

A HŐSOKKFEHÉRJÉK IMMUNOLÓGIAI TULAJDONSÁGAI ÉS SZEREPÜK AZ ÉRELMESZESEDÉS KELETKEZÉSÉBEN

Füst György

az orvostudomány doktora – fustge@kut.sote.hu

Prohászka Zoltán PhD, Cervenak László

Semmelweis Egyetem, ÁOK. III. Belgyógyászati Klinika
és MTA-SE Anyagcsere és Atherosclerosis Kutatócsoport

A hősokkfehérjék (angol nevének rövidítése szerint hsp) a sejtek legfontosabb fehérjéi közé tartoznak, elengedhetetlen szerepet játszanak a sejtek életében normál körülmények között, és akkor is, amikor a sejteket (vagy az egész szervezetet) ártalom, stressz éri. Nevüket onnan kapták, hogy amikor a sejteket néhány fokkal felmelegítjük ahhoz a hőfokhoz képest, amelyen a kémcsőben tenyészjük őket, akkor e fehérjék termelődése jelentős mértékben megnő. Természetesen ugyanez a folyamat játszódik le akkor is, ha az egész szervezet hőmérsékletét növeljük meg a fiziológiához képest. A hősokkfehérjék produkciója megnövekszik akkor is, ha a sejteket más stresszhatás éri, például elvonjuk tőlük az oxigén egy részét, illetve visszaadjuk ezt, ha kevesebb cukrot kap a sejt, ha szervezetet fertőzés éri, és ezáltal a sejtek érintkezésbe kerülnek a baktériumok egyes alkatrészeivel – az ún. endotoxinokkal, vagy az infekció hatására meginduló immunválasz során keletkező egyes kis molekulatömegű fehérjék vagy polipeptidek (citokinek, komplement fragmentumok, akut fázis fehérjék) kerülnek a sejtrel érintkezésbe. A stresszre adott válaszban játszott általános jelentőségükre való tekintettel a hő-

sokkfehérjéket igen gyakran stresszfehérjéknek is nevezik. A hősokkfehérjék egyik legfontosabb jellemzője konzervatív természetük, tehát az, hogy az evolúció során szerkezetük csak részben változik, a bakteriális és az emberi hősokkfehérjék között 50 %-ot is meghaladja a szerkezeti egyezés. Azonban – mint később látni fogjuk – az evolúció során bekövetkező változások nem hanyagolhatók el, és jelentős mértékben befolyásolják a hősokkfehérjék immunológiai sajátosságait is.

Mindaz, amit a hősokkfehérjéről tudni érdemes

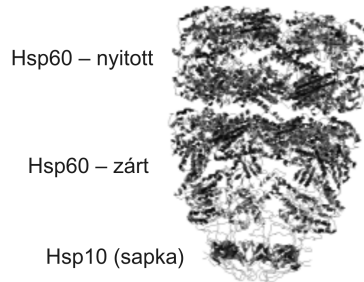
– megtalálható Csermely Péter (2001) a közelmúltban megjelent *Stresszfehérjék* című könyvében. Az igen magas színvonalon, ugyanakkor közérthetően és szórakoztatóan megírt könyvet minden érdeklődő olvasónak melegen ajánljuk. Jelen dolgozatban csak röviden foglaljuk össze a hősokkfehérjék általános tulajdonságaival és élettani szerepével kapcsolatos tudnivalókat, a közleményben elsősorban a hősokkfehérjék immunológiájával és munkacsoportunk ezzel kapcsolatban elért eredményeivel foglalkozunk.

Milyen szerepet játszanak a hőszokkfehérjék a sejtek belsejében?

A hőszokkfehérjék sok népszerű, a működésüket személetesen tenni törekvő nevet kaptak a tudományos irodalomban. Ezek egyike a nemzetközileg elterjedt *chaperone* elnevezés (azzal a megszorítással, hogy vannak olyan *chaperone*-ok is, amelyek nem tartoznak a hőszokkfehérjék közé). A francia eredetű *chaperoneszó* (érdekes módon ezt még az angolok is az eredeti francia kiejtés szerint „saperon”-nak és nem „cseperon”-nak ejtik) kísérőt, *gardedame*-ot jelent, tehát egy olyan személyt, akinek jelenléte elengedhetetlen volt ahhoz, hogy egy jobb társaságba tartozó fiatal hölgy nyilvános helyen (bálban, színházban, operában) mutatkozzék. A hőszokkfehérjék valóban szoros közelségben kísérik el a sejt fehérjéit, szerepük azonban ennél sokkal fontosabb és bonyolultabb. Élettani körülmények között a hőszokkfehérjéknek a születő fehérjék csavardásában van a legnagyobb jelentőségük. Az emberi és állati sejtekben a riboszómákon születő (tehát az RNS-ről az ez által meghatározott aminosav sorrendben összeépülő) proteinek segítséget igényelnek ahhoz, hogy elnyerjék végső, a működésükhöz feltétlenül szükséges szerkezetüket. Ez csavardás vagy más néven tekeredés útján következik be. A hőszokkfehérjék egy másik, gyakran használt neve ezért a dajkafehérje. A hőszokkfehérjék elősegítik és meggyorsítják ezt a folyamatot. Ennél talán még fontosabb funkció az, hogy a normál körülmények között vagy különösen a sejtet ért ártalom hatására „elromlott” szerkezetű (tehát részben kitekeredett és visszatekerendő) proteinek segítsék abban, hogy eredeti struktúrájukat visszanyerjék. Ennek különböző mechanizmusai lehetnek; legérdekesebb példáját a hőszokkfehérjék 60 kD körüli molekulatömegű családjába tartozó proteinek esetében látjuk. (A hőszokkfehérjék leggyakrabban

használt felosztása molekulatömegük alapján történik, a legfontosabb családok a kis-méretű hőszokkfehérjék, a kb. 60 kilodalton molekulatömegű hőszokkfehérjék (hsp60, a hsp70, a hsp90 és a hsp100).

