромба в зоне разрушения эндотелия над бляшкой [18, 30, 63].

Недавно были описаны естественно встречающиеся CD4⁺high, CD25⁺high FoxP3 регуляторные T-клетки (Treg) и Th17-клетки как две линии дифференцировки клеток, отличных от Th1- и Th2-клеток.

Th17-клетки, содержащие транскрипционный фактор, который ранее был назван «ретиноевый орфановый рецептор» (ROR γ^+), играют ведущую роль в развитии аутоиммунитета и аллергических реакций путем продукции IL-17 [12]. В то же время Treg-клетки экспрессируют транскрипционный фактор (Foxp3), выполняющий противовоспалительную роль и поддерживающий толерантность [74].

Баланс Th17/Treg контролирует развитие воспаления и может быть важным фактором в патогенезе дестабилизации атеросклеротических бляшек и отсюда в образовании острого коронарного синдрома (ОКС). Cheng et al. [19] показали, что при ОКС значительно увеличивается число Th17-клеток и связанных с ними цитокинов (IL-17, IL-6, IL-23) и ROR γ^+ и наблюдается снижение уровня Treg и концентрации связанных с ними цитокинов (IL-10, TGF- β) и Foxp3 по сравнению со стабильной стенокардией и при наличии у пациентов непораженных коронарных артерий. Механизм этого феномена связан с прямым взаимодействием двух транскрипционных факторов ROR γ^+ и FoxP3.

Клетки Th17, как показано, регулируют тканевое воспаление и экспрессируют IL-17 [12]. IL-17 действует in vivo и in vitro как провоспалительный цитокин и регулятор гомеостаза нейтрофилов [48]. В стенке артерий IL-17 и TNF могут действовать совместно, являясь промоторами развития и прогрессирования атеросклеротических поражений [21]. Один из механизмов появления в крови Th17 состоит в том, что существует дихотомия в генерации Th17-клеток и регуляторных CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺-клеток, так как оба типа клеток происходят из наивных T-хелперов и их развитие находится под контролем TGF- β . В зависимости от сигналов, генерируемых окружением, возникают либо обычно встречающиеся регуляторные T-клетки (CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺) либо Th17-клетки. У мышей, дефицитных по IFN- γ и IL-4, наблюдается снижение числа Th1 и Th2, а наивные клетки, уйдя от супрессивного действия указанных цитокинов, дифференцируются в Th17 под действием IL-23, независимо от активационных транскрипционных факторов STAT1, STAT4 и STAT6 [12].

В последнее десятилетие разработаны новые технологии и методы исследований, позволившие осуществить всесторонний анализ роли иммунного воспаления в патогенезе атеросклероза с учетом «вклада» врожденного и адаптивного иммунного ответа. Имеются два важных направления исследований: использование иммуносупрессивных препаратов и иммунизация. Иммунизация может быть или активной, при которой иммунный ответ индуцируется антигеном, или пассивной, при которой вводятся антитела, ранее полученные на антиген, который является основным в индукции патогенеза атеросклероза. При

этом используемые антитела должны быть протективными, т. е. полностью предотвращать действие антигена на организм. Необходимо учитывать, что пассивная иммунизация требует повторных введений, так как при пассивной иммунизации не образуются В- или Т-клетки памяти, и поэтому этот подход редко используется. Пассивный иммунитет можно применять при непродолжительных заболеваниях, как, например, инфекции, которые могут длиться 2–4 нед и требуют 2–3 введений антител, исходя из фармакокинетических исследований. При пассивной иммунизации не используются адъюванты, и потому антитела должны обладать максимальной специфичностью и высокими титрами.

Самый важный момент в подготовке к иммунизации – выбор антигена и адъюванта. Необходимо, чтобы вакцина вызывала тот тип иммунного ответа, который необходим для нейтрализации патогена. Так, например, при внутриклеточном паразите необходимо активировать клеточный иммунитет, осуществляющийся Th1 типа и цитотоксическими лимфоцитами CD8, при экстраклеточных инфекционных агентах защитным является гуморальный иммунитет, поддерживаемый Th2. При неинфекционной природе заболевания, к которому относится атеросклероз, следует подбирать адъюванты, которые могут активировать иммунный ответ того типа, который необходим для нейтрализации «опасного» антигена. Пока еще нет окончательного ответа на поставленные вопросы.

Исследования, связанные с попыткой разработки вакцины против атеросклероза, базируются прежде всего на данных, характеризующих образование основных аутоантигенов, ответственных за развитие иммунного воспаления при атерогенезе. В этом заключается вся сложность обсуждаемой проблемы, так как образующиеся антигены имеют различную природу и, следовательно, требуют разработки разных подходов к их нейтрализации.

Выделены два важных субкласса мЛПНП антигенов: специфический малондиальдегид-модифицированный пептид в апо В-100, который распадается более чем на 100 эпитопов, многие из которых приобретают антигенные свойства, и окисленный фосфолипид, содержащий фосфорилхолин, присутствующий как изолированный липид, так и ковалентно связанный с эпитопами апо В-100. Наличие окисленных фосфолипидных (фосфорилхолин-РС) антигенов в мЛПНП с образованием соответствующих антител было описано S. Horkko et al. [43]. Биоактивные липиды, идентифицированные в атеросклеротических поражениях, включают PAF-подобные липиды (PAF-тромбоцито-активирующий фактор), оксидизированные фосфолипиды (oxPL) и лизофосфотидилхолин (lyso PC). Подобно оксидизированному ЛПНП, PAF индуцирует продукцию TNF

макрофагами и МНС класс II-зависимую экспрессию IFN- γ Т-лимфоцитами. Оксидизированные фосфолипиды изменяют активность экспрессии тканевого фактора роста в эндотелии [14], так же как и в ГМК [22]. Подобным образом lyso PC может повышать IFN- γ Т-лимфоцитами и стимулировать продукцию IL-1 β в макрофагах [51]. Биоактивные липиды также стимулируют экспрессию хемоадгезивных молекул (ICAM-1, VCAM-1) и могут индуцировать реализацию IL-6, IL-8 и MCP-1 в эндотелиоцитах и ГМК [13, 83].

