

## Η σημασία της απόπτωσης και της αγγειογένεσης στην αθηροσκλήρωση

Καλέκου-Γρέκα Χ.

### *The significance of apoptosis and angiogenesis in atherosclerosis.*

*Kalekou-Greka Chariklia*

*Department of Pathology, St Paul General Hospital of Thessaloniki*

*Apoptosis is the physiologic mechanism of programmed cell death having a function opposite to mitosis in the control of tissue size. Angiogenesis is the process of new vessel formation from pre-existing blood vessels which participates in embryogenesis, tissue growth, endometrial regeneration and wound healing. The role of both apoptosis and angiogenesis in the development and evolution of neoplasia and atherosclerosis has been extensively studied. Factors such as high concentration of glucose, oxidized LDL and oxidative stress, which are important in the pathogenesis of atherosclerosis also stimulate apoptosis. Increased apoptosis of endothelial cells but mainly also of smooth muscle cells and macrophages within the atherosclerotic plaque results in plaque instability and predisposes to plaque rupture and thrombosis. Endothelial dysfunction, forming the biochemical basis for the subsequent evolution of atherosclerosis, is associated with the release of growth factors which not only induce endothelial and smooth muscle cell hyperplasia but are also responsible for angiogenesis in the neointima and the growth of the atherosclerotic plaque. Neovascularization has been found to be higher in ruptured plaques and in cases of unstable angina. Thus, plaque neovascularization seems to also be a factor predisposing to complications of atherosclerosis.*

**Key-words:** *atherosclerosis, apoptosis, angiogenesis*

Απόπτωση είναι ο φυσιολογικός μηχανισμός προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου που λειτουργεί αντίθετα προς τη μίτωση στη ρύθμιση του μεγέδους των ιστών. Αγγειογένεση είναι ο σχηματισμός νέων αγγείων από προϋπάρχοντα αγγεία ο οποίος συμμετέχει στην εμβρυογένεση, την αύξηση των ιστών, την αναγέννηση του ενδομητρίου και την επούλωση τραυμάτων. Ο ρόλος τόσο της απόπτωσης όσο και της αγγειογένεσης έχει μελετηθεί εκτεταμένα στην ανάπτυξη και εξέλιξη νεο-

πλασματικών εξεργασιών, όπως επίσης και στην αθηροσκλήρωση. Παράγοντες όπως η υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης, η οξειδωμένη LDL και το οξειδωτικό stress οι οποίοι συμμετέχουν στην παθογένεση της αθηρωματοσκλήρωσης διεγείρουν την απόπτωση. Η αυξημένη απόπτωση ενδοθηλιακών κυττάρων, κυρίως όμως λείων μυϊκών κυττάρων και μακροφάγων, μέσα στην αθηρωματική πλάκα συντελεί σε αστάθεια της πλάκας και προδιαθέτει σε ρήξη της πλάκας και θρόμβωση. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία, που αποτελεί το βιοχημικό υπόβαθρο για την μετέπειτα εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης, σχετίζεται με ελευθέρωση αυξητικών παραγόντων οι οποίοι όχι μόνο προκαλούν υπερπλασία ενδοθηλιακών και λείων μυϊκών κυττάρων αλλά ευθύνονται επίσης για τη νεοαγγείωση του έσω χιτώνα και την αύξηση της αθηροσκληρωτικής πλάκας. Η νεοαγγείωση έχει βρεθεί ότι είναι μεγαλύτερη σε πλάκες με ρήξη και σε περιπτώσεις ασταδούς στηθάγχης. Έτσι, η νεοαγγείωση της πλάκας φαίνεται επίσης να αποτελεί παράγοντα που προδιαθέτει σε επιπλοκές της αθηροσκλήρωσης.