A hsp60 szerkezete igen érdekes: két talpával egymáshoz illeszkedő pohárhoz hasonlítható. (1. ábra)



1. ábra • A 60 kD molekulatömegű humán hőszokkfehérje szerkezetének vázlatos ábrázolása

A poharakhoz fedő vagy sapka is tartozik, ezt egy másik hőszokkfehérje, a hsp10 alkotja. Az „elromlott” fehérje a pohár belsejébe kerül bele, a sapka rázáródik, majd a hsp60 a fehérjék szálainak húzogatása, cincálása útján (a részletek Csermely Péter könyvében megtalálhatók) eléri, hogy helyreálljon a fehérje eredeti, gombolyagszerű, a működéséhez elengedhetetlen szerkezete. Ezután (bonyolult energetikai folyamatok útján) a sapka lekerül a pohárról, a kész, „meggyógyított” fehérjét a hsp60 innen kilöki, majd a másik pohár kerül használatba stb. Mivel stressz hatására a sejten belül igen sok fehérje szerkezete bomlik fel, érhető, hogy a gyógyító fehérjék sejten belüli koncentrációja az ezt követő néhány percen belül a sokszorosára nő meg.

A hőszokkfehérjéknek vagy stresszfehérjéknek a fent leírtakon kívül még számos fontos feladatuk van a sejtek belsejében. Így hálózatuk rendet teremt a citoplazmán belül, részt vesznek a jelátviteli folyamatokban, tehát azokban a folyamatokban, amelyek

során a sejtmembránon kihelyezett vagy esetleg a sejt belsejében található jelfogót, receptort érő ingerek hatására megindul vagy megváltozik egyes mRNS-ek, majd fehérjék szintézise. A hősokkfehérjéknek szerepük van a sejtmembránon keletkező sérülések „befoltozásában”, a selejtes, már nem javítható fehérjék lebontásában, és abban a végső – apoptózisnak vagy programozott sejthalálnak nevezett – folyamatban is, amelyeknek az a célja, hogy a sejtnek „szép” vagy inkább nyugodt halála legyen, tehát pusztulása ne váltson ki a környezetet károsító gyulladási reakciókat.

Hogyan kerülhetnek ki a hősokkfehérjék a sejtek belsejéből, hogyan kötődhetnek vissza a sejtekhez, és mi lehet ennek a következménye?

Az újabb vizsgálatok szerint mind a hsp70, mind a hsp60 jelentős mennyiségben megtalálható az egészséges személyek keringésében. Ma még nem ismert a plazmában megtalálható szolúbilis hősokkfehérjék forrása. Egyik sejtípus esetében sem találtak szabályozott hősokkfehérje-szekrécióna utaló jeleket. Egyik lehetséges magyarázat, hogy bizonyos molekuláknak a sejtől való kikerülése, exocitózisa során a tekeredésüket szabályozó dajkafehérjék is passzív módon távoznak a sejtől. Egy másik szerint, szintén passzív hősokkfehérje-felszabadulás történhet, mikor a nekrosis („erőszakos” sejtpusztulás) és kisebb mértékben a programozott sejthalál során elpusztult sejtek belsejéből fehérje molekulák szabadulnak fel. Egy alternatív magyarázat szerint a vérplazmában oldott, szolúbilis hősokkfehérjék jelenléte a keringésben arra utal, hogy a hősokkfehérjék intercelluláris stresszjelző molekulákként működnek (Ranford, 2000). Nemrégiben vetődött fel ez a hipotézis, de mindeztáig hiányoznak a kísérletes bizonyítékok. A szerzők feltételezése szerint az ősi stresszjelző molekulák, a hősokkfehérjék a magasabb rendű szervezetekben visszanyerik ősi funkciójukat,

és szövetről szövetre (vagy szervről szerve) továbbítják a stressz „hírét”. Figyelembe véve, hogy a normál bélflóra baktériumaiból a sejteket állandóan enyhe stresszállapotban tartó endotoxinok kerülnek folyamatosan a keringésbe, ez az elmélet magyarázatul szolgálhat a szolúbilis hősokkfehérjék jelenlétére az egészséges személyek vérében.

Az elmúlt években számtalan bizonyíték gyűlt össze arról, hogy az immunsejtek és egyéb sejtek, köztük az érfalakat bélelő endotel sejtek, receptor közvetítésével felismerik a hősokkfehérjéket, és így a hősokkfehérjék célsejteket aktiválhatnak. Friedland és munkatársai először 1993-ban humán monocita sejteken igazolták, hogy a hsp65-tel (a tuberkulózist okozó baktérium, a *M. tuberculosis* hősokkfehérjéjével) történő stimuláció hatására gyulladáskeltő kis molekulatömegű anyagok (ún. proinflammatorikus citokinek) szabadulnak fel. E vizsgálatokat később mások az emberi hsp60 esetében is megerősítették. A hsp60 fehérjék citokin-szekrécióna kifejtett hatásain túl számos más szerepet is tulajdonítottak a vérbe kerülő hősokkfehérjéknek, mint például az endotel sejtek aktivációját, a csontfelszívódás beindítását és az idegsejtek védelmét.

