

MECHANIZMY CHOROBY
Robert S. Schwartz, MD, Redaktor

Układ hemostazy jako modulator miażdżycy

JULIAN ILCHEFF BORISOFF, MD, HENRI M.H. SPRONK, PHD,
HUGO TEN CATE, MD, PHD

Laboratory for Clinical
Thrombosis and Hemostasis,
Departments of Internal
Medicine and Biochemistry,
Cardiovascular Research
Institute of Maastricht,
Maastricht University Medical
Center, Maastricht, Holandia

Adres do korespondencji:
dr Hugo ten Cate
Laboratory for Clinical
Thrombosis and Hemostasis,
Departments of Internal
Medicine and Biochemistry,
Cardiovascular Research
Institute of Maastricht,
Maastricht University Medical
Center, Universiteitsingel
50, P.O. Box 616, Box 8,
Maastricht 6200 MD,
the Netherlands

e-mail: h.tencate@
maastrichtuniversity.nl

New Engl J Med 2011;
364:1746-1760

Kardiologia po Dyplomie
2011; 10 (10): 12-32

Choroby układu krążenia to jedne z głównych przyczyn zgonów i powikłań na całym świecie. Zgodnie z klasyczną koncepcją miażdżycy kluczową rolę w występowaniu i progresji tej choroby przypisuje się zapaleniu [1,2]. Różne komórki zapalne (np. makrofagi, granulocyty obojętnochłonne i limfocyty) odgrywają zasadniczą rolę w destabilizacji i późniejszym pękaniu lub erozji blaszek miażdżycowych, co ostatecznie prowadzi do występowania zakrzepicy na podłożu miażdżycy (atherotrombosis) [3]. Zapalenie jest ściśle powiązane z krzepnięciem w kilku stanach patologicznych [4]. Należy podkreślić, że w wielu złożonych chorobach [5,6], w tym w miażdżycy, istnieją dwukierunkowe powiązania między tymi dwoma układami.

Nie ma klinicznych dowodów wskazujących na rolę układu hemostazy w progresji zmian miażdżycowych, jednak wiele danych eksperymentalnych wskazuje na to, że płytki krwi i układ krzepnięcia są ważnymi czynnikami wpływającymi na rozwój zmian miażdżycowych i występowanie zakrzepicy na podłożu miażdżycy. W wielu próbach klinicznych stosowanie leków przeciwplatekcyjnych lub przeciwkrzepliwych nie wiązało się z zahamowaniem wzrostu blaszek miażdżycowych lub ich regresją. Dobrze jednak wiadomo, że układ hemostazy może wywierać w naczyniach wiele działań, wpływając w ten sposób na molekularny i komórkowy skład ściany tętnicy, a zapewne również blaszek miażdżycowych. W niniejszym przeglądzie przedstawiono najnowsze osiągnięcia w tej dziedzinie i omówiono mechanizmy hemostazy jako potencjalne modulatory fenotypu blaszek miażdżycowych.

Mechanizmy powiązań między układem hemostazy a miażdżycą

HEMOSTAZA

Hemostazę uzyskuje się za pośrednictwem procesów, które obejmują płytki krwi, krzepnięcie oraz szlaki przeciwzakrzepowe i fibrynolityczne, wspierających dynamiczną równowagę zapewniającą właściwy przepływ krwi [7,8]. Te procesy wyewoluowały w celu utrzymania krwi w stanie płynnym w warunkach fizjologicznych oraz zatrzymywania krwawień po uszkodzeniu naczyń [9-15] (ryc. 1A, B). Zaburzenie tej dobrze regulowanej równowagi prowadzi do stanów patologicznych, takich jak zakrzepica i krwawienia.