**Λέξεις-κλειδιά:** απόπτωση, αγγειογένεση, αθηροσκλήρωση

Οι μηχανισμοί της απόπτωσης και της αγγειογένεσης αποτελούν τα τελευταία χρόνια αντικείμενο πολυάριθμων ερευνών. Από πλευράς φυσιολογίας, τόσο η απόπτωση, ως μηχανισμός ρύθμισης του κυτταρικού θανάτου, όσο και η αγγειογένεση, ως διεργασία που συμμετέχει στην εμβρυογένεση, την ανάπτυξη των ιστών, την αναγέννηση του ενδομητρίου και την επούλωση τραυμάτων έχουν ουσιώδη ρόλο. Η διερεύνηση των μηχανισμών αυτών επεκτάθηκε ιδιαίτερα στον τομέα της ανάπτυξης και εξέλιξης των νεοπλασματικών εξεργασιών αλλά και σε διάφορες άλλες παθολογικές καταστάσεις μεταξύ των οποίων και η αθηροσκλήρωση.<sup>1-6</sup>

## A. ΑΠΟΠΤΩΣΗ

Ο όρος απόπτωση αναφέρεται σε μορφή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου που αφορά μεμονωμένα κύτταρα, απαντάται τόσο σε φυσιολογικές όσο και σε παθολογικές συνθήκες και λειτουργεί αντίθετα προς τη μίτωση στη ρύθμιση του μεγέθους των ιστών<sup>7</sup>. Διαφέρει από τη νέκρωση κατά το ότι είναι ρυθμιζόμενη επεξεργασία η έναρξη της οποίας υπακούει σε ειδικό σήμα ενεργοποίησης και δεν αποτελεί παθητικό φαινόμενο όπως η νέκρωση. Πρώιμο στάδιο στο μηχανισμό της απόπτωσης είναι η ενεργοποίηση ενδονουκλεασών που διασπούν το DNA<sup>8</sup>.

Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της απόπτωσης, όπως παρατηρούνται στο οπτικό και το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, είναι η επιφα-

νειακή φυσαλλίδωση του κυττάρου, η περιφερική διάταξη της χρωματίνης, η "σύσπαση" του κυττάρου λόγω διαταραχής του κυτταροσκελετού, η κατάτμηση του κυττάρου σε ένα ή περισσότερα αποπτωτικά σωματίδια και τελικά η φαγοκυττάρωση των αποπτωτικών σωματιίων από μακροφάγα ή παρακείμενα κύτταρα ή η απόρριψή τους μέσα στον αυλό στα κοίλα όργανα<sup>7,9</sup>. Λόγω της ταχύτητας της διαδικασίας της απόπτωσης (εξαφάνιση του κυττάρου σε 4 ώρες) και της απουσίας φλεγμονής, παρά τη σημαντική απώλεια κυττάρων, μόνο ένα μικρό ποσοστό αποπτωτικών κυττάρων γίνεται ορατό σε ιστολογικές τομές.

Στη ρύθμιση του μηχανισμού της απόπτωσης συμμετέχουν διάφορα ογκογονίδια και αυξητικοί παράγοντες. Στους παράγοντες που προάγουν την απόπτωση ανήκουν τα ογκογονίδια p53, c-myc, E2F, Fas, Bax, Bad, Bak, Bcl-XS, ενώ στους παράγοντες που την αναστέλλουν ανήκουν τα ογκογονίδια Bcl-2, Bcl-6, Bcl-w, MCL-I, A-I, p35<sup>9</sup>.

Στα κύτταρα του αγγειακού τοιχώματος φαίνεται να υπάρχουν τρία κύρια συστήματα ρυθμιστικά ή εκτελεστικά της απόπτωσης, εντοπιζόμενα στο κυτταρόπλασμα (σύστημα κασπασών), στα μιτοχόνδρια (σύστημα Bcl-2) και στον πυρήνα (σύστημα πρωτεϊνών σχετιζόμενο με το γονίδιο p53 και το c-myc). Εξάλλου, σημαντικός για την έκλυση των διεργασιών της απόπτωσης φαίνεται να είναι και ο ρόλος κυτοκινών που παράγονται από ενεργοποιημένα κύτταρα φλεγμονής.<sup>10</sup>