Последние исследования показали, что антитела против окисленных фосфолипидов относятся к T15 антифосфорилхолин антителам, продуцируемым В1-клетками. Эти эпитопы определяются как адаптивным Т-клеточно-зависимым ответом, так и врожденным Т-клеточно-независимым типом ответа и отвечают за образование соответствующих специфических антител при атеросклерозе, что следует учитывать при разработке вакцины против атеросклероза.

Гуморальный иммунный ответ к различным оксидативно-специфическим эпитомам мЛПНП описан S. Horkko et al. [44], но его роль у здоровых и больных, так же как и образуемого иммунного комплекса, в основном не известна. Аутоантитела (IgG, IgM) к эпитомам мЛПНП образуются и были обнаружены у человека и в экспериментальных моделях у животных. Иная ситуация складывается при направленной активной иммунизации против мЛПНП или их отдельных неоэпитопов. W. Palinski et al. [67] были первыми, кто показал, что иммунизация кроликов Ватанабэ (WHHL) с малондиальдегид-модифицированным ЛПНП (MDA-LDL) приводит к подавлению прогрессирования экспериментального атеросклероза. Эти данные были подтверждены и другими исследователями [7, 95]. Иммунизация с MDA-LDL приводит к увеличению антител не только против данного типа антигена, но и против других окисленных неоэпитопов, которые могут присутствовать в мЛПНП, таких, как оксидативные фосфолипиды, окисленный холестерол, оксидизированный холестерол-линолеат и оксидизированный кардиолипин. Данные антитела связывают циркулирующие в крови мЛПНП и удаляют их из тока крови, препятствуя проникновению в стенку артерий, – это проявление протективного эффекта активной иммунизации.

При активной иммунизации анти-мЛПНП-антитела могут блокировать сквенджер-захват макрофагами оксидизированных ЛПНП, и, таким образом, формирующиеся при этом комплексы не захватываются макрофагами с трансформацией в пенистые клетки, составляющие основу атеросклеротических бляшек В этом одно из принципиальных отличий направленной активной иммунизации против

мЛПНП и спонтанного иммунного ответа против тех же мЛПНП с образованием иммунных комплексов ЛП-АТ.

Следует различать два противоположных процесса: образование аутоантител к мЛПНП (IgG₂) с Th1-иммунным ответом, сопровождающим прогрессирование атеросклероза, и активную иммунизацию пептидами мЛПНП, сопровождающуюся формированием антител типа IgG₁ с Th2-иммунным ответом и комплексов, связывающих неоантигены (вряд ли их можно назвать иммунными комплексами) мЛПНП, что приводит к подавлению развития атеросклероза. Установлено, что иммунизация мышей, нокаутированных по апоЕ, гомологичными MDA-LDL вызывает Т-клеточно-зависимый (Th2) иммунный ответ с регрессией спонтанных атеросклеротических поражений. Даже в случаях иммунизации гетерологичным иммуноглобулином, несмотря на очень высокую гиперхолестеринемию, превосходящую исходные показатели более чем в 10 раз, у мышей с нокаутом по апоЕ происходит регрессия атеросклеротических поражений [66].

Как отмечено выше, Treg, экспрессирующие CD25⁺ и ингибирующие активацию других Т-клеток, продуцирующих провоспалительные цитокины, путем экспрессии противовоспалительных цитокинов, таких, как IL-10 (Th2-ответ), или трансформирующего фактора-β (TGF-β), продуцируемого Th3 Т-клетками, могут подавлять развитие иммунного воспаления при атерогенезе [56, 70].

Факт, что *in vivo* снижение Th1-иммунного ответа, связанного с дефицитом IL-12, приводит к регрессии атеросклероза, позволил выдвинуть гипотезу, что уменьшение или подавление функции IL-12 нарушает дифференцировку Th1-клеток, баланс между Th1- и Th2-иммунным ответом в пользу последнего. А. D. Hauer et al. [41] использовали IL-12, связанный с МНСII (IL-12-PADRE), для приготовления вакцины в смеси с адьювантом (пятикратная вакцинация с интервалом в 2 нед). Эффект вакцинации был изучен на мышцах с нокаутом по рецептору к ЛПНП. Результаты исследования показали, что по сравнению с мышцами без вакцинации IL-12 развитие атеросклероза в аорте уменьшается на 68,5%. Более того, в тех поражениях артерий, которые все же были обнаружены у вакцинированных мышей, отсутствовали IFN-γ – позитивные клетки, в 2,8 раза увеличивалось содержание коллагена, в 4,2 раза – α-актина по сравнению с не вакцинированными мышцами.

Иммунизация эпитопами мЛПНП мышей с нокаутом по апоЕ или рецептору к мЛПНП приводит к регрессии экспериментального атеросклероза. Однако не известно, этот атеропротективный ответ зависит от циркулирующих антител или от взаимоотношения между Т- и В-клетками. Так, перенос

В-клеток от атеросклеротических апоЕ^{-/-}-мышей молодым апоЕ^{-/-}-мышам предупреждал развитие атеросклероза [16]. Н. Ait-Oufella et al. [6] показали, что CD4⁺ и CD25⁺ регуляторные Т-клетки активно поддерживают иммунологическую толерантность к собственным и чужеродным антигенам и являются ингибитором атеросклероза в различных мышечных моделях.