ODPOWIEDZI MOLEKULARNE I KOMÓRKOWE W NACZYNIACH

Działania ukierunkowane na geny, które kodują różne czynniki hemostatyczne, oraz ich wpływ na zakrzepicę tętniczą *in vivo* były przedmiotem wielu badań (tabela znajduje się w dodatku uzupełniającym dostępnym z pełnym tekstem tego artykułu na stronie internetowej NEJM.org). Wiele danych eksperymentalnych wskazuje na rolę różnych składników błony płytek i układu krzepnięcia w regulacji progresji zmian miażdżycowych. Uważa się, że oprócz tradycyjnej roli w hemostazie płytki krwi odgrywają ważną rolę w stanach związanych z zapaleniem, takich jak miażdżycy [16]. Wskazywano ponadto na rolę wielu białek układu krzepnięcia w takich procesach, jak uszkodzenie bariery śródbłonkowej, stres oksydacyjny, rekrutacja leukocytów, zapalenie, migracja i proliferacja komórek

mięśni gładkich naczyń, odpowiedzi immunologiczne, apoptoza płytek i innych komórek, a także angiogeneza [17,18]. Niektóre z tych działań, najczęściej zależne od kompleksu czynnika tkankowego i czynnika VIIa, czynnika Xa oraz trombiny, obejmują aktywację receptorów aktywowanych przez proteazy (protease-activated receptors, PAR) typu 1, 2, 3 i 4, które są sprzężone z białkami G. Receptory PAR występują powszechnie na powierzchni komórek naczyń w warunkach prawidłowych, a ich ekspresja zwiększa się w trakcie tworzenia się zmian miażdżycowych [19].

PŁYTKI KRWI — KOMÓRKOWY ŁĄCZNIK MIĘDZY HEMOSTAZĄ A MIAŻDŻYCĄ

W pionierskich badaniach udokumentowano ważną rolę płytek w eksperymentalnych modelach aterogenezy [20,21]. Płytki wywierają wiele działań sprzyjających tworzeniu się zmian miażdżycowych i stanowią łącznik między hemostazą, wrodzoną odpornością a zapaleniem w miażdżycy [16]. Układowe środowisko zapalne wywołuje, niezależnie od uszkodzenia ściany naczynia, zmianę fenotypu śródbłonna na proaterogenny. Prowadzi to do zwiększenia ekspresji cząsteczek adhezyjnych, takich jak selektyny P i E. Pierwotnym mechanizmem adhezji płytek do powierzchni uszkodzonego śródbłonna naczyniowego jest wiązanie czynnika von Willebranda z jego receptorem, płytkową glikoproteiną I β a, natomiast trwała adhezja jest uzyskiwana za pośrednictwem integrin β_3 . Po związaniu z powierzchnią ściany naczynia płytki wydzielają również mediatory aterogenezy, takie jak cytokiny, chemokiny, czynniki wzrostowe, cząsteczki adhezyjne i czynniki krzepnięcia. Zwiększenie ekspresji selektyny P na powierzchni zarówno płytek, jak i komórek śródbłonna zwiększa interakcje z glikoproteinowym ligandem selektyny P typu 1, który ulega ekspresji na powierzchni błon komórkowych leukocytów. Wiązanie płytek z krążącymi leukocytami (monocytami i granulocytami obojętnochłonnymi), komórkami dendrytycznymi i komórkami progenitorowymi prowadzi do powstawania agregatów komórek, które podtrzymują dalszą aktywację, adhezję i transmigrację leukocytów — procesy uważane za krytyczne dla powstawania i rozwoju blaszek miażdżycowych (ryc. 2) [22-29].