Az utóbbi évek során derült ki az, hogy bizonyos sejtípusok specifikus felszíni hősokkfehérje-receptorokkal rendelkeznek. Néhány felszíni receptorról, mint például az először a *Drosophila*-ban felfedezett Toll-szerű receptor családról, és az alfa-2-makroglobulin receptorról (CD91) írták le, hogy valószínűleg hősokkfehérje-receptor molekulák. Legújabbán azt is felismerték, hogy a baktériumokból a keringésbe kerülő endotoxinok fő alkotórészei, a lipopoliszacharidok CD14-nek nevezett receptorai is részt vesznek a hsp60 molekulák sejtaktivációs folyamataiban.

Továbbá, a vérplazmában léteznek olyan molekulák, melyek hősokkfehérjék felismerésére képesek. Munkacsoportunk elsőként

tanulmányozta és mutatta ki a hősoikkfehérjék komplementaktiváló képességét. A komplement a vérplazmában jelenlévő enzimrendszerek egyike, amelynek igen fontos szerepe van a fertőzések elleni védekezésben. A hsp70 esetében a klasszikus útvonal jelentős aktivációját figyeltük meg (Prohászka, 2002). Az aktiváció első lépése során az első komplement komponens, a C1q, a hsp70 fehérje N-terminális doménjéhez kötődik. A hsp60 esetében szintén a klasszikus útvonal aktivációját figyeltük meg (Prohászka, 1999), bár ebben az esetben az aktiváció fő szabályozói a specifikus hsp60-ellenes antitestek. A hősoikkfehérjék komplementaktiváló hatásának eredményeképpen igen erős gyulladáskeltő fehérjefragmentumok keletkezhetnek, melyek jelentős szerepet játszhatnak egyes emberi megbetegedések, így például az érelmeszesedés (lásd később) keletkezésében is.

A hősoikkfehérjék antigenitása, a hősoikkfehérjék elleni immunválasz, mint az „immunológiai homunculus” része

A hősoikkfehérjék jelentős szerepet játszanak az immunválasz szabályozásában. Konzervatív természetükből következik, hogy a kórokozók elleni immunreakciók az emberi és állati szervezetben hasonló szerkezetű és az ellenanyagokkal, illetve az immunsejtekkel reagálni képes hősoikkfehérjékkel találkozhatnak. Korábban kizárólag ezzel a keresztreakcióval magyarázták azt a megfigyelést, hogy az egészséges egyének túlnyomó többségének vérében is kimutathatók a hősoikkfehérjék elleni antitestek. Ma már tudjuk, hogy a helyzet nem ilyen egyszerű: az immunológusok többsége elfogadja I. R. Cohen (1992) paradigmáját, amely szerint a szervezet saját, az evolúció során legkevésbé változó és ezért a szervezet működése szempontjából elengedhetetlen alkatrészeivel szemben egy olyan „immunológiai homunculusnak” nevezett védőhálóz-

tot hoz létre, amely megakadályozza a saját sejteket, szöveteket károsító autoimmun kóros folyamatok, betegségek kialakulását. A hősoikkfehérjék is ezek közé az alkotórészek közé tartoznak, ezért az ellenük az

A hősoikkfehérjék számos baktérium immundomináns antigénjei, tehát velük a fertőzés során erős immunológiai reakciót adó antitestek és immunsejtek keletkeznek, amelyeknek jelentős szerepük van a későbbi bakteriális infekciók elleni védekezésben.

A szervezet immunológiai reakciókat fejleszt ki a legfontosabb, és a törzsfajlás során legkonzervatívabb fehérjéivel, így a hősoikkfehérjékkel szemben is. Ezt Cohen nyomán immunológiai homunculusnak nevezzük. A homunculus védi a szervezetet attól, hogy saját immunrendszere támadja meg. Ha meghibásodik, önkárosító folyamatok, ún. autoimmun betegségek lépnek fel.

A hősoikkfehérjék képesek a tumor antigénekből képződő peptidokhoz kapcsolódni, és ezáltal megsokszorozzák a tumorok elleni immunválasz hatékonyságát, ezért szóba jöhetnek, mint a daganat ellen védő oltóanyagok alkotórészei.

A hősoikkfehérjék ellen antitestek és specifikus T-sejtek keletkeznek egészséges egyénekben is, ezek mennyisége változhat (emelkedik, de néha csökken is) egyes betegségekhez vezető kóros folyamatok hatására. A kórokozó mikroorganizmusok jelentős mennyiségben jelenlévő alkotórészei a hősoikkfehérjék. Amikor egy infekció bekövetkezik, a szervezet felismeri a hősoikkfehérjéket, ez a folyamat elősegíti a később bekövetkező bakteriális fertőzések leküzdését.

1. táblázat • A hősoikkfehérjék szerepe az immunválasz szabályozásában, immunválasz a hősoikkfehérjék ellen

egészséges egyénekben észlelhető immunválaszt is az „immunológiai homunculus” részének lehet tekinteni.

Igen lényeges megfigyelés az is, hogy a hősokkfehérjék (legfőképpen a gp96 és a hsp70) figyelemreméltó hatékonysággal képesek a tumorokkal és a vírusokkal szemben a T-sejtek által közvetített immunválasz beindítására (Srivastava, 1998). Az erős immunválasz hősokkfehérjék révén történő elindításának molekuláris mechanizmusa azzal a tényvel magyarázható, hogy a hősokkfehérjék természetes adjuvánsként aktiválják az antigénprezentáló sejteket. Az egyes tumorokra jellemző antigének sajnos a gyenge immunválaszt kiváltó antigének közé tartoznak. Újabban azonban igazolták, hogy a tumorantigének immunválaszt kiváltó képessége (antigenitása) sokszorosára nőhet akkor, ha ezek a hősokkfehérjékhez kapcsolódnak, vagy mesterségesen ezekhez kapcsoljuk össze. A tumorantigénekből és a hősokkfehérjékből álló oltóanyagokkal egyre ígéretesebbnek tűnő kísérleteket folytatnak.