Структура компонентов апоВ-100 ЛПНП была изучена и определены потенциальные антигенные эпитопы, которые могут быть использованы для получения атеропротективного эффекта иммунизации с окисленными ЛПНП [27]. Они включают 302 синтезированных пептида, которые гомологичны пептидам, находящимся в структуре апоВ-100 человека, каждый из которых содержит 20 аминокислот с частичным перекрытием 5 аминокислотами [28]. Из этих потенциальных антигенных эпитопов 102 обнаружены в пуле человеческой сыворотки [69]. Некоторые пептидные секвестры, но не все, вызывают атеропротективный эффект, когда они включены в вакцину. В этих случаях на 40–70% происходит регрессия атеросклероза и предотвращение образования бляшек в аорте в эксперименте [27, 69]. Показано, что такой атеропротективный эффект может быть пассивно перенесен неиммунизированным мышам через введение спленоцитов от иммунизированных мышей [69]. Пассивная иммунизация с использованием моноклональных антител к одному из атеропротективных пептидных эпитопов также показывает редукцию атеросклероза у гиперхолестеринемических мышей [77].

Несмотря на сложность и неоднозначность находок, вскрывающих природу и функции дендритных клеток, отмечается постоянно растущий интерес к выяснению возможности их использования для иммунотерапии заболеваний, в которые вовлечены иммунные реакции [11, 34]. Дендритные клетки, возможно, могут быть использованы как для подавления аутоиммунных провоспалительных реакций, способствующих развитию и прогрессированию атеросклероза, так и для активации противовоспалительных реакций, направленных на развитие адаптивного иммунного ответа в нужном направлении. В последние годы достигнуты существенные успехи по «конструированию» дендритных клеток с заданными качествами, используя генетические подходы и иммунологические методики [11, 34, 62].

Один из иммунологических подходов включает метод, при котором дендритные клетки, изолированные из периферической крови пациента, подвергаются активации *ex vivo* посредством их культивирования с соответствующим антигеном и затем возвращаются в кровеносное русло того же пациента [52]. При атеросклерозе, как отмечено выше, не существует

единственного специфического антигена, поэтому только инкубация дендритных клеток с гомогенатом атеросклеротических бляшек позволит этим клеткам быть «проактивированными» спектром антигенов, присутствующих в бляшке. Такой подход может быть особенно успешным, если «атеросклеротическая ткань» получена от того же самого пациента, например, при эндартерэктомии, широко используемой при хирургической коррекции стенозирующего атеросклероза сонных артерий. У пациентов с раком описанная обработка дендритных клеток с антигеном позволяет стимулировать иммунный ответ. В отличие от рака, при атеросклерозе иммунные реакции должны быть стимулированы с направленностью перехода Th1-ответа в Th2- или даже в Th3-ответ с экспрессией противовоспалительных цитокинов. Последнее может быть достигнуто, используя особенности активации Т-клеток дендритными клетками, требующей одновременного присутствия на поверхности дендритных клеток не только антигенного элемента в комплексе с антиген-представляющей молекулой, но и костимуляторных молекул, таких, как CD80 и CD86. Известно, что костимуляторные молекулы активируются на поверхности дендритных клеток, как следствие захвата и обработки антигена. Однако если костимуляторные молекулы заблокированы на поверхности дендритных клеток, например, посредством их инкубации с антителами против CD80 и CD86, то контакт таких активированных дендритных клеток с Т-клетками ведет не к активации Т-клеток, а, напротив, к подавлению их активности или даже апоптозу [52]. Конечно, такой подход к активации иммунной системы не может быть широко использован в практике лечения атеросклероза, но может рассматриваться в комплексе с другими реакциями, направленными на подавление иммунного воспаления в стенке артерий путем вакцинации [5].

Аутоантигенный ответ к шаперонам (HSP60/65) и β -2 гликопротеину микробной природы запускает развитие атеросклероза в экспериментальных моделях на мышах [87, 88 и др.]. В то время как «мукозальное» (нозальное или оральное) введение указанных антигенов подавляет развитие атеросклероза через индукцию ответа посредством Т-регуляторных клеток, приводящих к супрессии Th1-типа ответа и вызывающих секрецию противовоспалительных цитокинов (IL-4, IL-10, TGF- β) [17]. Индукция толерантности к HSP65 – микобактериальному HSP гомологичному с HSP60 и β -2 гликопротеином человека – посредством введения через оральную слизистую антигена до развития экспериментального атеросклероза вызывает предупреждение начальных стадий атеросклеротических поражений в аорте у мышей, несмотря на развитие гиперхолестеринемии [33, 39]. Подобные результаты были получены с назальным

введением данных антигенов мышам с нокаутом по рецептору к мЛПНП [59].

Schiopu A. et al. [78] проверили гипотезу, согласно которой лечение с использованием рекомбинантных IgG₁-антител человека против специфически модифицированных малондиальдегидом ЛПНП эпитопов приводит к регрессии выраженных атеросклеротических поражений. Через 25 нед содержания трансгенных мышей с нокаутом к рецептору ЛПНП (LDLr^{-/-}) на холестеринной диете атеросклеротические поражения нисходящей аорты составили 10,3±3,7% общей площади, затем мыши в течение 3 нед получали инъекции человеческих рекомбинантных IgG1-антител (IEI-E3 или 2D03) против секвенса малондиальдегид-модифицированных ЛПНП. В результате через 5 нед наблюдали регрессию атеросклеротических поражений (8,28 ± p=NS). Лечение 2D03-антителами вызывало регрессию поражений на 50% (p=0.001) и на 36% (p=0.004) при использовании IEI-E3-антител. В результате проведенного исследования авторы пришли к заключению, что человеческий IgG₁ против специфических эпитопов мЛПНП приводит к быстрой регрессии атеросклеротических поражений.