UKŁAD KRZEPNIĘCIA PODCZAS ROZWOJU BLASZEK MIAŻDŻYCOWYCH

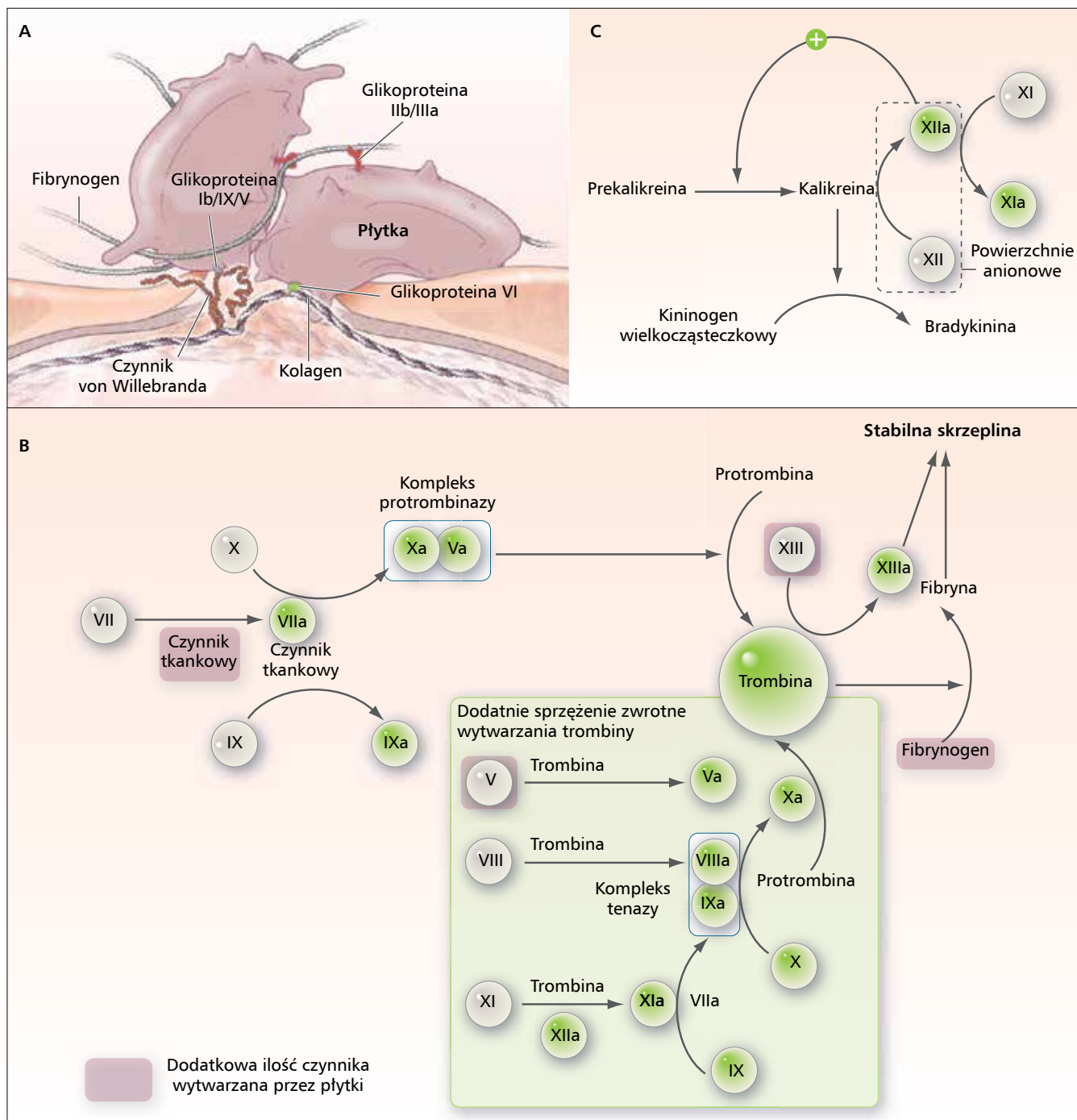
W ludzkich zmianach miażdżycowych stwierdzono lokalną syntezę kilku aktywnych białek układu krzepnięcia, co wskazuje na istnienie aktywnej komórkowej sieci krzepnięcia. Na rolę tych białek układu krzepnięcia w aterogenezie wskazuje zwiększona aktywność wytwarzania trombiny we wczesnych zmianach miażdżycowych w porównaniu ze stabilnymi, zaawansowanymi zmianami [30]. Potwierdzeniem tych obserwacji są dane eksperymentalne [31] i badanie kliniczne, w którym

