

EXPRESIA IMUNOHISTOCHEMICĂ A MASTOCITELOR ÎN PLACA ATEROSCLEROTICĂ LA PACIENȚII CU SINDROM METABOLIC

Munteanu Andrei – asistent universitar Catedra Morfopatologie USMF "Nicolae Testemițanu",

Zota Ieremia – d.h.ș.m., m.c. AȘM, profesor universitar Catedra Morfopatologie, USMF "Nicolae Testemițanu",

Cociug Adrian – doctorand Catedra Morfopatologie USMF "Nicolae Testemițanu",

Parnov Mihail – asistent universitar Catedra Morfopatologie USMF "Nicolae Testemițanu",

Arnaut Oleg – asistent universitar Catedra Fiziologia Omului

E-mail: amannberg@yandex.ru, tel: +373069315977

Rezumat

În studiul de față ne-am propus să analizăm distribuția histotopografică a mastocitelor și gradul de degranulare a acestora în diverse tipuri de placă, să analizăm pe diferite tipuri de vase arteriale la pacienții cu ateroscleroză și sindrom metabolic agravat cu ateroscleroza. La fel ne-am pus ca scop să analizăm semnificația expresiei mastocitare și legăturile evolutive pentru predicția diagnostică și prognostică. Am inclus în studiu 34 de pacienți decedați în urma aterosclerozei (n=17) și sindromului metabolic cu complicațiile aterosclerotice (n=17), de la care consecutiv au fost prelevate aa. cerebrale, aa. carotide, aa. coronare, aorte (porțiunea abdominală), aa. renale, aa. iliace și aa. vertebrale. Fragmentele prelevate au fost prelucrate după tehnica standard, iar clasificarea morfologică a cazurilor s-a bazat pe tabloul macroscopic și histopatologic ale secțiunilor colorate la Hematoxilina-Eozină și metode histochemice – Impregnare Argentică și Orceină. Expresia mastocitelor a fost detectată imunohistochemic cu MCT (mast cell tryptase) și evaluarea s-a efectuat pe baza scorului de densitate și intensitate, reflectată cantitativ, a produsului final de reacție pe secțiunile plăcilor ateromatoase vasculare. Expresia mastocitelor a fost pozitivă în majoritatea tipurilor de vase mai bine fiind observată la nivel de adventicia regiunii plăcii, în placă și subendotelial în vecinătatea nemijlocită a plăcii. A fost determinată corelația statistică cu tipul de placă și parțial cu datele clinice. Metoda imunohistochemică cu anti-MCT este utilă pentru determinarea mastocitelor în placa aterosclerotică și reflectă direct activitatea enzimatică a proteazelor mastocitare, multe verigi patogenetice importante a aterogenezei la pacienții cu sindromul metabolic.

Cuvinte-cheie: imunohistochemică, mastocite, placa aterosclerotică, sindrom metabolic

Summary. Immunohistochemical expression of mast cells in atherosclerotic plaque in patients with metabolic syndrome

In this study we aimed to analyze the histotopographic distribution and the degree of degranulation of mast cells and their different types of plate, to analyze the different types of blood vessels in patients with atherosclerosis and metabolic syndrome aggravated by atherosclerosis. So we asked to analyze the meaning of the mast cells expression and the evolutionary regularities for diagnostic and prognostic prediction. We included 34 patients who died as a result of atherosclerosis (n=17) and atherosclerotic complications of the metabolic syndrome (n=17), from which were removed the cerebral aa., carotid aa., coronary aa., aorta (abdominal portion), renal aa., iliac aa. and vertebral aa.. Fragments samples were processed by standard techniques and morphological classification of cases was based on macroscopic and histological picture of the hematoxylin-eosin stained sections and histochemical methods – silver impregnation and orcein. Mast cell expression was detected immunohistochemically with MCT (mast cell tryptase) and evaluation was based on density and intensity score reflected quantitatively final reaction product on sections vascular atheromatous plaques. The mast cells expression was positive in most types of vessels better seen in the adventitia of the plate, in the plate and the subendothelial region on the plate. We found a statistical correlation with the type of the plate and partially with clinical data. Immunohistochemical method with anti-MCT is useful for determining mast cells in the atherosclerotic plaque and directly reflects the enzymatic activity of the mast cell proteases, many important pathogenetic links of atherogenesis in patients with metabolic syndrome. The obtained data can be considered a substrate for further scientific research to identify potential early intravital diagnosis and therapeutic targets.