Fredrikson G. N. et al. [27, 30] определили число нативных и малондиальдегид-модифицированных пептидных секвенсов в апоВ-100 ЛПНП как важный момент для аутоиммунного ответа, включающегося в атеросклероз. Наиболее эффективные пептиды, идентифицированные в этих исследованиях, представляют апоВ аминокислоты 661–680 (p45) и 3136–3155 (p210). Иммунизация апоЕ^{-/-} с MDA модифицированным p45 ассоциируется с 50-кратным увеличением в Th2-специфических к p45 антител (IgG₁) и 48% снижением развития атеросклероза [28]. Иммунизация с p45 человеческого апоВ-100 вызывала регрессию атеросклероза у LDLr^{-/-}-трансгенных мышей на 66%. У мышей, иммунизированных с p210, регрессия атеросклероза наблюдалась на 59%. Уровень холестерина был одинаков во всех группах, включая и контрольную (иммунизация с BSA), тогда как уровень триглицеридов снижался. В плазме уровень окисленных ЛПНП не отличался между контрольной и иммунизированной группами. Анализ генной экспрессии также не показал каких-либо значительных отличий в экспрессии IFN- γ , IL-10, Fox P3, CCR4 (Th2-маркеры) или TIM3 (Th1-маркер) между этими группами.

Лечение гиперхолестеринемических мышей с рекомбинантным MDA-p45 IgG₁ приводит к значительной редукции атеросклероза [77] и может также вызывать регрессию выраженных поражений [78].

Sjogren P. [81] обследовали 387 мужчин (\leq 60 лет) с анализом в плазме аутоантител против IgG и IgM нативных и малондиальдегид-модифицированных

пептидов р45 и р210 апоВ-100 с параллельным проведением в 243 случаях ангиографии. Пациенты, перенесшие инфаркт миокарда, имели низкий уровень IgG против нативного р210 (IgG-р210_{нат}) и высокий IgM против малондиальдегид-модифицированного р210 (IgM-р210_{MDA}) по сравнению с контрольной группой пациентов. Результаты проведенного исследования позволили авторам прийти к заключению, что IgG-антитела против нативных пептидов р210 апоВ-100 обратно связаны с тяжестью коронарного атеросклероза и ассоциируются с низким риском инфаркта миокарда, поэтому эпитоп р210 может быть использован как средство для иммунизации против атеросклероза.

Fredrikson G. N. et al. [29] анализировали связь между аутоантителами против р45 и MDA-р45 и атеросклерозом сонных артерий, а также острым кардиоваскулярным состоянием у людей. Связь между низким уровнем аутоантител против р45 апоВ-100 подтвердила данные ранее выполненных экспериментальных исследований на трансгенных мышцах, что эти антитела оказывают атеропротективный эффект. Авторы высказывают точку зрения, что р45 секвенс апоВ-100 является потенциальным препаратом для иммуномодуляционного использования в лечении атеросклероза. Напротив, G. N. Fredrikson et al. [29] показали, что высокий уровень IgM против MDA-р210 связан с быстрым прогрессированием утолщения сонных артерий и эти антитела могут иметь диагностическое значение в агрессивном течении атеросклероза.

Таким образом, анализ литературы последних лет показывает, что отдельные эпитопы апоВ-100 уже используются как в диагностическом исследовании атеросклероза, так и в его лечении. Насколько эффективным будет такой новый подход к лечению атеросклероза, покажет время. Большое количество работ, выполненных на трансгенных мышцах C57BL/6J, показывает перспективность получения вакцины против атеросклероза.

В наших исследованиях мы используем несколько вариантов создания основы вакцины против атеросклероза. В частности, интраназальный путь вакцинации мышцей с нокаутом по апоЕ с применением гетерологичного мЛПНП. Эффект вакцинации на предмет развития экспериментального атеросклероза у апоЕ^{-/-}-нокаутированных мышцей показал, что в 50% случаев у мышцей не развивался экспериментальный атеросклероз (как спонтанный, так и индуцированный Western-диетой). Причем эти данные не коррелировали с уровнем холестерина в крови (17,0; 18,4; 19,5% моль/л), который превышал исходные показатели более чем в 10 раз, в аорте отсутствовали атеросклеротические поражения, в то время как в контроле (без вакцинации) формировались атеро-

склеротические поражения. С другой стороны, была отмечена положительная корреляция с уровнем иммуноглобулинов в крови. У мышцей с отсутствием атеросклеротических поражений средний уровень IgG₁ составил 0,728±0,037, а IgG_{2b} – 0,127±0,018, т. е. уровень IgG₁ более чем в 5 раз превышал количество IgG_{2b}.

Напротив, у мышцей в случаях образования атеросклеротических поражений, в опыте с вакцинацией, средний уровень IgG₁ составил 0,035±0,011, а IgG_{2b} – 0,214±0,097. Эти данные сопоставимы с результатами морфологического анализа атеросклеротических поражений. В тех случаях, когда уровень IgG₁ (Th2-ответ) превышал уровень IgG_{2b} (Th1-ответ), атеросклеротические поражения в аорте не образовывались и, напротив, в случаях, когда IgG_{2b} превышал уровень IgG₁, наблюдали ту или иную степень формирования атеросклеротических поражений в аорте. Но даже в случаях образования атеросклеротических поражений у вакцинированных мышцей, последние были локализованы только в восходящем отделе аорты. В то время как в контроле, без вакцинации мЛПНП, атеросклеротические поражения были обнаружены не только в восходящем, но и в грудном отделе у мест отхождения межреберных артерий и даже в брюшном отделе аорты.