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, ο ρυθμός της

απόπτωσης των ενδοθηλιακών κυττάρων και των λείων μυϊκών ινών του αρτηριακού τοιχώματος είναι χαμηλός.<sup>11</sup> Η απόπτωση διεγείρεται από παράγοντες που κλασικά θεωρούνται υπεύθυνοι για την αθηροσκλήρωση όπως π.χ. η υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης, η οξειδωμένη LDL, το αυξημένο οξειδωτικό στρες, η αγγειοτενσίνη II<sup>12-14</sup>. Σε αθηροσκληρωτικά αγγεία, η απόπτωση αφορά ενδοθηλιακά κύτταρα, λείες μυϊκές ίνες και μακροφάγα της αθηρωματικής πλάκας, φαίνεται δε ότι ο ρυθμός της απόπτωσης εξαρτάται από τη φάση ανάπτυξης της αθηρωματικής πλάκας. Στην αρχική φάση της αθηροσκληρωτικής εξεργασίας έχει παρατηρηθεί προδιάθεση ανάπτυξης αθηρωματικής πλάκας σε δέσεις αλλοιωμένου ενδοθηλίου. Στις δέσεις αυτές έχει διαπιστωθεί ότι υπάρχει σχετικά αυξημένη κινητική των ενδοθηλιακών κυττάρων που οφείλεται σε αυξημένη απόπτωση<sup>12</sup>. Η αυξημένη απόπτωση φαίνεται να προκαλείται από επίδραση του μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα TGFβ<sub>1</sub> ή από ενεργοποίηση του κύριου υποδοχέα (LOX-1) της οξειδωμένης LDL στη μεμβράνη των ενδοθηλιακών κυττάρων ή και από άλλους συνεργικούς μηχανισμούς.<sup>15,16</sup> Υψηλές συγκεντρώσεις D-γλυκόζης προκαλούν ενδοθηλιακή απόπτωση δια μέσου της οδού BAX-κασπασών, ενώ ο αυξητικός παράγοντας των ηπατοκυττάρων HGF δρά προστατευτικά για το ενδοθελίο μέσω ενεργοποίησης του Bcl-2 και αναστολής της ενεργοποίησης των κασπασών 3 και 9.<sup>17</sup> Γενικά όμως, όπως γίνεται εμφανές με την εφαρμογή της μεθόδου TUNEL για την ανίχνευση κυττάρων τα οποία έχουν εισέλθει στη διαδικασία της απόπτωσης, η αντιδραστική πάχυνση του έσω χιτώνα (neointima) στην αρχική φάση της αθηρωματικής εξεργασίας και οι λιπώδεις γραμμώσεις (fatty streaks) εμφανίζουν σχετικά μικρού βαθμού απόπτωση, ενώ σε προχωρημένη φάση οι πλήρως ανεπτυγμένες αθηρωματικές πλάκες που αποτελούνται από λεία μυϊκά κύτταρα, μακροφάγα, λεμφοκύτταρα, μικροαγγεία, διαφόρους τύπους κολλαγόνου και εναποθέσεις αλάτων ασβεστίου παρουσιάζουν σαφείς εστίες απόπτωσης. Η αυξημένη παρουσία αποπτωτικών κυττάρων στις αθηρωματικές πλάκες πιθανότατα θα πρέπει να αποδοθεί σε ελλιπή λειτουργία του συστήματος απομάκρυνσης των νεκρών κυττάρων κατά την αθηρωματοσκλήρυνση.<sup>10</sup>