A hősokkfehérjék konzervatív természetete

A hősokkfehérjék családja igen konzervatív a törzsejlődés során (például a baktériumok és az ember hősokkfehérjéi kb. 50 %-ban azonosak), ezért esetükben fellép a félig tele pohár dilemmája: melyik a fontosabb, az azonoság fennállása, vagy az, hogy 50 %-ban különböznek-e a fehérjék. Mivel már korai kísérleteink is arra mutattak, hogy a bakteriális és az emberi hősokkfehérjék számos tulajdonsága nem tekinthető azonosaknak, munkacsoportunk elsősorban a különbségek iránt kezdett érdeklődni. A továbbiakban két olyan kísérlet eredményét ismertetjük, amely a bakteriális és az emberi hsp60 családba tartozó hősokkfehérjék közötti jelentős eltérések fennállását igazolják.

Az első kísérletben azt vizsgáltuk, hogy az endothel sejtek hogyan reagálnak a bakteriális (hsp65) és a humán (hsp60) fehérjékkel

történő kezelésre. A vizsgálatokat köldökzsinórból származó véna endothel sejttenyészetekben végeztük (ez az endothel sejt kutatás standard modellje világszerte). A tenyészetekhez géntechnológiai úton előállított oldott hsp60-at vagy kétféle baktériumból (*Mycobacterium bovis* és *Escherichia coli*) származó hsp65-öt adtunk különböző koncentrációban, négy órával később megmértük, hogy megjelenik-e a sejteken egy ún. adhézios (a sejtek letapadását elősegítő) molekula, az E-selectin. Az E-selectin mennyiségét egy immunológiai eljárás (sejtes ELISA) segítségével határoztuk meg. Pozitív kontrollként bakteriális lipopoliszacharidot (LPS) használtunk, amelyről ismert, hogy erősen megnöveli az E-selectin mennyiségét az endothel sejtek felszínén (2. ábra).

Éles különbséget találtunk a hsp60 és a hsp65 között: míg az előbbi a legmagasabb koncentrációban csaknem az LPS-sel azonos mértékben növelte meg a sejt felszíni E-selectin koncentrációt, és az alacsonyabb koncentrációk esetében is jól mérhető növekedést találtunk a kezeletlen kontrollhoz képest. Ezzel ellentétben az *E. coli* hsp65-je csak a legmagasabb koncentrációban a *M. bovis* hsp65-je pedig még ebben a koncentrációban sem növelte meg az E-selectin mennyiségét az endothel sejteken. Az E-selectin megjelenése arra mutat, hogy az endothel sejt aktiválódott, amely (mint később látni fogjuk) az érlelmeszesedéshez vezető folyamat első lépése. Eredményeink (melyek közlését 2003-ban tervezzük) arra mutatnak, hogy e sejteket a hősokkfehérjék 60 kD családjába tartozó hsp60 sokkal erősebben tudja aktiválni, mint az ugyanebbe a családba tartozó bakteriális fehérjék.

A másik, korábban elvégzett kísérlet sorozatban (Prohászka, 1999) arra kerestünk választ, hogy a humán hsp60-nal reagáló IgG típusú antitestek egyforma mértékben reagálnak-e a mycobacteriális hsp65-tel is? A kísérletet súlyos koszorúérbetegek vérsavó-

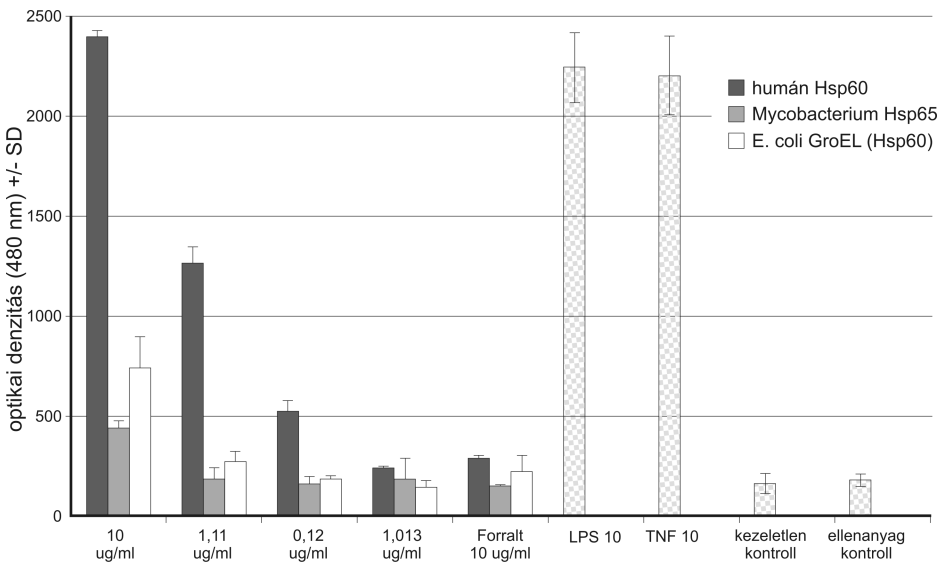
jával végeztük, mivel bennük (mint később erről szó lesz) gyakori a magas koncentrációjú anti-hsp60 antitest. Egy ilyen beteg szérumához azonos mennyiségben adtunk tisztított emberi hsp60-at illetve mycobacteriális hsp65-öt, majd megvizsgáltuk, hogy az antitestek hogyan kötődnek a hsp60-nal fedett műanyag lemezekhez. (3. ábra).