При иммуногистохимическом исследовании из 6 использованных моноклональных антител, характеризующих развитие иммунного воспаления, только у мышцей, у которых на фоне вакцинации формировались атеросклеротические поражения аорты, наблюдали положительную окраску на CD3 и CD4 Т-клетки в зоне атеросклеротических бляшек. Аналогичные данные приводят X. Zhou et al. [94], которые показали, что CD4 Т-клетки составляют 90% от Т-клеток, присутствующих в атеросклеротических поражениях аорты у апоЕ-дефицитных мышцей. При этом установлено, что основная часть Т-клеток в зоне поражений характеризует Т-хелперный (Th1) ответ с экспрессией провоспалительных цитокинов.

Результаты проведенного исследования показали, что у апоЕ-дефицитных мышцей с проявлениями атеросклеротических поражений аорты в крови преобладают IgG_{2b} антитела, характеризующие Th1-ответ. Тогда как у мышцей с толерантностью к атеросклерозу преобладает IgG₁. Таким образом, первое проведенное в России исследование на трансгенных мышцах с моделированием экспериментального атеросклероза показало, что интраназальная вакцинация мЛПНП может приводить к предупреждению развития атеросклеротических поражений аорты, несмотря на высокий уровень холестерина в крови.

В других наших исследованиях для вакцинации были использованы синтетические пептиды, аминокислотная последовательность которых была вы-

брана на основе анализа эпитопов apoB-100. В ряде экспериментов было получено уменьшение площади пораженной бляшками аорты более чем на 50% от контроля, но не от контроля с одним адъювантом. Адъювант, судя по полученным нами данным, не способствует увеличению активности вакцины, а возможно, и предотвращает действие вакцинального препарата. В качестве оценки действия ApoB-100 пептидной вакцины наше внимание было уделено анализу уровня специфических антител, а не клеточного ответа. В недавней статье G. N. Fredrikson и его коллег [30] не было получено корреляции между уровнем антител к вакцинному пептиду и к LDL и защитой животных от развития атеросклероза. Авторы высказали гипотезу, что защита мышей от атеросклероза, возможно, зависит от клеточного иммунитета. Это предположение нам предстоит проверить.

Литература

1. Аничков Н. Н. Главные результаты исследований, проведенных в отделе патологической анатомии Института экспериментальной медицины АМН СССР // Вестн. АМН СССР. 1961. № 11. С. 33–40.
2. Денисенко А. Д., Виноградов А. Г., Нагорнев В. А. и др. Взаимодействие макрофагов с
3. Климов А. Н. Аутоиммунная теория атерогенеза и концепция модифицированных липопротеидов // Вестн. АМН СССР. 1990. № 11. С. 30–36.
4. Климов А. Н., Нагорнев В. А., Денисенко А. Д. Изучение иммунологических механизмов развития атеросклероза и новые методы его диагностики и лечения // Мед. акад. журн. 2005. Т. 5. № 2. С. 18–32.
5. Нагорнев В. А. Патогенез атеросклероза. 2007.
6. Ait-Oufella H., Salomon B.L., Potteaux S. et al. Natural regulatory T cells control the development of atherosclerosis in mice // Nat. Med. 2006. Vol. 12. P. 178–180.
7. Ameli S., Hultgardh-Nilsson S., Regnstrom J. et al. Effect of immunization with homologous LDL and oxidized LDL on early atherosclerosis in hypercholesterolemic rabbits // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1996. Vol. 16. P. 1074–1079.
8. Alipour A., van Oostrom J.H.H.M., Israeljan A. et al. Leukocyte activation by triglyceride-rich lipoproteins // Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol. 2008. Vol. 28. P. 792–797.
9. Anitshkov N. Uber die Veranderungen der Kaninchen aorta bei experimenteller Cholesterin-steatose // Beitr. pathol. Anat. und allgem. Pathol. 1913. Bd. 56. S. 379–405.
10. Baum P.R., Gayle B.B., Ramsdell. Molecular characterization of murine and human OX40/OX40 ligand systems: identification of a human OX40 ligand as the HTLV-1 regulated protein gp34 // Embo J. 1994. Vol. 13. P. 3992–4001.
11. Benko S., Magyarics Z., Szabo A. et al. Dendritic cell subtypes as primary targets of vaccines: the emerging role and cross-talk of pattern recognition receptors // Biol. Chem. 2008. Vol. 389. P. 469–485.
12. Bettelli E., Oukka, Kuchroo. T(H)-17 cells in the circle of immunity and autoimmunity // Nat. Immunol. 2007. Vol. 8. P. 345–350.
13. Blankenberg S., Tirel L., Bickel C. Interleukin-18 is a strong predictor of cardiovascular death in stable and unstable angina // Circulation. 2002. Vol. 106. P. 24–30.
14. Bochkov V. N., Mechtcheriakova D., Lucerna M. et al. Oxidized phospholipids stimulate tissue factor expression in human endothelial cells via activation of ERK/EGR-1 and Ca(++) NFAT // Blood. 2002. Vol. 99. P. 199–206.
15. Buono C. et al. T-bet deficiency reduces atherosclerosis and alters plaque antigen-specific immune responses // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. Vol. 102. P. 1596–1601.
16. Caligiuri G., Nicoletti A., Poirier B., Hansson G. K. Protective immunity carried by B cells of hypercholesterolemic mice // J. Clin. Invest. 2002. Vol. 109. P. 745–753.
17. Chen Z., Tato L., Muul A. et al. Distinct regulation of interleukin-17 in human T-helper lymphocytes // Arthritis Rheum. 2007. Vol. 56. P. 2936–2946.
18. Cheng X., Liao H., Ge B. Th1/Th2 functional imbalance after acute myocardial infarction: coronary arterial inflammation of myocardial inflammation or myocardial inflammation // J. Clin. Immunol. 2005. Vol. 25. P. 246–253.
19. Cheng X., Yu X., Ying-jan Ding et al. The Th17/Treg imbalance in patients with acute coronary syndrome // Clin. Immunol. 2008. Vol. 127. P. 89–97.
20. Choi J., Enis D. R., Koh K. P. et al. T lymphocyte-endothelial cell interactions // Annu. Rev. Immunol. 2004. Vol. 22. P. 683–709.
21. Csiszar A., Ungravi Z. Sinergistic effects of vascular IL-17 and TNF- α may promote coronary artery disease // Med. Hypotheses. 2004. Vol. 63. P. 696–698.
22. Cui M. Z., Penn M. S., Chisolm G. M. Native and oxidized low density lipoprotein induction of tissue factor gene expression in smooth muscle cells is mediated by both Egr-1 and Spt // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. P. 32795–32802.
23. Edfeldt K., Swedeborg J., Hansson G.K., Yan Z-Q. Expression of toll-like receptors in human atherosclerotic lesions: a possible pathway for plaque activation // Circulation. 2002. Vol. 105. P. 1158–1161.
24. Elhage R., Courdy P., Brouchet L. et al. Deleting TCR $\alpha\beta$ or CD4+ T cells leads to opposite effects on site-specific atherosclerosis in famalt ApoE^{-/-} deficient mice // Am. J. Pathol. 2004. Vol. 165. P. 2013–2018.
25. Faure E., Thomas L., Xu H. et al. Bacterial lipopolysaccharide and IFN- γ induce Toll-like receptor 2 and Toll-like Receptor 4 expression in human endothelial cells: role NF- κ B activation // J. Immunol. 2001. Vol. 166. P. 2018–2024.