Key words: immunohistochemical expression, mast cells, atherosclerotic plaque, metabolic syndrome

Резюме. Иммуногистохимическая экспрессия мастоцитов в атеросклеротической бляшке у пациентов с метаболическим синдромом

В данном исследовании мы попробовали проанализировать гистотопографическое распределение и степень дегрануляции мастоцитов различных типов бляшек, а так же проанализировать различные типы артериальных сосудов у пациентов с атеросклерозом и метаболическим синдромом, осложненным атеросклерозом. Так же, мы попробовали проанализировать значение мастоцитов, закономерностей развития стадий атеросклероза, наряду с диагностическими и прогностическими особенностями.

В исследование было включено 34 пациентов умерших от атеросклероза ($n = 17$) и атеросклеротических осложнений метаболического синдрома ($n = 17$), у которых при вскрытии были взяты для исследований фрагменты мозговых, сонных, коронарных, аорты (грудной и брюшной частей) почечных, подвздошных и позвоночных артерий. Фрагменты были обработаны с помощью стандартных методик. Определение типа бляшек основывалась на морфологической классификации, а так же основании макроскопической и гистологической картины окрашенных на Г-Э срезов и гистохимических методов – импрегнирование серебром и орсеином. Для определения экспрессии мастоцитов в пораженных сосудах мы использовали иммуногистохимическую окраску анти-МСТ (mast cell tryptase). Оценка результатов была основана на определении плотности и интенсивности окончательной реакции, отраженной в количественном соотношении различных зон атероматозных бляшек. Положительные мастоциты выявлены во многих типах атеросклеротических бляшек, а особенно в адвентиции, так же в непосредственной близости от бляшек и в субэндотелиальных слоях. Мы обнаружили статистическую корреляцию типа бляшки и клинических данных. Иммуногистохимический метод эффективен для определения мастоцитов атеросклеротической бляшки и непосредственно отражает ферментативную активность мастоцитарных протеаз, отражает многие важные патогенетические звенья атерогенеза у больных с метаболическим синдромом.

Ключевые слова: иммуногистохимическая экспрессия, мастоциты, атеросклеротическая бляшка, метаболический синдром

Introducere

Bolile cardiovasculare (BCV) reprezintă cea mai frecventă cauză a morții premature în țările industrializate moderne, reprezentând 4,35 mln. de decese în fiecare an în Europa și, 35% din decesele din Marea Britanie [1]. În pofida progreselor remarcabile realizate în metode clinice de diagnostic și terapie simptomatice dezvoltate, patologia cardiovasculară și anume ateroscleroza cu sindromul metabolic rămân cauza principală a morbidității și mortalității nu numai în Republica Moldova dar și în toată lumea.

Rolul central al inflamației în aterogeneză a obținut o acceptare largă în mai multe cercuri științifice și ne-a obligat să ne reevaluăm concepțiile noastre a tuturor fazelor formării plăcilor aterosclerotice [2]. Trei tipuri de celule inflamatorii - macrofage, celulele T și celulele mastocitare - constituie infiltrate inflamatorii celulare de obicei prezente în evoluția plăcilor aterosclerotice și în substanța adventițială [3, 4]. În răspunsul inflamator complex toate cele trei tipuri de celule inflamatorii devin activate și interacționează concomitent.

Mastocitele provin din celulele măduvei osoase și circulă în sângele periferic, ca precursori mastocitari pentru a fi recrutați și specificați în țesuturi și organe, cum ar fi pulmonii și pielea unde și se maturizează în mastocite. Granulele mastocitare conțin o gamă întregă de mediatori, cum ar fi proteaze neutre, chymaza și triptaza, catepsina G, histamina, heparina, un număr mare de citokine și chemokine, factorul de necroză tumorală α (TNF), interleukinele (IL), factori de creștere a endoteliului vascular (VEGF) și factorul de creștere de bază a fibroblastelor (bFGF) [5].

Localizarea mastocitelor în peretele vascular, în

special perivascular, precum și în intimă, poate sugera un rol major în patogeneza aterosclerozei, în care afectează aceste compartimente, și posibil ar fi, cauza de bază în sindroamele cardiovasculare acute (de exemplu infarct miocardic și accident vascular cerebral B. Анестиади, В. Нагорнев, Е. Зота. [15].