wykazano, że z wytwarzaniem trombiny w osoczu uzyskanym od pacjentów ze zwężeniem tętnicy szyjnej wiąże się większa echogeniczność blaszek, czyli większa zawartość struktur włóknistych, a nie ich mała echogeniczność, czyli „echoprzejrzystość”, która charakteryzuje blaszki bogatolipidowe, o większej zawartości komórek zapalnych i z cieńszą otoczką włóknistą [32]. Duże ilości czynników krzepnięcia w naczyniach z wczesnymi zmianami miażdżycowymi oraz miejscowe wytwarzanie trombiny lub fibryny można przypisywać pierwotnym mechanizmom ochrony przed uszkodzeniem naczyń. Utrzymujące się środowisko zapalne w ścianie tętnicy, wspomagane częściowo przez działania zależne od krzepnięcia, może jednak podtrzymywać miejscowe wytwarzanie trombiny, co ostatecznie zamyka błędne koło procesów patofizjologicznych, przyczyniając się do powstawania skrzeplin wewnątrz blaszek miażdżycowych [33,34] i prowadząc do niestabilności blaszki.

Szlak czynnika tkankowego (szlak zewnętrzny)

Czynnik tkankowy jest przezbłonowym receptorem cytokinowym klasy II, który uważa się za główny fizjologiczny inicjator kaskady krzepnięcia [8]. Czynniki tkankowy jest również niezbędny do fizjologicznego rozwoju naczyń. U myszy niedobór czynnika tkankowego wiąże się z dużą śmiertelnością zarodków i upośledzeniem integralności naczyń. Rozkład czynnika tkankowego w różnych komórkach w ścianie naczynia jest zróżnicowany. W warunkach fizjologicznych w prawidłowych naczyniach krwionośnych wewnętrzna wyściółka śródbłonna nie wykazuje ekspresji czynnika tkankowego, natomiast w sąsiednich warstwach, składających się z komórek mięśni gładkich naczyń, fibroblastów przydanki i pericytów, następuje synteza znacznych ilości czynnika tkankowego. To swoiste umiejscowienie czynnika tkankowego w naczyniach przypisuje się zasadniczo jego roli w zapobieganiu krwawieniom po uszkodzeniu naczynia, co określa się również mianem „otoczki hemostatycznej” [35].

W blaszce miażdżycowej czynnik tkankowy znajduje się głównie w makrofagach, komórkach mięśni gładkich naczyń i resztkach komórkowych pozostałych po rozpadzie komórek piankowatych wewnątrz martwiczonego jądra blaszki [30,36-38]. Aktywność czynnika tkankowego jest istotnie większa w materiale pobranym ze zmian miażdżycowych u pacjentów z niestabilną dławicą piersiową lub zawałem mięśnia sercowego niż u pacjentów ze stabilną postacią choroby układu krążenia [39-41], co wskazuje na rolę tego białka układu krzepnięcia w trombogenności blaszek miażdżycowych. Czynniki VII również ulega ekspresji pozawątrobowej w prawidłowych oraz zmienionych miażdżycowo naczyniach krwionośnych i znajduje się razem z czynnikiem tkankowym w makrofagach i komórkach mięśni



gładkich naczyń [30]. Oprócz właściwości odgrywających rolę w kaskadzie krzepnięcia kompleks czynn timer tkankowego i czynn timer VIIa jest wielofunkcyjny i stymuluje szlaki sygnałowe w komórkach, transkrypcję genów i w rezultacie syntezę białek. Niezbędnym ogniwem szlaków sygnałowych indukowanych przez kompleks czynn timer tkankowego i czynn timer VIIa jest aktywacja receptora PAR-2. Szlaki te mogą uruchamiać kilka procesów proaterogennych, takich jak chemotaksja monocytów i fibroblastów, zapalenie, migracja i proliferacja komórek mięśni gładkich naczyń (przebudowa naczyń),

angiogeneza (która przyczynia się do destabilizacji blaszek), indukcja stresu oksydacyjnego w makrofagach i apoptoza (ryc. 3) [42]. Co zaskakujące, zmniejszenie ekspresji czynn timer tkankowego nie wpływa na progresję miażdżycy u transgenicznych myszy [43].

Dostępnych jest niewiele danych klinicznych dotyczących roli kompleksu czynn timer tkankowego i czynn timer VIIa w progresji miażdżycy. Stężenie antygeny czynn timer tkankowego w osoczu, modulowane przez znane polimorfizmy genu czynn timer tkankowego, wykazuje dodatni związek z ryzykiem zgonu z przyczyn

RYCINA 1 (na stronie obok). Udział płytek i czynników krzepnięcia w regulacji powstawania skrzepliny.