Mint látható, a hsp60 erősen blokkolta az antitestkötődést. Ezzel szemben a hsp65-tel előzetesen összekevert szérumból csaknem ugyanannyi antitest kötődött le a hsp60-nal fedett lemezre, mint abból a kontrollmintából, amelyhez nem adtunk előzetesen semmit. Hasonló eredményeket kaptunk más betegek szérumaival. A kísérlet fordítva is működött: a hsp65-tel fedett lemezhez való antitestkötődést sokkal jobban lehetett gátolni hsp65-tel, mint hsp60-nal. Ezek az eredmények egyértelművé tették, hogy a hősokkfehérjéken vannak olyan antigénegységek (epitópok), melyek nem konzervatívak, az evolúció során elvesztek, vagy újonnan jelentek meg.

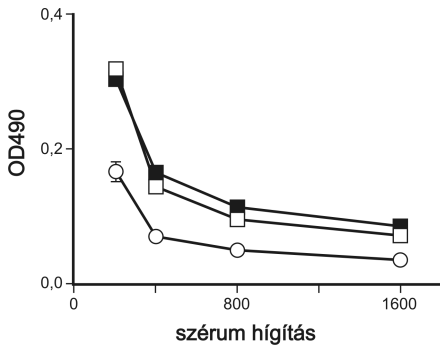
A hősokkfehérjék elleni immunválasz szerepe az érlelmeszesedéshez vezető kórfolyamat megindításában és fenntartásában

Munkacsoportunk kutatómunkájának egyik legfontosabb területe a hősokkfehérjék elleni antitestek és egyes emberi betegségek közötti esetleges összefüggések vizsgálata. Többféle betegségben (fiatalkori cukorbetegség, egyéb autoimmun betegségek, gyulladásos bélbetegségek) végeztünk ilyen vizsgálatokat, a legérdekesebb eredményeink azonban az érlelmeszesedés eredetű érbetegségekhez fűződnek.

Az érlelmeszesedés (atherosclerosis) multifaktoriális betegség. Az elmúlt évtizedekben számos, kockázati tényezőnek nevezett faktorról (elhízás, magas vérnyomás, az ártó (LDL) koleszterin magas és a védő koleszterin (HDL) alacsony szintje, cukorbetegség stb.) derítették ki, hogy szerepet játszik az atherosclerotikus plakk keletkezésében.



2. ábra • A hősokkfehérjék családjába tartozó két fehérje, a rekombináns úton előállított mycobacteriális hsp65 és human hsp60 hatása human köldökzsinór-véna endothel sejtek (HUVEC) E-selectin expresszióval mért aktiválódására



3. ábra • IgG antitestek kötődése hsp60-hoz egy koszorúérbeteg szérumából. Egy hsp60-nal fedett ELISA lemezhez különböző hígítású szérumot adtunk, és detektáltuk a lemezhez kötődött antitestek mennyiségét. Humán hsp60-at (-o-) és *M. bovis* hsp65-öt (-?-) alkalmaztunk a kötődés gátlására, melyet a kezeletlen kontrollhoz (-n-) viszonyítottunk. A hsp60 esetében szignifikáns gátlást tapasztaltunk ($p < 0,001$).

Számos adat azonban arra utal, hogy a fő kockázati tényezőkhöz kívül más mechanizmusok is részt vesznek az atherosclerosis pathogenesisében. Sok koszorúérbetegségben szenvedő betegnél hiányoznak például a klasszikus kockázati tényezők. Továbbá előfordul, hogy egy adott populációban a vér lipidszintjének megfelelő mértékű csökkentése, a testsúly normalizálása, a dohányzás elhagyása, és az életmódbeli változtatások nem szüntetik meg a coronariabetegséget, a populáció egy jelentős százalékában a koszorúérbetegség mégis megjelenik. A fentiekben túl, az elmúlt években számos tudományos bizonyíték gyűlt össze arról, hogy az atherosclerosis kialakulásában és progressziójában immunológiai folyamatok is részt vesznek (Ross, 1999). Úgy tűnik, hogy a legkorábbi léziók az érfalban (ún. zsíros csíkok) kizárólag gyulladásos eredetűek, immunsejteket és komplement-immunglobulin depozitumokat tartalmaznak. Steinberg frissen megjelent összefoglalójában meggyőzően bizonyítja, hogy a koleszterin magas szintje és a gyulladás „bűntársak” az érlelme-

szesedés keletkezésében (Steinberg, 2002). Az immunológusok szemszögéből az egyik legfontosabb kérdés a helyi immunaktivációt kiváltó és fenntartó molekulák azonosítása. Jelenleg a megváltozott saját (oxLDL, glukóz konjugált végtérmekek, hősokkfehérjék és a béta-2 glikoprotein-I), és az idegen struktúrák (leginkább fertőző ágensek) állnak az immunológiai triggermechanizmusok kutatásának középpontjában (Hansson, 2001).

Az érlelmeszesedés pathogenesisében a gyulladásos-immunológiai tényezők szerepének tanulmányozására tett kísérleteink során megpróbáltunk komplex vizsgálatokat végezni. Súlyos coronariabetegek egy csoportjában mértük a 60 kDa-os hősokkfehérje elleni antitestek mennyiségét, kiegészítve a szisztémás immunválasz markereinek, a kórokozók (például *H. pylori*, *C. pneumoniae*, cytomegalovírusok) szembeni szeropozitivitásnak és a legfontosabb, jellemzőket nagy valószínűséggel befolyásoló genetikai tényezők meghatározásával.