În prezent ateroscleroza este privită ca dereglare metabolică complexă, condusă de procesele inflamatorii progresive cronice. Răspunsul inflamator implică monocite, macrofage, limfocite T, neutrofile și celulele dendritice [6-8]. O caracteristică importantă a celulelor mastocitare este capacitatea lor de a elibera conținutul lor (granule citoplasmice) în spațiul extracelular la stimularea activatorilor, cum ar fi de exemplu Ig E, componente complimentului, precum agenții infecțioși virali și bacterieni. Celulele mastocitare activate secretă cantități mari de molecule chemotactice, activatori inflamatorii și granule solubile. În plus, celulele mastocitare activate nespecific se leagă de lipoproteinele cu densitate joasă (LDL), care pot fi fagocitate de către macrofage pentru a forma celule spumoase, o componentă celulară majoră de leziuni aterosclerotice umane avansate [8]. Astfel, mastocitele prezintă o varietate de funcții care ar putea modula aterogeneză *in vivo* și sunt prezentate în Tabelul 1.

Corelațiile între prezența și activitatea celulelor mastocitare și boli cardiovasculare au determinat, de asemenea, căutări pentru biomarkeri ai mastocitelor în bolile cardiovasculare printre un număr mare de mediatori mastocitari. De exemplu, niveluri de histamină la pacienții cu boală coronariană stabilă și afecțiunile aterosclerotice au fost ridicate în comparație cu grupul de control [9], sugerând că activarea histaminică asociată cu mastocite este un factor de risc

Tabelul 1

Efectele și reacțiile mediatorilor celulelor mastocitare în placa aterosclerotică

<i>Mediatorii</i>	<i>Rolul potențial în ateroscleroza</i>
Citokinele proinflamatoare: IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-18, IFN- γ , TNF- α	<ul style="list-style-type: none"> • chemotaxisul • activarea celulelor endoteliale • recrutarea monocitelor • inducerea exprimării proteazice
Chemokine: MCP-1, IL-8, RANTES, eotaxina, leukotriene	<ul style="list-style-type: none"> • recrutarea monocitelor • induce leucocite și, în special, recrutarea neutrofilelor în placa aterosclerotică • formarea celulelor spumoase
Proteazele: triptaza, chymaza, enzima de conversie a angiotensinei (ACE), carboxipeptidase, catepsina G, Cisteinil catepsina	<ul style="list-style-type: none"> • activarea celulelor endoteliale • scindarea fibrinogenului • generarea angiotensinii II • degradarea lipoproteinelor • remodelarea vasculară/tisulară • activarea proteazei • degradarea matrixului • destabilizarea plăcii • induce apoptoza celulelor endoteliale, celulelor musculare netede vasculare și macrofagelor • induce recrutarea neutrofilelor
Factori hematopoietici: IL-3, GM-CSF	<ul style="list-style-type: none"> • hematopoieza • formarea celulelor spumoase
Factori de creștere	<ul style="list-style-type: none"> • angiogeneza • proliferarea celulară
Histamina	<ul style="list-style-type: none"> • vasodilatarea • activarea celulelor endoteliale • crește permeabilitatea vasculară • sporește incidența crescută a hemoragiilor în placă • potențează apoptoza
Heparina proteoglicani	<ul style="list-style-type: none"> • anti-coagulant, inhibarea agregării plachetare • leagă LDL, sporește formarea celulelor spumoase
Sulfat de condiționa proteoglican	<ul style="list-style-type: none"> • lipoproteine de legare

pentru tulburările aterosclerotice. Într-o serie de studii au fost investigate proteaza și triptaza mastocitară ca predictorii de risc sau biomarkeri, deși în mare parte cu rezultatul negativ. Astfel, valoarea reală a mediatorilor mastocitari ar fi predictor de risc cardiovascular rămâne supusă dezbaterilor. Luate împreună, patologia umană de mai sus și studii epidemiologice demonstrează în mod clar că celulele mastocitare sunt prezente în intima și adventicea arterelor umane și numărul lor crește odată cu progresia bolii. Deși aceste studii au relevat o legătură între mastocitele și factorii derivați, cum ar fi triptaza, chymasa, histamina și factori specifici de creștere și de evenimente cardiovasculare, au lăsat nesoluționate problema de cauzalitate.