[A] Przedstawia adhezję i agregację płytek, od której rozpoczyna się zakrzepica na podłożu miażdżycy, kiedy dojdzie do uszkodzenia śródbłonka lub pęknięcia blaszki miażdżycowej. Proces ten wyzwała przemijające neurohumoralne mechanizmy naczynioskurczowe, które są wzmacniane przez uwalnianie czynników pochodzących ze śródbłonka, takich jak endotelina. Receptory znajdujące się w błonie płytek, glikoproteiny Ib/IX/V i VI, wiążą płytki z odsłoniętymi trombogennymi białkami podśródbłonkowymi, czynnikiem von Willebranda i kolagenem. Glikoproteina VI generuje ponadto sygnały wewnątrzkomórkowe, które są mediatorami adhezji i agregacji płytek przez aktywację receptorów integrynowych, takich jak glikoproteina Ia/IIa i IIb/IIIa, a ta ostatnia służy również jako receptor fibrynogenu. Te zjawiska molekularne przyczyniają się ostatecznie do powstania pierwotnego czopa hemostatycznego [10]. [B] Szlak czynnika tkankowego (zewnątrzpochodny), w którym czynnik tkankowy, główny inicjator krzepnięcia, zostaje odsłonięty w miejscu erozji lub pęknięcia blaszki miażdżycowej. Czynnikiem tkankowym tworzy kompleks katalityczny z czynnikiem VIIa, który następnie aktywuje czynniki IX i X. Aktywne czynniki X i V tworzą tak zwany kompleks protrombiny, który sprzyja enzymatycznemu trawieniu protrombiny i powstawaniu małych ilości trombiny [11]. Trombina jest głównym enzymem krzepnięcia o plejotropowym działaniu [12], który nie tylko przekształca fibrynogen w fibrynę, ale również odgrywa zasadniczą rolę w aktywacji płytek i czynnika XIII, który z kolei indukuje polimeryzację fibryny, proces o zasadniczym znaczeniu dla wytworzenia stabilnej skrzepliny. Ponadto dzięki dalszej aktywacji czynników V, VIII i XI w mechanizmie dodatniego sprzężenia zwrotnego trombina odgrywa zasadniczą rolę w fazach amplifikacji i propagacji krzepnięcia. Powierzchnia aktywowanych płytek również jest ważnym katalizatorem kaskady krzepnięcia. Płytki aktywnie uczestniczą w procesie krzepnięcia, dostarczając dodatkowych ilości czynnika tkankowego, czynnika V, fibrynogenu i czynnika XIII, które pochodzą z różnych miejscowych źródeł (fibrynogen oraz czynniki V i XIII są magazynowane w ziarnistościach α) [13], a także ułatwiając bezpośrednią aktywację czynnika XI przez trombinę oraz późniejszą aktywację czynnika IX na powierzchni płytek. Czynnikiem IXa tworzy z czynnikiem VIIIa tzw. kompleks tenazy, inicjując dodatkowe wytwarzanie trombiny, które jest niezbędne do wytworzenia wystarczających ilości fibryny i uszczelnienia ubytku w ścianie naczyniowej. [C] Szlak aktywacji kontaktowej (wewnątrzpochodny), którego nie uważa się za niezbędny do ochrony przed krwawieniami *in vivo*, mimo że jego elementy składowe mogą uczestniczyć w patogenezie zakrzepicy tętniczej [14]. Kontakt prekalikreiny osoczowej, kininogenu wielkocząsteczkowego oraz czynników XI i XII z powierzchniami anionowymi [15] powoduje przekształcenie prekalikreiny w kalikreinę, która aktywuje czynnik XII, przekształcając go w czynnik XIIa, ale również trawi kininogen wielkocząsteczkowy, co prowadzi do uwolnienia mediatora zapalenia i rozkurczu naczyń, bradykininy. Czynnikiem XIIa aktywuje czynnik XI i sprzyja dalszemu przekształcaniu prekalikreiny w kalikreinę, powodując zwrotną amplifikację tego szlaku kaskady krzepnięcia. Ta sekwencja reakcji proteolitycznych prowadzi do aktywacji czynnika IX, który ostatecznie trawi czynnik X z wytworzeniem jego aktywnej postaci i w ten sposób oba szlaki krzepnięcia zbiegają się. Szare okręgi oznaczają nieaktywne postaci białek układu krzepnięcia, a zielone ich aktywne postaci.