A hősokkfehérje elleni antitestek magas szintje és az érlelmeszesedés eredetű érbetegségek kifejlődése, illetve súlyosbodása közötti összefüggést igen sok munkacsoport eredményei igazolják. Georg Wick és munkacsoportja szolgáltatta erre az első bizonyítékot: egészséges emberekben szoros összefüggést találtak a hsp65 elleni antitestek magas szérumkoncentrációja és a nyaki főverőér érlelmeszesedéses plakkok következtében bekövetkező szűkülete között (Xu, 1993). Később azt is igazolták, hogy a szűkület elsősorban azokban a betegekben súlyosodik, akiknek magas az anti-hsp65 antitest szintje (Xu, 1999). Ugyanez az innsbrucki munkacsoport (Hopplicher, 1996) és mások (Birnie, 1998) összefüggést találtak az emelkedett anti-hsp65 antitest szintek és a koszorúérbetegség előfordulása között is. Kanadai kutatókkal közösen végzett vizsgálatainkban (Veres, 2002c) újabban azt is igazolni tudtuk, hogy a magas anti-hsp65 antitest szint olyan súlyos

érelmeszesedésben szenvedő betegekben is előre jelzi az újabb myocardialis infarctus, stroke vagy hirtelen szívhalál bekövetkezését, akiknek többsége korábban már átesett myocardialis infarctuson.

Munkacsoportunk – holtversenyben (a két dolgozat megjelenését egy hónap választotta el) egy amerikai csoporttal – volt az első, amely összefüggést talált az emberi hsp60 elleni antitestek magas szintje, és a súlyos coronariabetegség között (Prohászka, 2001, Zhu, 2001). Azt is igazoltuk, hogy azokban az egyénekben, akik fertőzöttek egy *Chlamydia pneumoniae* nevű, a sejtek belsejében szaporodó baktériummal, a magas anti-hsp60 antitest-szint csaknem százszorosára növeli a súlyos koszorúérbetegség kockázatát a Chlamydia pneumoniae-val nem fertőzött és normál anti-hsp60 antitest szintű egyénekhez képest (Burián et al, 2001).

Így tehát vizsgálatok egész sora igazolja a 60 kD családba tartozó antitestek emelkedett szintje, és az érelmeszesedéses eredetű érbetegségek közötti kapcsolatot. (Érdekes módon ugyanez nem igaz a hsp70 elleni antitestekre, mert vizsgálataink szerint (Kocsis, 2002) nincs különbség a súlyos koszorúér-betegek és az egészséges egyének anti-hsp70 szintje között.)

Georg Wick 1995-ben állította fel (az akkor még elsősorban állatkísérletekkel alátámasztott) elméletét arról, hogy az anti-hsp60 antitestek hogyan vezetnek az érfalak gyulladáshoz és érelmeszesedéshez. A folyamat legfontosabb lépései: 1. Stressz hatására a sejtek belsejéből hősokkfehérjék (így például hsp60) kerülnek ki az érfalak egyes részein lévő endothel sejtek felszínére. 2. A hsp60 elleni antitestek hozzákapcsolódnak az endothel sejt felszínén lévő antigénhez 3. Az antigén-antitest kapcsolódás hatására kóros immunológiai reakciók indulnak meg, amelyek az érfalak egyes részein gyulladás kialakulásához vezetnek. A gyulladás kialakulásához természetesen nemcsak ez a

reakció, hanem immunológiai és nem-immunológiai folyamatok is hozzájárulhatnak, majd a lipid anyagcsere rendellenességeivel, a véralvadási faktorok és más plazmaenzimrendszerek genetikai hibáival együtt, a lipid-anyagcsere rendellenességeivel „bűnszövet-ségben” vezetnek az érelmeszesedés, az érfalakon kifejlődő plakkok kifejlődéséhez és progressziójához. Az ezáltal bekövetkező szűkület, illetve a plakkok szétrepedése és a véralvadékok kialakulása vezet azután az olyan akut eseményekhez, mint a stroke vagy a myocardialis infarctus, amelyek hazánkban és a fejlett országok többségében is a korai halálozás fő okait jelentik.

Nyilvánvaló, hogy a fent leírt kóros folyamatlánc egyik kulcslépése az endothel sejtek felszínére kerülő hsp60 és az antitestek kapcsolódása, és az is könnyen belátható, hogy a folyamat annál súlyosabb lesz, minél nagyobb az antitestkoncentráció. A kérdés azonban az, hogy miért magasabb az anti-hsp60 és az anti-hsp65 antitest-szint az érelmeszesedéses eredetű érbetegségekben szenvedők vérében. Erre a legalább annyira filozófiai, mint orvosi jellegű kérdésre alapvetően két magyarázat adható, amelyek azonban nem zárják ki egymást, tehát mind a kettő igaz lehet.