26. Fong L.G., Albert T.S., Hom S.E. Inhibition of the macrophages-induced oxidation of LDL by interferon-gamma // *J. Lipid. Res.* 1994. Vol. 35. P. 893–904.
27. Fredrikson G.K., Hedblad B., Berglund G. et al. Identification of immune responses against aldehyde-modified peptide sequences in apo B-100 associated with cardiovascular disease // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003. Vol. 23. P. 872–878.
28. Fredrikson G.K., Andersson L., Soderberg I. et al. Atheroprotective immunization with MDA-modified apoB-100 peptide sequences is associated with activation of Th2 specific antibody expression // *Autoimmunity.* 2005. Vol. 38. P. 171–179.
29. Fredrikson G.K., Hedblad B., Berglund G. et al. Association between IgM against an aldehyde-modified peptide in Apolipoprotein B-100 and progression of carotid disease // *Stroke.* 2007. Vol. 38. P. 1495–1500.
30. Fredrikson G. K., Bjorkhacker H., Soderberg I. Treatment with apoB peptide vaccines inhibits atherosclerosis in human apoB-100 transgenic mice without inducing an increase in peptide-specific antibodies // *J. Intern. Med.* 2008. Vol. 10. P. 1–8.
31. Frostegard J., Ulfgren A. K., Nyberg P. et al. Cytokine expression in advanced human atherosclerotic plaques: dominance of pro-inflammatory (Th1) and macrophage-stimulating cytokines // *Atherosclerosis.* 1999. Vol. 145. P. 33–43.
32. Gejrgje J., Afek A., Gilburd B. Hyperimmunization of ApoE deficient mice with homologous malondialdehyd low-density lipoprotein suppresses early atherogenesis // *Atherosclerosis.* 1998. Vol. 138. P. 147–152.
33. George J. et al. Supression of early atherosclerosis in LDL-receptor deficient mice by oral tolerance with β 2-glycoprotein 1 // *Cardiovasc. Res.* 2004. Vol. 62. P. 603–609.
34. Gong J., Koido S., Calderwood S.K. Cell fusion: from hybridoma to dendritic cell-based vaccine // *Expert. Rev. Vaccines.* 2008. Vol. 7. P. 1055–1068.
35. Hansson G. K. Vaccination against atherosclerosis. Science of fiction? // *Circulation.* 2002. Vol. 106. P. 337–356.
36. Hansson G. K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary disease // *N. Engl. J. Med.* 2005. Vol. 352. P. 1685–1695.
37. Hansson G. K. Atherosclerosis – an immune disease. The Anitschkov lecture 2007 // *Atherosclerosis.* 2009. Vol. 202. P. 2–10.
38. Hansson G. K., Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword // *Nature Rev. Immunol.* 2006. Vol. 6. P. 508–519.
39. Harats D., Yacov N., Gilburn B. Oral tolerance with heat shock protein-65 attenuates Mycobacterium tuberculosis-induced and high-fat-diet-driven atherosclerotic lesions // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2002. Vol. 40. P. 1333–1338.
40. Hashmi S., Zeng Q. T. Role of interleukin-17 and interleukin-17 – induced cytokines interleukin-6, interleukin-8 in unstable coronary artery disease // *Artery Dis.* 2006. Vol. 17. P. 699–706.
41. Hauer A. D., Uyttenhove C., de Vos P. et al. Blocade of interleukin-12 function by protein vaccination attenuates atherosclerosis // *Circulation.* 2005. Vol. 112. P. 1054–1062.
42. Hendersen E. L. et al. Death of smooth muscle cells and expression of mediators of apoptosis by T cells in aorta aneurysms // *Circulation.* 1999. Vol. 99. P. 96–104.
43. Horkko S., Miller E. et al. Immunization of LDL receptor-deficient mice with homologous malondialdehyde-modified and native LDL reduces progression of atherosclerosis by mechanisms other than induction of high titers of antibodies to oxidative neopeptides // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998. Vol. 18. P. 1972–1982.
44. Horkko S., Binder C. J., Shaw P. X. et al. Immunological responses to oxidized LDL // *Free Radic. Biol. Med.* 2000. Vol. 28. P. 1771–1779.
45. Huber S.A., Sakkinen P., David C., Chen C., Tracy R.P. T helper cells phenotype regulates atherosclerosis in mice under conditions of mild hypercholesterjlemlia // *Circulation.* 2001. Vol. 103. P. 2610–2616.
46. Imura A., Hori T., Ishikawa T. et al. The human OX40/gp34 system directly mediates adhesion of activated T cells to vascular endothelial cells // *J. Exp. Med.* 1996. Vol. 183. P. 2185–2195.
47. Ito T., Wang Y. H., Duramad O. et al. OX40 ligand shuts down IL-10-producing regulatory T cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. Vol. 103. P. 13138–13143.
48. Kolls J.K., Linden A. Interleukin-17 family members and inflammation // *Immunity.* 2004. Vol. 21. P. 467–476.
49. Li H., Sun B. Toll-like receptor 4 in atherosclerosis // *J. Cell. Mol. Med.* 2007. Vol. 11. P. 88–95.
50. Libby P. Inflammation in atherosclerosis // *Nature.* 2002. Vol. 420. P. 868–874.
51. Liu-Wu Y., Hurt-Camejo E., Wiklund O. Lysophosphatidylcholine induces the production of IL-1 beta by human monocytes // *Atherosclerosis.* 1998. Vol. 137. P. 351–357.
52. Lotze M.T., Thomson A.W. Dendritic cells: Biology and Clinical Applications. 2nd edition. San Diego, CA: Academic Press, 2001.
53. Lutgens E., Cleutjens K. B., Heeneman S. et al. Both early and delayed anti-CD40L antibody treatment induces a stable plaque phenotype // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. Vol. 97. P. 7464–7469.
54. Madan M. and Amar S. Toll-like receptor-2 mediates diet and/or pathogen associated atherosclerosis: proteomic findings // *Plos. One.* 2008. Vol. 3. P. 1–12.
55. Mallat Z. et al. Protective role of IL-10 in atherosclerosis // *Circ. Res.* 1999. Vol. 85. P. 17–24.
56. Mallat Z., Gojova A., Brun V. et al. Induction of a regulatory T-cell type 1 response reduces the development