Ο τύπος κυττάρου που κατέξοχην εμφανίζει αποπτωτική δραστηριότητα σε πρώιμες και

σε προχωρημένες αλλοιώσεις αθηρωματοσκλήρυνσης είναι τα λεία μυϊκά κύτταρα. Τα λεία μυϊκά κύτταρα που εισχωρούν στις λιπώδεις γραμμώσεις εκφράζουν την πρωτεΐνη BAX της οικογένειας Bcl-2 η οποία συντελεί σε αυξημένη τάση των κυττάρων αυτών για απόπτωση<sup>18</sup>. Στην απόπτωση των λείων μυϊκών κυττάρων φαίνεται ότι συντελούν και τα συνυπάρχοντα μακροφάγα μέσω μηχανισμού ενεργοποίησης του συστήματος υποδοχέα-συνδέτη Fas/FasL/κασπασών, το οποίο προάγει τον κυτταρικό θάνατο σε διάφορους ιστούς.<sup>19,20</sup> Η απόπτωση λείων μυϊκών κυττάρων στην αθηρωματική πλάκα έχει ως συνέπειες την ελαττωμένη σύνδεση κολλαγόνου, την απώλεια συνοχής της πλάκας και την αύξηση του κινδύνου ρήξης της πλάκας υπό την επίδραση μηχανικών παραγόντων (ροής, διατμητικών τάσεων), ενώ τα μη φαγοκυτταρούμενα αποπτωτικά σωματίδια σε περιπτώσεις ιδιαίτερα αυξημένης αποπτωτικής δραστηριότητας που υπερβαίνει τη δυνατότητα απομάκρυνσής τους από τα γύρω κύτταρα, αποτελούν πυρήνες για εναπόθεση αλάτων ασβεστίου<sup>18</sup>. Επίσης, το αυξημένο οξειδωτικό στρες έχει ως συνέπεια την απόπτωση μακροφάγων μέσα στην πλάκα. Η αυξημένη απόπτωση οδηγεί σε δημιουργία νεκρωτικού πυρήνα μέσα στην πλάκα και εισχώρηση νέων μονοπύρηνων κυττάρων με συνέπεια τη δημιουργία *ασταδούς πλάκας* με υψηλή δρομογενετική ικανότητα<sup>21</sup>. Έτσι, υπάρχει αυξημένος κίνδυνος επιπλοκών, δεδομένου ότι και οι διατμητικές τάσεις συμβάλλουν σε απόπτωση των ενδοθηλιακών κυττάρων που υπαλείφουν τον αυλό, γεγονός καθοριστικής σημασίας για τη διάβρωση της πλάκας και την ανάπτυξη θρόμβωσης.<sup>22</sup> Σε πειραματικό μοντέλο διαπιστώθηκε ότι η ελάττωση της κοληστερόλης της τροφής μετά από περίοδο αυξημένης πρόσληψης συνετέλεσε σε σταθεροποίηση των αθηρωματικών πλακών στα στεφανιαία αγγεία, ελάττωση της απόπτωσης και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και σε αύξηση των διαφοροποιημένων λείων μυϊκών ινών και του κολλαγόνου. Η ελαττωμένη απόπτωση των λείων μυϊκών ινών θεωρήθηκε ότι συμβάλλει στην εξαφάνιση του ακυτταρικού πυρήνα της πλάκας όταν ελαττώνεται η πρόσληψη λίπους.<sup>23</sup> Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι οι υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες (HDL) και λυσοσωφιγολιπίδια σχετιζόμενα με HDL ασκούν αντι-αθηρωματογόνο δράση μέσω αναστολής της ενδοθηλιακής απόπτωσης.<sup>24</sup>

Συμπερασματικά, η απόπτωση φαίνεται να παίζει ρόλο στην αθηρωμάτωση τόσο κατά το πρώιμο στάδιο της αθηρογένεσης όσο και στις προχωρημένες φάσεις της αθηρωματοσκληρότητας κατά τις οποίες αυξάνει τον κίνδυνο επιπλοκών όπως η ρήξη, η θρόμβωση και η ασβεστοποίηση της πλάκας. Η αποσαφήνιση των μοριακών μηχανισμών που σχετίζονται με την απόπτωση κυττάρων στο αγγειακό τοίχωμα πιθανόν να συντελέσει στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών για την αθηρωματοσκληρότητα και τις επιπλοκές της<sup>25</sup>.