Az egyik magyarázat szerint a hősokkfehérjék ellen csak akkor keletkezik immunválasz, ha valami ezt a megindítja. A hősokkfehérjék elleni immunválasz kialakulásának fő okai, az elsősorban Georg Wick (2001) által képviselt elmélet szerint, a szervezetet ért infekciók. A fertőző ágensek, ezen belül is az igen sok hsp65-öt tartalmazó mycobacteriumok, amelyek a tuberkulózist okozzák, immunválaszt indítanak be. Ha a hősokkfehérje elleni antitestek és immunsejtek mennyisége magas lesz, akkor a szervezet sikeresen tudja leküzdeni a kórokozókat. De ugyanezek az antitestek keresztreakció révén kötődni tudnak az endothel sejtek felszínén a stressz hatására megjelenő hsp60-hoz is, ami viszont az érelmeszesedést segíti

elő. Az elmélet szerint tehát a mycobacterium és egyéb baktériumok elleni sikeres védekezésnek ára van – az érelmeszesedés kialakulása. Ez a rendkívül szellemes és szuggesztív elmélet azonban nem áll teljes összhangban az irodalmi adatokkal és saját megfigyeléseinkkel sem.

Így például az eddig elvégzett vizsgálatainkban nem találtunk összefüggést a hsp60 elleni antitest titer és az egyik olyan kórokozóval (*Chlamydia pneumoniae*, cytomegalovírus, *Helicobacter pylori*) való fertőzöttség között sem, amelyek szerepet játszhatnak az érelmeszesedés kialakulásában (Prohászka, 1999; Burián, 2001; Veres 2002c). Xu és munkatársai azt észlelték, hogy öt éven keresztül követett egészséges egyénekben nem következett be változás a hsp65 elleni antitest titerekben: akiknek magas volt a titerük, azoknak öt éven keresztül magas maradt, akiknek meg alacsony, azoknak alacsony is maradt (Xu, 1999).

Így indokoltnak látszott alternatív magyarázatot keresni. Itt visszautalnánk arra a korábban már megemlíttet elméletre, amely szerint a hőszokkfehérjék elleni immunválasz az ún. természetes immunválasz, az immunológiai homunculus része. Ennek alapján a következő hipotézist állítottuk fel a magas anti-hsp60 antitest-szint és az érelmeszesedéses eredetű érbetegségek közötti szoros összefüggés magyarázatára. Sok bizonyíték támasztja alá, hogy az ősi, konzervatív struktúrákkal szembeni, az immunológiai homunculus részét képező immunválasz az egyes antigénekkal szemben lehet gyenge vagy erős, és az immunválasznak ez az intenzitása állandó, éveken, évtizedeken, sőt valószínűleg az egész életen át megmarad. Ha ez igaz a hőszokkfehérjékre is, akkor vannak olyan egyének, akik születésüktől kezdve magas titerben termelnek anti-hsp60 ellenanyagot.

Ha ezekben az egyénekben következik be stressz hatására fokozott hsp60 expresszió az érfalakat bélelő endothel sejtek felszínén, akkor náluk súlyos érfalgulladás várható, és megnő az érelmeszesedés kifejlődésének és progressziójának a kockázata. Ugyanez nem történik meg olyan egyénekben, akiknek a hsp60 elleni antitest válasza eredendően gyenge. Ez a hipotézis felveti azt, hogy a hsp60 elleni immunválasz erőssége genetikai szabályozás alatt áll. Két olyan megfigyelést közöltünk 2002-ben, amely ezt a feltételezést látszik igazolni:

1.) Azt találtuk, hogy a komplementaktiváló anti-humán hsp60 antitestek szérumkoncentrációja szignifikánsan magasabb azoknak a szülőknek a gyermekeiben, akiknek ötvenöt éves koruk előtt myocardialis infarctusuk volt, mint azokban a gyermekekben, akiknek a családi anamnézisében szívbetegség nem szerepelt (Veres, 2002a).

2.) Finn kutatókkal együttműködésben leírtuk, hogy az interleukin 6 gén promóterének 174-es pozíciójában kimutatható polimorfizmusa direkt összefüggésben áll az anti-hsp60 antitest-szintekkel, ami arra utal, hogy létezhetnek olyan genetikai tényezők, melyek a homunculus „nagyságát” befolyásolják (Veres, 2002b).

Elméletünk természetesen nem zárja ki annak a lehetőségét, hogy a fertőző ágensek hsp60-homológ fehérjéi keresztreakció révén beindíthatják az autoantitestek keletkezését. Valószínűnek tartjuk, hogy a két magyarázat együttesen teszi érhetővé azt, hogy a hsp60 és hsp65 elleni antitestek magas titerre hogyan jön létre, és hogyan segíti elő az érelmeszesedés egyik kórokanak, az érfalak gyulladásának kialakulását.

Kulcsszavak: *hőszokkfehérje, immunológia, antitestek, komplement, érelmeszesedés*