sercowo-naczyniowych [44] i zwiększoną grubością błony wewnętrznej i środkowej w tętnicach szyjnych [45], którą uważa się za wskaźnik subklinicznej miażdżycy. Podobną zależność między czynnikiem VII a zwiększoną grubością błony wewnętrznej i środkowej udokumentowano zarówno u młodych zdrowych dorosłych, jak i u pacjentów z chorobą tętnic obwodowych [46,47].

Wspólny szlak krzepnięcia

PLEJOTROPOWE DZIAŁANIA CZYNNIKA Xa

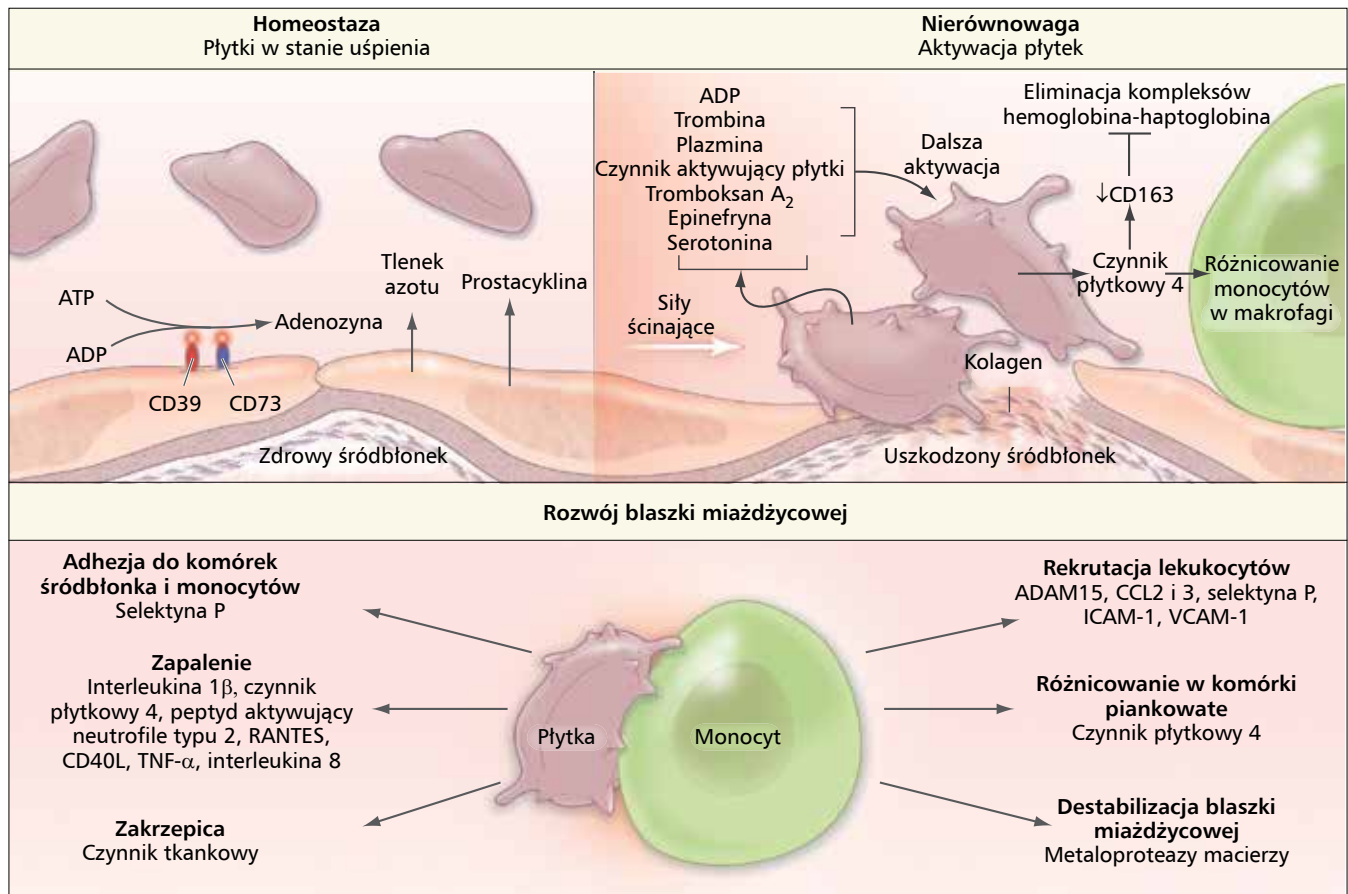
Po aktywacji czynnik Xa inicjuje wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe w różnych komórkach układu krążenia, którym mediatorem jest najczęściej receptor PAR-2 lub też kiedy czynnik Xa występuje w trójskładnikowym kompleksie z czynnikiem tkankowym i czynnikiem VIIa, zarówno receptor PAR-1, jak i receptor PAR-2 [17]. Receptory PAR-1, PAR-2 lub oba te typy występują w dużych ilościach na powierzchni komórek śródbłonka, leukocytów, komórek mięśni gładkich naczyń, fibroblastów i komórek dendrytycznych. Szlaki sygnałowe zależne od czynnika Xa i aktywowane z udziałem receptorów PAR przyczyniają się do wytwarzania cytokin o działaniu prozapalnym, w tym interleukin 6 i 8 oraz ligandu chemokiny CC (zawierającej motyw C-C) typu 2 (chemokine [C-C motif] ligand 2, CCL2), a także ekspresji cząsteczek adhezyjnych, w tym selektyny E, cząsteczki adhezji międzykomórkowej typu 1 (ICAM-1) oraz cząsteczki adhezyjnej komórek naczyniowych typu 1 (VCAM-1), jak również zwiększenia wytwarzania czynnika tkankowego, proliferacji komórek mięśni gładkich naczyń oraz uwalniania czynników wzrostu (czynnik wzrostu śródbłonka