## B. ΑΓΓΕΙΟΓΕΝΕΣΗ

Ο όρος αγγειογένεση ή νεοαγγειογένεση περιγράφει τον σχηματισμό νέων αγγείων (τριχοειδών) από προϋπάρχοντα αγγεία (τριχοειδή και μετατριχοειδικά φλεβίδια). Σε ενήλικα άτομα απαντάται σε φυσιολογικές συνθήκες κατά την αναγέννηση του ενδομητρίου και την ανάπτυξη του ωχρού σωματίου ενώ σε παθολογικές καταστάσεις αποτελεί βασικό φαινόμενο κατά το σχηματισμό κοκκιώδους ιστού σε φλεγμονές και τραυματισμούς, στις αλλοιώσεις του αρθρικού υμένα επί ρευματοειδούς αρθρίτιδας, στη διαβητική αμφιβληστροειδοπάθεια, στην ανάπτυξη και επέκταση των νεοπλασμάτων καθώς και στην αθηρωματοσκληρότητα<sup>4-6,26,27</sup>.

Σύμφωνα με την "υπόθεση ισορροπίας" (Balance hypothesis), η αγγειογένεση ρυθμίζεται από την ισορροπία ανάμεσα σε παράγοντες προαγωγικούς ή αγγειογενετικούς και παράγοντες ανασταλτικούς ή αντιαγγειογενετικούς<sup>26-28</sup>. Στους αγγειογενετικούς παράγοντες περιλαμβάνονται οι: VEGF (vascular endothelial growth factor), EGF (epithelial growth factor), bFGF (basic fibroblast growth factor), PD-ECGF (platelet derived endothelial cell growth factor), TGF  $\beta$  (tumor growth factor  $\beta$ ), TNF  $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ ), αγγειογενίνη, κυκλοοξυγενάση, διάφορες μεταλλοπρωτεϊνάσες, το NO, αγγειακές ιντεγκρίνες, ιντερλευκίνες 1, 4, 6, 8, 15 κ.ά. Στους αντιαγγειογενετικούς παράγοντες περιλαμβάνονται οι: δρομβοσπονδίνη, αγγειοστατίνη, ενδοστατίνη, αιμοπεταλιακός παράγων 4, ιστικοί αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνάσων TIMP 1 και 2, ιντερφερόνη, ιντερλευκίνη 12 κ.ά. Στη ρύθμιση της έκκρισης αγγειογενετικών και αντιαγγειογενετικών παραγόντων συμμετέχουν γονίδια τα οποία ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο.

Τα στάδια της ανάπτυξης νέων αγγείων περιλαμβάνουν διάσπαση της βασικής μεμβράνης των προϋπάρχοντων τριχοειδών υπό την επίδραση μεταλλοπρωτεϊνάσων και άλλων ουσιών, πολλαπλασιασμό και μετανάστευση ενδοθηλιακών κυττάρων προς την εξωκυττάρια ουσία υπό την επίδραση παραγόντων όπως ο VEGF, FGF κ.ά., διακλάδωση των νεοσχηματιζόμενων τριχοειδών και τελικά σχηματισμό αυλού υπό την επίδραση παραγόντων όπως ο FGF, TGF $\beta$  κ.ά.<sup>5</sup>

Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία που προκαλείται από παράγοντες όπως το κάπνισμα, η υπέρταση, η υπερλιπιδαιμία, το στρες, ο σακχαρώδης διαβήτης, αποτελεί το βιοχημικό υπόβαθρο για την μετέπειτα εξέλιξη της αθηρωματικής βλάβης. Η ενδοθηλιακή δυσλειτουργία συνεπάγεται την μείωση της σύνδεσης ή της δράσης ουσιών με αγγειοδιασταλτική ή αντιαιμοπεταλιακή δράση όπως το NO και η PGI<sub>2</sub> την απελευθέρωση αγγειοσυσταλτικών παραγόντων και την παραγωγή αυξητικών παραγόντων.<sup>29</sup> Μεταξύ των αυξητικών παραγόντων, ο PD-ECGF (ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας αιμοπεταλιακής προέλευσης), ο οποίος παράγεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα υπό την επίδραση διατμητικών τάσεων ή όταν υπάρχει υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης, διεγείρει τα ίδια τα ενδοθηλιακά κύτταρα σε πολλαπλασιασμό ενώ επίσης προκαλεί υπερπλασία και μετανάστευση λείων μυϊκών ινών από τον μυϊκό προς τον έσω χιτώνα. Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι οι λείες μυϊκές ίνες παράγουν VEGF ενώ τα μακροφάγα που εισχωρούν στην σχηματιζόμενη πλάκα παράγουν PD-ECGF και VEGF.<sup>27,28,30,31</sup> Ταυτόχρονα, παρατηρείται παραγωγή bFGF και TGF $\beta$ . Η παρουσία όλων αυτών των παραγόντων δημιουργεί συνθήκες νεοαγγειογένεσης. Επιπλέον, η αγγειογένεση μέσα σε αθηροσκληρωτικές πλάκες φαίνεται να σχετίζεται και με αυξημένη έκφραση ινωδολυτικών πρωτεϊνών.<sup>32</sup> Η τελική μορφή της αθηρωματικής βλάβης, η ινώδης πλάκα, αυξανόμενη σε μέγεθος οδηγεί σε αποφρακτικά φαινόμενα. Στην αύξηση του μεγέθους της πλάκας φαίνεται να συντελεί και η, υπό την επίδραση των αυξητικών-αγγειογενετικών παραγόντων που προαναφέρθηκαν, ανάπτυξη νέων αγγείων από τα vasa vasorum που φυσιολογικά υπάρχουν μόνο μέσα στο μυϊκό και τον έξω χιτώνα των αγγείων.<sup>6,33</sup> Μεγαλύτερη νεοαγγείωση έχει παρατηρηθεί σε πλάκες με ρήξη, ενδοτοιχωματική αιμορραγία ή σε περιπτώσεις

ασταδούς στηθάγχης. Η δράση μεταλλοπρωτεϊνών που αποδοθούν το εξωκυττάριο υπόστρωμα συμβάλλει μεν στην αγγειογένεση μέσα στην αθηρωματική πλάκα, παράλληλα ωστόσο μπορεί να οδηγήσει σε αστάθεια της πλάκας και ρήξη.<sup>34</sup> Έτσι η νεοαγγείωση της πλάκας φαίνεται να συμβάλλει στον κίνδυνο επιπλοκών.<sup>35,36</sup>

Ο έλεγχος της αγγειογένεσης μέσω θεραπευτικών χειρισμών που σκοπεύουν την αναστολή ή την διέγερση των ποικίλων αγγειογενετικών ερεθισμάτων αποτελεί πολλά υποσχόμενη θεραπευτική παρέμβαση στην αθηρωματοσκλήρυνση, τις επιπλοκές της και την ισχαιμική νόσο του μυοκαρδίου. Για παράδειγμα, η χορήγηση ενδοστατίνης ή TNP-470 ή η χορήγηση αναστολέων των μεταλλοπρωτεϊνών ή η αποκατάσταση της αναλογίας μεταξύ μεταλλοπρωτεϊνών και ιστικών αναστολέων των μεταλλοπρωτεϊνών θα μπορούσε να είναι χρήσιμη για τη θεραπεία της αθηρωματοσκλήρυνσης μέσω αναστολής της αγγειογένεσης.<sup>34,35</sup> Αντίστροφα, η χορήγηση αγγειογενετικών πεπτιδίων τοπικά στο ισχαιμικό μυοκάρδιο καθώς και η γονιδιακή θεραπεία με αγγειογενετικά γονίδια, έτσι ώστε να διεγερθεί ο σχηματισμός νέων αγγείων στην προσπάθεια αποκατάστασης της αιμάτωσης του μυοκαρδίου, δοκιμάζεται ήδη στην θεραπεία της ισχαιμικής νόσου και του εμφράγματος του μυοκαρδίου.<sup>37</sup>