IRODALOM

- Birnie, D. H. – Holme, E. R. – McKay I. C. – Hood, S. – McColl, K. E. – Hillis, W. S. (1998): Association Between Antibodies to Heat Shock Protein 65 and Coronary Atherosclerosis: Possible Mechanism of Action of Helicobacter Pylori and Other Bacterial Infections in Increasing Cardiovascular Risk. *European Heart Journal*. **19**, 387-394.
- Burián Katalin – Kis Z. – Virok D. – Endrész V. – Prohászka Z. – Duba J. – Berencsi K. – Boda K. – Romics L. – Füst G. – Gönczöl E. (2001): Independent and Joint Effects of Antibodies to Human Heat-Shock Protein 60 and Chlamydia Pneumoniae Infection in the Development of Coronary Atherosclerosis. *Circulation*. **103**, 1503-1508.
- Cohen, Irun R. – Young, D. B. (1992): Autoimmunity, Microbial Immunity and the Immunological Homeunculus. *Immunology Today*. **12**, 105-110
- Csermely Péter (2001): *Stresszfehérjék*. Vince, Bp.
- Friedland, Jon S. – Shattock, R. – Remick, D. G. – Griffin, G. E. (1993): Mycobacterial 65-kD Heat Shock Protein Induces Release of Proinflammatory Cytokines from Human Monocytic Cells. *Clinical and Experimental Immunology*. **91**, 58-62.
- Hansson, Göran K. (2001): Immune Mechanisms in Atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **21**, 1876–1890.
- Hoppichler, F. – Lechleitner, M. – Traweger, C. – Schett, G. – Dzien, A. – Sturm, W. – Xu, Q. (1996): Changes of Serum Antibodies to Heat-Shock Protein 65 in Coronary Heart Disease and Acute Myocardial Infarction. *Atherosclerosis* **126**, 333–338.
- Kocsis Judit – Veres A. – Váray A. – Duba J. – Karádi I. – Füst G. – Prohászka Z. (2002): Antibodies Against the Human Heat Shock Protein Hsp70 in Patients with Severe Coronary Artery Disease. *Immunological Investigations*. **31**, 3-4, 219-31.
- Prohászka Zoltán – Duba J. – Horvath L. – Csaszar A. – Karadi I. – Szebeni A. – Singh, M. – Fekete B. – Romics L. – Fust G. (2001): Comparative Study on Antibodies to Human and Bacterial 60 Kda Heat Shock Proteins in a Large Cohort of Patients with Coronary Heart Disease and Healthy Subjects. *European Journal of Clinical Investigation*. **31**, 285-92.
- Prohászka Zoltán – Duba J. – Lakos G. – Kiss E. – Varga L. – Jánoskúti L. – Császár A. – Karádi I. – Nagy K. – Singh, M. – Romics L. – Füst G. (1999): Antibodies Against Human Hsp60 and Mycobacterial Hsp65 Differ in Their Antigen Specificity and Complement Activating Ability. *Int. Immunology*. **11**, 1363-70.
- Prohászka Zoltán – Singh, M. – Nagy K. – Kiss E. – Lakos G. – Duba J. – Füst G. (2002): Heat-shock Protein 70 Is a Potent Activator of the Human Complement System. *Cell Stress & Chaperones*. **7**, 1, 17-22.
- Ranford, Julia C. – Coates, A. R. M. – Henderson, B. (2000): Chaperonins Are Cell-signalling Proteins: the Unfolding Biology of Molecular Chaperones. *Exp. Rev. Mol. Med.* available at <http://www.ermm.cbccu.cam.ac.uk>
- Ross, R. (1999): Atherosclerosis Is an Inflammatory Disease. *New England Journal of Medicine*. **340**, 115-26.
- Srivastava, Pramod K. – Menoret, A. – Basu, S. – Binder, R. J. – McQuade, K. L. (1998): Heat Shock Proteins Come of Age: Primitive Functions Acquire New Roles in an Adaptive World. *Immunity*. **8**, 657–65.
- Steinberg, Daniel (2002): Atherogenesis in Perspective: Hypercholesterolemia and Inflammation as Partners in Crime. *Nature Medicine*. 1 Nov. **8**, 1211-17.
- Veres Amarilla – Fust G. – Snieja, M. – McQueen, M. – Horvath A. – Yi, Q. – Biro A. – Pogue, J. – Romics L. – Karadi I. – Singh, M. – Gnarp, J. – Prohászka Z. – Yusuf S. – Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) Study Investigators (2002c): Relationship of Anti-60 kDa Heat Shock Protein and Anti-cholesterol Antibodies to Cardiovascular Events. *Circulation*. **106**, **22**, 2775-80.
- Veres Amarilla – Prohászka Z. – Kilpinen, S. – Singh, M. – Füst G. – Hurme, M. (2002b): The Promoter Polymorphism of the IL-6 Gene Is Associated with Levels of Antibodies to 60 Kda Heat Shock Proteins. *Immunogenetics*. **53**, 851-856.
- Veres Amarilla – Szamosi T. – Ablonczy M. – Szamosi T. Jr. – Singh, M. – Karádi I. – Romics L. – Füst G. – Prohászka Z. (2002a): Complement Activating Antibodies Against the Human 60 Kd Heat Shock Protein as a New Independent Family Risk Factor of Coronary Heart Disease. *European Journal of Clinical Investigation*. **32**, 405-410.
- Wick, Georg – Perschinka, H. – Millonig, G. (2001): Atherosclerosis as an Autoimmune Disease: An Update. *Trends in Immunology*. **22**, 665–69.
- Wick, Georg – Xu, Q. (1995): Is Atherosclerosis an Immunologically Mediated Disease? *Immunology Today*. **16**, 27-33.
- Xu, Quingbo – Kiechl, S. – Mayr, M. – Metzler, B. – Egger, G. – Oberhollenzer, F. – Willeit, J. – Wick, G. (1999): Association of Serum Antibodies to Heat-shock Protein 65 with Carotid Atherosclerosis: Clinical Significance Determined in a Follow-up Study. *Circulation*. **10**, 1169-74.
- Xu, Quingbo – Willeit J. – Marosi M. – Kleindienst, R. – Oberhollenzer, F. – Kiechl, S. – Stuling, T. – Luef, G. – Wick, G. (1993): Association of Serum Antibodies to Heat-shock Protein 65 with Carotid Atherosclerosis. *The Lancet* **341**, 255-59.
- Zhu, J. H. – Quyyumi, A. A. – Rott, D. – Csako, G. – Wu, H. S. – Halcox, J. – Epstein, S. E. (2001): Antibodies to Human Heat-Shock Protein 60 Are Associated with the Presence and Severity of Coronary Artery Disease: Evidence for an Autoimmune Component of Atherogenesis. *Circulation*. **103**, **8**, 1071-1075.