naczyniowego, płytkopochodny czynnik wzrostu i transformujący czynnik wzrostu typu β) [17]. Wszystkie te procesy mogą przyczyniać się do rozwoju blaszek miażdżycowych, wiążąc się z zapaleniem, transmigracją leukocytów, restenozą i angiogenezą (ryc. 3). Warto zauważyć, że ukierunkowane podawanie nieswoistych inhibitorów czynnika Xa (heparyna niefrakcjonowana i heparyny drobnocząsteczkowe) połączonych z przeciwciałem przeciwko fibrynie zmniejszało przebudowę naczyń i powstawanie nowej błony wewnętrznej (neointima) [48].

TROMBINA

Trombina jest unikalną proteazą serynową, która odgrywa kluczową rolę w krzepnięciu, i może wywierać różny wpływ na inne układy (np. odpornościowy, nerwowy, przewód pokarmowy i układ mięśniowo-szkieletowy). Dzięki interakcji i proteolitycznej aktywacji bezpośrednich celów komórkowych (receptory PAR typu 1, 3 i 4) trombina jest ściśle powiązana z regulacją stanów fizjologii i patofizjologii naczyń (ryc. 3) [51]. Trombina jest przykładem cząsteczki wywierającej różne działania i mającej w związku z tym różne właściwości fizjologiczne. Przez wiązanie z trombomoduliną trombina sprzyja przekształcaniu białka C w aktywne białko C, cząsteczkę o silnym działaniu przeciwzakrzepowym i przeciwzapalnym. Trombina może także zmniejszać uwalnianie interleukiny 12 i zwiększać wytwarzanie interleukiny 10 w monocytach, indukując w ten sposób działania immunosupresyjne i przeciwzapalne. Trombina może również odgrywać rolę w prawidłowej regulacji naczynioruchowej [18].

Eliminacja trombomoduliny ze śródbłonka w czasie powstawania blaszek miażdżycowych umożliwia trombinie



RYCINA 2. Udział płytek w aterogenezie.