Cu progresarea bolii, depozitarea lipidelor și acumularea celulelor imunocompetente sub forma plăcilor aterosclerotice, care au o suprafață netedă, component fibros, conțin celule musculare netede, pot eroda și deveni predispuse la rupere [10]. În etapa finală a bolii are loc eroziunea sau ruptura plăcii,

reprezentând un conținutul extrem de trombogenic (nucleul lipidic, masele necrotice), care vin în contact cu sângele periferic, inițiind astfel a răspuns trombo-coagulant. Tromboza și coagularea va conspira la escaladarea bolii, ceea ce duce la ocluzie arterială ischemică parțială sau totală, de asemenea, în sindroamele cardiovasculare acute [10]. Mastocitele sunt deosebit de abundente în arterele afectate [11-13] și au capacitatea de a elibera o mare varietate de mediatori inflamatorii care activează remodelarea țesuturilor, tot aceste celule ar putea fi inițitoare de reacții pro-inflamatorii, care culminează în sindroame cardiovasculare acute. Această noțiune se bazează pe o serie de studii *in vitro* și patologia umană, dar dovada directă experimentală pentru un rol de importanță majoră a mastocitelor în bolile cardiovasculare mult timp a lipsit. Recent, o serie de studii *in vivo* de către diferite grupuri de savanți au oferit mai multe dovezi convingătoare pentru un astfel de rol.

Mastocitele au fost redescoperite în plăcile ate-

rosclerotice umane la începutul anilor 1990, folosind tehnici moderne de biologia celulelor mastocitare, cărora au fost alocate rol deosebit de important în stadiile incipiente și tardive ale dezvoltării de plăci aterosclerotice și a complicațiilor lor clinice [1,3].

Aproximativ 50% din greutatea unei celule mastocitare mature este formată din diferite proteaze neutre stocate în granulele secretorii citoplasmice celulare [4,14]. Ca o sursă locală majoră de proteaze serice extracelulare neutre, celulele mastocitare au câștigat o poziție unică printre celulele inflamatorii prezente în leziunile aterosclerotice.

Acest studiu este dedicat rolului potențial al celulelor mastocitare activate în stadiile tardive ale aterosclerozei atunci când plăcile aterosclerotice devin instabile erodate și boala se manifestă clinic. Am încercat să analizăm și să rezumăm cunoștințele actuale cu privire la contribuția celulelor mastocitare ateroscleroza și sindroame acute cardiovasculare, obținute din studiile pe pacienții decedați de la complicații aterosclerotice în combinație cu sindromul metabolic.

Material și metode

Au fost selecționate 34 de pacienți cu vârsta cuprinsă între 44 și 88 de ani, 14 femei și 20 bărbați, decedați în urma aterosclerozei și complicațiilor acestei (n=17) și sindromului metabolic cu complicațiile aterosclerotice (n=17), de la care consecutiv au fost prelevate aa. cerebrale, aa. carotide, aa. coronare, aorte (din porțiunea toracică și cea abdominală), aa. renale, aa. iliace și aa. vertebrale.

Pentru toate au fost disponibile datele clinice din fișele de observație (date generale, toate analizele efectuate în staționar în timpul vieții la acești pacienți).

Biopsiile vasculare prelevate, în timpul necropsiilor, din fiecare regiune anatomică respectivă, au fost fixate în formalina tamponată, și incluzionate în parafină, după tehnica histologică uzuală. În fiecare caz și bloc la parafină au fost efectuate secțiuni multiple de 5 micrometri, care au fost colorate cu hematoxilină-eozină pentru diagnosticul histopatologic și aprecierea stadiului microscopic și tipului plăcii aterosclerotice conform clasificării propuse de OMS.

Secțiunile adiționale din blocuri la parafină reprezentative au fost procesate pentru tehnica imunohis-

tochimică. Rezumând, secțiunile au fost deparafinate și hidratate, iar apoi au fost supuse la demascarea antigenului în modulul PT Link (DakoCytomation, Danemarca). Secțiunile au fost incubate cu anticorpul primar, s-a utilizat sistem de detecție NovoLink Max Polymer Detection System și vizualizarea produsului final de reacție s-a realizat cu 3,3 diaminobenzidină dihidroclorid ca cromogen în brun. Detaliile asupra anticorpului primar utilizat, clonei, sursei, timpului de incubare și sistemului de detecție sunt redată în Tabelul 2.

Întreaga procedură imunohistochimică a fost realizată în sistem automat, cu aparatul DakoAutostainer Plus (DakoCytomation, Danemarca).

Examinarea preparatelor s-a efectuat cu ajutorul microscopului Nikon Eclipse E 600 (Nikon, Japonia) și soft-ului pentru analiza computerizată a imaginilor microscopice Lucia G (Nikon, Japonia). Procedeele ICH au fost realizate în Centru Cercetări în Angiogeneza Timișoara, România.