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Han DK, Haudenschild CC, Hong MK, Tinkle BT, Leon MB, Liao G. Evidence for apoptosis in human atherogenesis and in a rat vascular injury model. *Am J Pathol* 147:267-277, 1995.
- Isner JM, Kearney M, Bortman S, Passeri J. Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis. *Circulation* 91:2703-2711, 1995.
- Guevara NV, Chen KH, Chan L. Apoptosis in atherosclerosis: pathological and pharmacological implications. *Pharmacol Res* 44:59-71, 2001.
- Harris SR, Thorgeirson UP. Tumor angiogenesis: biology and therapeutic prospects. *In Vivo* 12:563-570, 1998.
- Griffioen AW, Barendsz-Janson AF, Mayo KH, Hillen HFP. Angiogenesis, a target for tumor therapy. *J Lab Clin Med* 132:363-368, 1998.
- Kahlon R, Shapero J, Gotlieb AI. Angiogenesis in atherosclerosis. *Can J Cardiol*, 8:60-64, 1992.
- Kerr JFR, Bishop CJ, Searle J. Apoptosis. In: Anthony PP, MacSween NM (eds) *Recent advances in Histopathology*. Churchill Livingstone, Edinburgh 1984:1-15.
- Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 26:239-257, 1972,
- Νακοπούλου Λ, Μιχαλοπούλου Α. Απόπτωση, καρκίνος και θεραπεία. *Αρχεία Παθολογικής Ανατομικής* 11:4-13, 1997.
- Geng Yong Jian. Molecular signal transduction in vascular cell apoptosis. *Cell Research* 11:253-264, 2001.
- Kockx MM, Knaapen MW. The role of apoptosis in vascular disease. *J Pathol* 190:267-280, 2000.
- Dimmeler S, Hermann C, Zeiher AM. Apoptosis of endothelial cells. Contribution to the pathophysiology of atherosclerosis? *Eur Cytokine Netw*, 9:697-698, 1998.
- Mehta u, Kang BP, Bansal G, Bansal MP. Studies of apoptosis and Bcl-2 in experimental atherosclerosis in rabbit and influence of selenium supplementation. *Gen Physiol Biophys* 21:15-29, 2002.
- Li W, Dalen H, Eaton JW, Yuan X-M. Apoptotic death of inflammatory cells in human atheroma. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 21:1124, 2001.
- Hyman KM, Seghezzi G, Pintucci G, Stellani G, Kim JH, Grossi EA, Galloway AC, Mignatti P. Transforming growth factor  $\beta$ 1 induces apoptosis in vascular endothelial cells by activation of mitogen-activated protein kinase. *Surgery* 132:173-179, 2002.
- Chen M, Masaki T, Sawamura T. LOX-1, the receptor for oxidized low-density lipoprotein identified from endothelial cells: implications in endothelial dysfunction and atherosclerosis. *Pharmacol Ther* 95:89, 2002.
- Nakagami H, Morishita R, Yamamoto K et al. Hepatocyte growth factor prevents endothelial cell death through inhibition of BAX translocation from cytosol to mitochondrial membrane. *Diabetes* 51:2604-2611, 2002.
- Kockx MM, Meyer GRY, Muhring J, Jacob W, Bult H, Herman AG. Apoptosis and related proteins in different stages of human atherosclerotic plaques. *Circulation* 97:2307-2315, 1998.
- Imanishi T, Han DK, Hofstra L, Hano T, et al. Apoptosis of vascular smooth muscle cells is induced by Fas ligand derived from monocytes/macrophages. *Atherosclerosis* 161:143-151, 2002.
- Boyle JJ, Bowyer DE, Weissberg PL, Bennett MR. Human blood derived macrophages induce apoptosis in human plaque-derived smooth muscle cells by Fas-Ligand/Fas inter-