- of atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice // 2003. Vol. 108. P. 1232–1237.
57. Malmstrom V., Shiplon D., Singh B. CD134L expression on dendritic cells in the mesenteric lymph nodes drives colitis in T cell-restored SCID mice // *J. Immunol.* 2001. Vol. 166. P. 6972–6981.
 58. Mangan M.E., Flierman L.M., van Duivenvoord H.J. et al. Effective treatment of collagen-induced arthritis by adoptive transfer of CD25+ regulatory T cells // *Arthritis. Rheum.* 2005. Vol. 52. P. 2212–2221.
 59. Maron R., Sukhova G., Faria A.M. et al. Mucosal administration of heat shock protein-65 decreases atherosclerosis and inflammation in aorta arch of low-density lipoprotein receptor-deficient mice // *Circulation.* 2002. Vol. 106. P. 1708–1715.
 60. McLaren J.E., Ramji D. Interferon gamma : a master regulator of atherosclerosis // *Cytokine & Growth factor reviews.* 2009. Vol. 20. P. 125–135.
 61. Medhitov R. Toll-like receptors and innate immunity // *Nat. Rev. Immunol.* 2006. Vol. 1. P. 135–145.
 62. Melief C. J. Cancer immunotherapy by dendritic cells // *Immunity.* 2008. Vol. 29. P. 372–383.
 63. Methe H., Brunner S., Wiegand D. Enhanced T-helper-1 lymphocyte activation patterns in acute coronary syndromes // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005. Vol. 45. P. 1939–1945.
 64. Moore K.J., Freeman M.W. Scavenger receptors in atherosclerosis: beyond lipid uptake // *Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.* 2006. Vol. 26. P. 208–222.
 65. Nilsson J., Hansson J. K., Shah P. K. Immunomodulation of atherosclerosis. Implications for vaccine development // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2005. Vol. 25. P. 18–28.
 66. Okabe T., Kishimoto C., Shimada K. et al. Effects of late administration of immunoglobulin on experimental atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice // *Exp. Invest.* 2005. Vol. 69. P. 1543–1546.
 67. Palinski W., Miller E., Witztum J.L. Immunization of low density lipoprotein (LDL) receptor-deficient rabbits with homologous malondialdehyde-modified LDL reduces atherogenesis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995. Vol. 92. P. 821–825.
 68. Podrez E.A., Shmitt D., Hoff H.F. et al. Myeloperoxidase-generated nitrogen species convert LDL into an atherogenic form in vitro // *J. Clin. Invest.* 1999. Vol. 103. P. 1547–1560.
 69. Reyes O. S., Chyu K. Y., Yano J. et al. Immunization with a novel human Apo B-100 related peptide reduces atherosclerosis and inflammation in apo E null mice // 2002. Vol. 39 (Suppl. A). S. 240A.
 70. Robertson A.K.L., Rudling M., Zhou X. et al. Disruption of TGF- β signaling in T cells accelerates atherosclerosis // *J. Clin. Invest.* 2003. Vol. 112. P. 1342–1350.
 71. Roselaar S.E., Kakkanathu P.X., Daugherty A. Lymphocyte population in atherosclerosis lesions of ApoE^{-/-} and LDLR^{-/-} mice. Decreasing density with disease progression // *Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.* 1996. Vol. 16. P. 1013–1018.
 72. Roselaar S.E., Daugherty A. ApoE deficient mice have impaired innate response to *Listeria monocytogenes* in vivo // *J. Lipid. Res.* 1999. Vol. 40. P. 680–685.
 73. Sainz J., Sata M. Open Sesame! CXCR4 blockade recruits neutrophils into the plaque // *Circ. Res.* 2008. Vol. 102. P. 154–156.
 74. Sakaguchi S., Ono R., Setoguchi H. Foxp3+ CD25+ CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease // *Immunol. Rev.* 2006. Vol. 212. P. 8–27.
 75. Sasu S., LaVerda D., Qureshi N. Chlamidia pneumonia and Chlamidial heat shock protein 60 stimulate proliferation of human vascular smooth muscle cells via toll-like receptor 4 b p44/42 mitogen-activated protein kinase activation // *Circ. Res.* 2001. Vol. 89. P. 244–250.
 76. Al-Shamkhani A., Birkeland M.L., Puklavec M. et al. CD40 is differentially expressed on activated rat and mouse T cells and is the sole receptor for the OX40 ligand // *Eur. J. Immunol.* 1996. Vol. 26. P. 1695–1699.
 77. Schiopu A., Bengtsson J., Soderberg I. et al. Recombinant human antibodies against aldehyde-modified apolipoprotein B-100 peptide sequences inhibit atherosclerosis // *Circulation.* 2004. Vol. 102. P. 2919–2922.
 78. Schiopu A., Frendeus B., Jansson B. et al. Recombinant antibodies to an oxidized low density lipoprotein epitope induce rapid regression of atherosclerosis in apobec-1^{-/-} low density lipoprotein receptor^{-/-} mice // *J. Am. College Cardiol.* 2008. Vol. 50. P. 2313–2318.
 79. Schonbeck U., Libby P. The CD40/CD154 receptor/ligand dyad // *Cell. Mol. Life. Sci.* 2001. Vol. 58. P. 4–43.
 80. Schoneveld O.N., van M. Laman de K. et al. Toll-like receptor 2 stimulation induces intimal hyperplasia and atherosclerotic lesion development // *Cardiovasc. Res.* 2005. Vol. 66. P. 162–169.
 81. Sjogren P., Fredrikson G.N., Samnegard A. et al. High plasma concentration of autoantibodies against native peptide 210 of apo B-100 are related to less coronary atherosclerosis and lower risk of myocardial infarction // *Eur. Heart J.* 2008. Vol. 29. № 18. P. 2218–2226.
 82. Swirski F.K., Pittet M.J., Kircher M.F. et al. Monocyte accumulation in mouse atherogenesis is progressive and proportional to extent of disease // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006. Vol. 103. P. 1340–1345.
 83. Taleb S., Tegui A., Mallat Z. Regulatory T cell immunity and its relevance to atherosclerosis // *J. Intern. Med.* 2008. Vol. 263. P. 489–499.
 84. Takahara N., Kashiwaga A., Maegawa H. et al. Lipo-phosphatidylcholine stimulated the expression and production of MCP-1 by human vascular endothelial cells // *Metabolism.* 1996. Vol. 45. P. 59–64.