Evaluarea rezultatelor. Pentru a realiza corespondența dintre expresia celulelor mastocitare, localizarea histotopografică și tipurile histopatologice ale plăcilor aterosclerotice am aplicat inițial clasificarea patologică convențională, conform normativelor OMS. Pentru evaluarea reacțiilor pozitive am utilizat un scor bazat pe numărul de celule mastocitare pozitive, după cum urmează: negativ (notat cu 0); slab pozitiv cu sub 10% celule pozitive (+1); moderat pozitive, cu 11-50% celule mastocitare pozitive (+2) și intens pozitive, cu peste 50% celule pozitive (+3). Intensitatea produsului final nu a fost luată în considerație, pentru că toate celulele colorate au demonstrat reacție intensă, chiar dacă au fost reduse numeric și izolate. Numărul de celule mastocitare a fost apreciat de către doi observatori concomitent, folosind metoda mediei aritmetice de celule pozitive în compartimentele interesate, pe trei câmpuri de vedere (cu condiția că au fost prezente) la sistemul sus-menționat.

Analiza statistică a fost efectuată cu soft-ul disponibil comercial Microsoft Office 2013 (Microsoft Excel Worksheet) și teste de corelație de tip Sperman. S-a considerat corelație statistic semnificativă pentru valori ale $p < 0,05$. Au fost testate corelațiile dintre expresia mastocitară cu tipurile histopatologice ale plă-

Tabelul 2

Sistemul ICH de detecție a mastocitelor

Anticorp	Sursa	Clona	Diluție	Sistem de detecție	Demascare antigen	Incubare cu anticorp primar
Triptaza mastocitară	NeoMarkers, Fremont, CA	Mouse Monoclonal Antibody, clona AA1)	RTU	NovoLink Max-Polymer Detection System	Microunde, 30 minute, pH 6	30 minute, temperatura camerei

cilor aterosclerotice, redistribuirea histotopografică în plăci ale diverselor tipuri de vase și elemente clinice cu referințe la datele de laborator.

Rezultate

Evaluarea histopatologică a relevat existența a trei tipuri de leziuni aterosclerotice în ambele loturi studiate: leziune intermediară; placă fibroasă; placă fibroasă calcinată în toate vasele cercetate, care au fost colorate cu hematoxilină-eozină, ORC și IA: diagnosticul histopatologic de rutină cu aprecierea stadiului microscopic al plăcii și tipului histopatologic al acestora sunt reflectate în Tabelul 3.

Produsul final al reacției imunohistochemice pentru anti-MCT a fost intens colorat cu model citoplasmatic granular, restricționat în celulele mastocitare (o parte din acestea fiind în stare de degranulație). Aprecierea scorului la aspectul reacției imunohistochemice în corelație histotopografică și tip de arteră studiată este demonstrat în diagrama 1.

Discuții și concluzii

În studiul prezent am demonstrat pentru prima dată existența unei expresii diferențiate a anti-MCT în diverse tipuri de leziuni aterosclerotice și tipuri de

vase arteriale afectate în corelație cu localizarea histotopografică. Date obținute încă o dată ne confirmă teoriile de dezvoltare a mecanismelor patogenetice ce stau la baza proceselor aterogenezei. Necâtând la aceste afirmații, până la momentul actual sunt multe probleme științifico-clinice nerezolvate.

O paralelă pentru comparație poate servi expresia mastocitelor în procesele tumorale și în procesele de formare a plăcilor aterosclerotice (doar atunci când se discută mecanismele generale, funcțiile și lanțurile patogenetice în care sunt implicate mastocitele).

Markerul anti-MCT este selectiv pentru mastocite, care face parte din componentul procesului imun ce are loc în inițierea, proliferarea și diferențierea celulară în leziunile aterosclerotice. Pe lângă limfocitele T și macrofage, leziunile aterosclerotice de asemenea conțin alte celule imune efectoare, deși macrofagele și limfocitele predomină asupra celulelor mastocitare, se poate efectua în continuare o funcție importantă în procesele de activare în dezvoltarea plăcii aterosclerotice în diferite vase, explicat prin producerea proteazelor în cantități mai mari, inclusiv cele care nu sunt produse de macrofage, și pot provoca acumula-