- actions. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology* 21:1402, 2001.
21. Bjoerkerud S, Bjoerkerud B. Apoptosis is abundant in human atherosclerotic lesions, especially in inflammatory cells (macrophages and T-cells) and may contribute to the accumulation of gruel and plaque instability. *Am J Pathol* 149: 367-380, 1996.
  22. Tricot O, Mallat Z, Heymes C, Belmin J, Leseche G, Tedgui A. Relation between endothelial cell apoptosis and blood flow direction in human atherosclerotic plaques. *Circulation* 101:2450-2453, 2000.
  23. Verhamme P, Quarck R, Hao H et al. Dietary cholesterol withdrawal reduces vascular inflammation and induces coronary plaque stabilization in miniature pigs. *Cardiovasc Res* 56:135, 2002.
  24. Nofer JR, Levkau B, Wolinska I, Junker R, Fobker M, von Eckardtstein A, Seedorf U, Assman G. Suppression of endothelial cell apoptosis by HDL and HDL-associated lysosphingolipids. *J Biol Chem* 276:34480-5, 2001.
  25. Geng YJ, Libby P. Progression of atheroma: a struggle between death and procreation. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 22:1370-1380, 2002.
  26. Augustin H. Antiangiogenic tumour therapy: will it work? *TiPS* 19:216-222, 1998.
  27. Boyle JJ, Wilson B, Bicknell R, Harrower S, Weissberg PL, Tai-Ping Fan. Expression of angiogenic factor thymidine phosphorylase and angiogenesis in human atherosclerosis. *J Pathol* 192:234-242, 2000.
  28. Kuzua M, Satake S, Esaki T et al. Induction of angiogenesis by smooth muscle cell-derived factor: possible role in neovascularization in atherosclerotic plaque. *J Cell Physiol* 164: 658-667, 1995.
  29. Ράμμος ΚΣ, Κούλλιας ΓΙ. Ο ρόλος του ενδοθηλίου στη στεφανιαία νόσο. Εκδοτ. Οίκος "Φιλώτας":63-72
  30. Nakagawa K, Chen YX, Ishibashi H et al. Angiogenesis and its regulation: roles of vascular endothelial cell growth factor. *Semin Thromb Hemost* 26:61-66, 2000.
  31. Boyle JJ, Wilson B, Bicknell R, Harrower S, Weissberg PL, Fan TP. Expression of angiogenic factor thymidine phosphorylase and angiogenesis in human atherosclerosis. *J Pathol* 192: 234-242, 2000.
  32. Hajjar KA, Deora A. New concepts in fibrinolysis and angiogenesis. *Curr Atheroscl Rep* 2:417-21, 2000.
  33. Moulton KS. Plaque angiogenesis and atherosclerosis. *Curr Atheroscl Rep* 3:225-233, 2001.
  34. George SJ. Therapeutic potential of matrix metalloproteinase inhibitors in atherosclerosis. *Expert Opin Investig Drugs* 9:993-1007, 2000.
  35. Moulton K, Heller MS, Konerding MA, Flynn E, Palinski W, Folkman J. Angiogenesis inhibitors endostatin or TNP-470 reduce intimal neovascularization and plaque growth in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 99:1726-1732, 1999.
  36. Tenaglia AN, Peters KG, Sketch MH, Annex BH. Neovascularization in atherectomy specimens from patients with unstable angina. *Am Heart J* 135:10-14, 1998.
  37. Kantor B, Altman J, Simari RS, Bayes-Genis A, Keelan PJ, Holmes DR Jr, Schwartz RS. Gene therapy for myocardial angiogenesis: has it come of age? *Curr Atheroscl Rep* 2:373-379, 2000.