85. Takeda K., Akira S. Microbial recognition by Toll-like receptors // *J. Dermatol. Sci.* 2004. Vol. 34. P. 73–82.
86. Tellides G. Interferon- γ elicits atherosclerosis in the absence of leucocytes // *Nature*. 2000. Vol. 403. P. 207–211.
87. Tornvall P., Waeg G., Nilsson J. et al. Autoantibodies against modified low-density lipoproteins in coronary artery disease // *Atherosclerosis*. 2003. Vol. 167. P. 347–353.
88. Tupin E., Nicoletti A., Eihage R. et al. CD1-dependent activation of NKT cell aggravates atherosclerosis // *J. Exp. Med.* 2004. Vol. 199. P. 417–422.
89. Eva J.A. van Wanrooij, Gijs H.M., van Puijvelde et al. Interruption of the Tnfrsf4/Tnfsf4 (OX40/OX40L0) pathway attenuates atherogenesis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007. Vol. 27. P. 204–210.
90. Weber C., Zernecke A. and Libby P. The multifaceted contribution of leukocyte subset to atherosclerosis: lessons from mouse models // *Nature Rev. Immunol.* 2006. Vol. 8. P. 802–815.
91. Wilson N. J., Boniface K., Chan B.S. et al. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells // *Nat. Immunol.* 2007. Vol. 8. P. 950–957.
92. Xu X.H., Shah P.K., Faure E. et al. TLR-4 is expressed by macrophages in murine and human lipid-rich atherosclerotic plaques and upregulated by oxidized LDL // *Circulation*. 2001. Vol. 104. P. 3103–3108.
93. Zernecke A., Bot I., Djalali-Talab Y. et al. Protective role of CXCR4/CXCL12 unveils the importance of neutrophils in atherosclerosis // *Circ. Res.* 2008. Vol. 102. P. 154–156.
94. Zhou X., Stemme S., Hansson G.K. Evidence for a local immune response in atherosclerosis. CD4+ T cells infiltrate lesions of apolipoprotein E-deficient mice // *Am. J. Pathol.* 1996. Vol. 149. P. 359–366.
95. Zhou X., Nicoletti A., Elhage R., Hansson G.K. Transfer of CD4+ T cells aggravates atherosclerosis in immunodeficient apolipoprotein E knockout mice // *Circulation*. 2000. Vol. 102. P. 2919–2922.