Tabelul 3

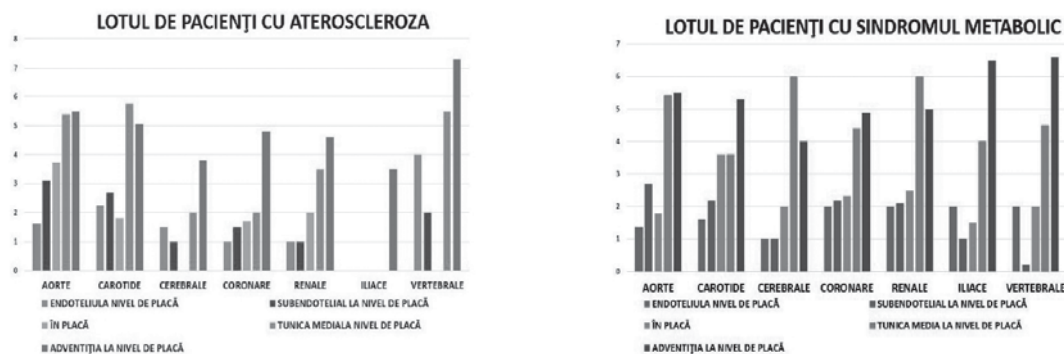
Reprezentarea cantitativă a tipurilor histopatologice ale plăcilor aterosclerotice

	Tip leziune/ vas arterial	aa. cerebrale	aa. carotide	aorte	aa. coronare	aa. renale	aa. iliace	aa. vertebrale	Total Tip placă
Lotul 1 (ateroscleroza)	LI	5	2	0	5	5	2	0	19
	PF	9	7	7	7	7	10	4	51
	PFC	3	8	10	5	5	5	1	36
Lotul 2 (sindromul metabolic)	LI	2	0	0	2	2	0	0	6
	PF	10	10	11	13	13	10	12	79
	PFC	5	7	6	2	2	7	0	29
Total	LI	7	2	0	7	7	2	0	25
	PF	19	17	18	20	20	20	16	130
	PFC	8	15	16	7	7	12	1	66

LI – leziune intermediară; PF – placă fibroasă; PFC – placă fibroasă calcinată.

Diagrama 1

Expresia histotopografică a mastocitelor în plăcile aterosclerotice a diverselor tipuri de artere



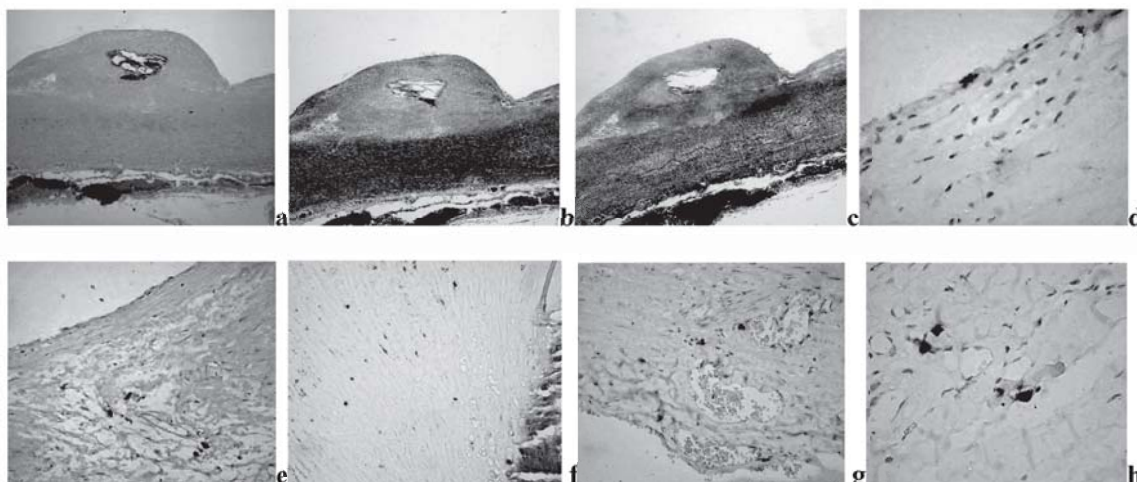


Fig. 1. Placa aterosclerotică (fibroasă calcinată) în aortă. Colorație H.-E. (a); Orceină (b); Impregnare Argentică (c); celula mastocitară la nivel de endotelii pozitivă la anti-MCT (d); mastocite pozitive la anti-MCT în stratul subendotelial (e); mastocite pozitive la anti-MCT în jurul zonei de calcinoză (f); mastocite pozitive la anti-MCT adiacent vaselor adventițiale în regiunea plăcii (g) și la distanță de la ea (h). Mărire originală x100 și x 400

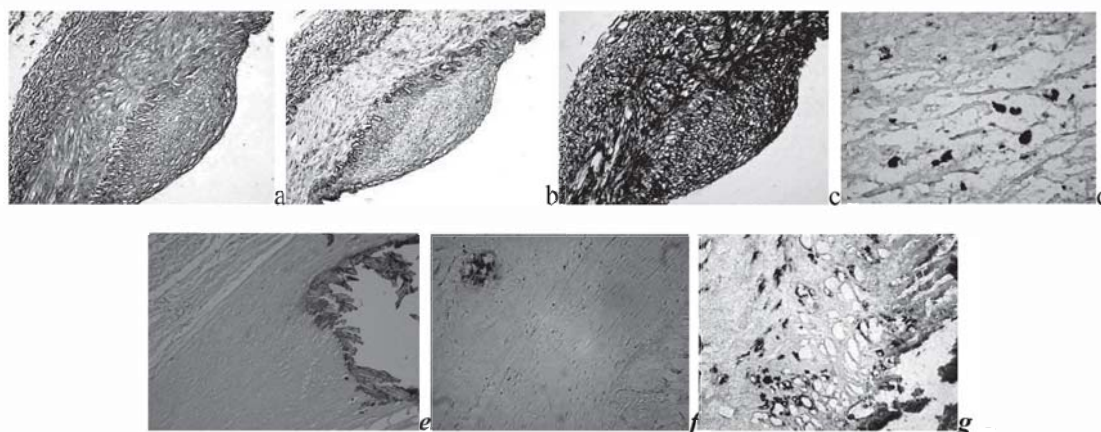


Fig. 2. Placa aterosclerotică fibroasă și calcinată a carotidelor. Colorație H.-E. (a); Orceină (b); Impregnare Argentică (c); mastocite în placă fibroasă pozitive la anti-MCT(d); focar calcinat în artera carotidă (e); mastocit degranulat pozitiv la anti-MCT în vecinătate cu zona de calcinoză (f); mastocite pozitive la anti-MCT adiacent zonei de calcinoză în regiunea plăcii (g). Mărire originală x100 și x 400

rea lor în zonele de necroza plăcii. Factori produși de către mastocite, pot contribui la distrugerea matricei extracelulare, cu implicarea de celule inflamatorii și provocă modificarea ulterioară al LDL. Majoritatea dominantă a vaselor cercetate au fost pozitive la anti-MCT la nivel de intimă în regiunea plăcii aterosclerotice, în placa fibroasă și calcinată, în tunica medie în vecinătatea nemijlocită de placă adventice și anume vasa vasorum. Celulele musculare netede (CMN), celule endoteliale (CE), macrofage, limfocite și sunt, probabil, principalele tipuri de celule implicate în aterogeneză și evoluția plăcii aterosclerotice la pacienții cu ateroscleroza și SM. Mastocitele reglementează comportamentul de CMN, cel mai probabil prin intermediul mediatorilor lor secretați. Colagenul derivat de CMN poate ajuta la prevenirea rupturii de

plăcii ateromatoase și fibroase. Cu toate acestea, chymaza mastocitară inhibă proliferarea CMN și sinteza de colagen, reducând astfel stabilitatea plăcii. În plus, chymaza poate induce degradarea kinazei focal aderente și fibronectinei, care sunt mediatori de supraviețuire și aderență ale CMN. Lansarea citokinelor pro-inflamatorii mastocitare, cum ar fi TNF- α induce expresie de protează a CMN. Mastocitele TNF- α -pozitive, MMP-cisteina sau proteaza cathepsin-pozitivă a CMN împreună cu macrofagele, sugerează un rol de reglementare a mediatorilor mastocitari în expresia proteazelor și activare a CMN în zona rupturilor a plăcii aterosclerotice umane. Localizarea mastocitelor în peretele vascular, în special perivascular, precum și în intimă, poate sugera un rol major în patogeneza aterosclerozei, în care afectează aceste compartimente,

și posibil ar fi, cauza de bază în sindroamele cardiovascular acute (de exemplu infarct miocardic și accident vascular cerebral). În prezent ateroscleroza este privită ca dereglare metabolică complexă, condusă de procesele inflamatorii progresive cronice. Răspunsul inflamator implică monocite, macrofage, limfocite T, neutrofile și celule dendritice. Cu progresarea bolii continuă depozitarea lipidelor și acumularea celulelor imunocompetente sub forma plăcilor aterosclerotice, care au o suprafață netedă, component fibros, conțin celule musculare netede, pot eroda și deveni predispușe la rupere. În etapa finală a bolii are loc eroziunea sau ruptura plăcii, reprezentând un conținutul extrem de trombogenic (nucleul lipidic, masele necrotice), care vin în contact cu sângele periferic, inițiind astfel un răspuns trombo-coagulant. Tromboza și coagularea va conspira la escaladarea bolii, ceea ce duce la ocluzie arterială ischemică parțială sau totală, de asemenea, la diverse sindroame cardiovasculare acute. Mastocitele sunt deosebit de abundente în arterele afectate și au capacitatea de a elibera o mare varietate de mediatori inflamatorii care activează remodelarea țesuturilor, tot aceste celule ar putea fi inițiatoare de reacții pro-inflamatorii, care culminează în sindroame cardiovasculare acute. Interpretarea și vitalitatea (stabilitatea și instabilitatea) plăcii aterosclerotice în mare măsură este dependentă de procesul angiogenezei a plăcii aterosclerotice. Rezultatele noastre arată ca metoda imunohistochimică comparativă, cu aplicarea markerului mastocitar specific, ne demonstrează aspecte patogenetice importante în formarea plăcii aterosclerotice. Mastocitele și macrofagele, împreună cu alte celule imunocompetente au un rol important în evoluția dezvoltării plăcii aterosclerotice și nu în ultimul rând în procesul de angiogeneză. Angiogeneză vaselor plăcii aterosclerotice, vaselor adventițiale și intimei și, sugerează existența unor diferențe semnificative în dezvoltarea patologică a aterosclerozei în paturi vasculare separate, care pot avea consecințe importante, atunci când se analizează managementul, diagnosticul și tratamentul actual și de perspectiva a acestor boli.

Bibliografie

1. George S.G., and Lion C. *Pathogenesis of Atherosclerosis*. Atherosclerosis. Molecular and Cellular Mechanisms. 2010: 2670.
2. Hansson G.K., Libby P. *The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword*. Nat. Rev. Immunol. 2006; 6, 508-519.
3. Hansson G.K. *Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease*. N. Engl. J. Med. 2005; 352, 1685-1695.
4. Kovanen P.T. *Mast cells – multipotent local effector cells in atherothrombosis*. Immunol. Rev. 2007; 217, 105-122.
5. Kaartinen M., van der Wal A.C., van der Loos C.M., Piek J.J., Koch K.T., Becker A.E., Kovanen P.T. *Mast cell infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture*. J Am Coll Cardiol. 1998; 32: 606-612.
6. Laine P., Kaartinen M., Penttila A., Panula P., Paavonen T., Kovanen P.T. *Association between myocardial infarction and the mast cells in the adventitia of the infarct-related coronary artery*. Circulation. 1999; 99: 361-369.
7. Kovanen P.T., Kaartinen M., Paavonen T. *Infiltrates of activated mast cells at the site of coronary atheromatous erosion or rupture in myocardial infarction*. Circulation. 1995; 92: 1084-1088.
8. Metzler B., Xu Q. *The role of mast cells in atherosclerosis*. Int Arch Allergy Immunol. 1997; 114: 10-14.
9. Moller A., Lippert U., Lessmann D., Kolde G., Hamann K., Welker P., Schadendorf D., Rosenbach T., Luger T., Czarnetzki B.M. *Human mast cells produce IL-8*. J Immunol. 1993; 151: 3261-3266.
10. Saarinen J., Kalkkinen N., Welgus H.G., Kovanen P.T. *Activation of human interstitial procollagenase through direct cleavage of the Leu83-Thr84 bond by mast cell chymase*. J Biol Chem. 1994; 269: 18134-18140.
11. Wang Y., Shiota N., Leskinen M.J., Lindstedt K.A., Kovanen P.T. *Mast cell chymase inhibits smooth muscle cell growth and collagen expression in vitro: transforming growth factor-beta1-dependent and -independent effects*. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2001; 21: 1928-1933.
12. Mizutani H., Schechter N., Lazarus G., Black R.A., Kupper T.S. *Rapid and specific conversion of precursor interleukin 1 beta (IL-1 beta) to an active IL-1 species by human mast cell chymase*. J Exp Med. 1991; 174: 821-825.
13. Kido H., Nakano A., Okishima N., Wakabayashi H., Kishi F., Nakaya Y., Yoshizumi M., Tamaki T. *Human chymase, an enzyme for novel bioactive 31-amino acid length endothelins*. Biol Chem. 1998; 379: 885-891.
14. Stevens R.L. and Adachi R. *Protease – proteoglycan complexes of mouse and human mast cells and importance of their beta - tryptase - heparin) complexes in inflammation and innate immunity*. Immunol. Rev. 2007; 217:155–167.
15. В. Анестиади, В. Нагорнев, Е. Зота. *Воспаление как причина различных форм деструкции атеросклеротических бляшек*. Патоморфоз атеросклероза (иммуноаспекты). 2010: 373.