W nieuszkodzonym śródbłonce dochodzi do ekspresji CD39 (ekto-ATP-aza) i CD73 (ekto-5'-nukleotydaza), które indukują rozpad działających prozakrzepowo cząsteczek 5'-trifosforanu adenozy (ATP) i difosforanu adenozy (ADP) z wytworzeniem działającej głównie przeciwzapalnie adenozy, zapobiegając w ten sposób aktywacji i agregacji płytek. Zdrowy śródbłonek wydziela również substancje o działaniu naczyniorozkurczowym, takie jak prostacyklina i tlenek azotu, które silnie przeciwdziałają adhezji i agregacji płytek. W momencie aktywacji następuje znaczna zmiana kształtu płytek, które natychmiast uwalniają różne mediatory działające autokrynnie i parakrynnie, takie jak ADP, epinefryna (adrenalina) i tromboksan A₂. Badania, w których oceniano, jak płytki kierują tymi bardzo zróżnicowanymi działaniami aterogennymi, pozwoliły lepiej zrozumieć mechanizmy leżące u ich podłoża. Wiele uwagi poświęcano układom cząsteczek cytokinopodobnych i chemokin, takich jak diada CD40 i ligandu CD40 (CD40L), chemokina CCL5 (Regulated on Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted, RANTES) oraz czynnik płytkowy 4 [23,24]. Czynniki płytkowy 4 wspomaga różnicowanie monocytów w makrofagi oraz zmniejsza ekspresję chroniącego przed rozwojem miażdżycy receptora CD163, który odpowiada za eliminację kompleksów hemoglobiny i haptoglobiny. U transgenicznych myszy pozbawionych czynnika płytkowego 4 progresja miażdżycy jest zmniejszona. Co więcej, CD40 i jego ligand, CD40L, które należą do rodziny receptora i ligandu czynnika martwicy nowotworów, ulegają powszechnej ekspresji w ścianie naczyniowej (np. w komórkach śródbłonna, komórkach mięśni gładkich naczyń i fibroblastach) oraz w kilku komórkach układu odpornościowego (monocytach lub makrofagach, granulocytach obojętnochłonnych, komórkach tucznych, limfocytach T i B oraz komórkach dendrytycznych) [25]. Złożony zakres działań prozapalnych i immunomodulujących oraz właściwości prozakrzepowych [26] powoduje, że układ CD40-CD40L odgrywa integralną rolę w aterogenezie. Te obserwacje przemawiają za słusnością hipotezy, że płytki są ważnymi czynnikami prozapalnymi, które wchodzi w wielokierunkowe interakcje z innymi komórkami i bezpośrednio uczestniczą we wczesnym stadium rozwoju zmian miażdżycowych. Płytki są pierwotnymi mediatorami odporności adaptacyjnej i wrodzonej [27]. Działania ukierunkowane na chemokiny płytek wydają się więc nieodpowiednie pod względem terapeutycznym w kontekście miażdżycy ze względu na znaczne upośledzenie wielu układowych odpowiedzi immunologicznych, które mogłyby spowodować karcynogenezę [28,29]. ADAM15 – białko typu 15 zawierające domenę metalopeptydazy ADAM, CCL2/3 – ligand chemokiny CC (zawierającej motyw C-C) typu 2/3, ICAM – cząsteczka adhezji międzykomórkowej typu 1, TNF-α – czynnik martwicy nowotworów typu α, VCAM-1 – cząsteczka adhezyjna komórek naczyniowych typu 1.

nasilenie procesów aterogennych, takich jak dysfunkcja śródbłonna i uszkodzenie bariery śródbłonkowej, stres oksydacyjny, apoptoza, zapalenie (zwiększenie ekspresji cytokin lub chemokin), aktywacja płytek i leukocytów, rekrutacja leukocytów, migracja i proliferacja komórek mięśni gładkich naczyń oraz angiogeneza, co wskazuje na ważną rolę trombiny w patogenezie chorób układu krążenia [18]. Trombina, czynnik Xa, XIa, IXa i plazmina wykazują również aktywność enzymatyczną, trawiąc składniki dopełniacza C3 oraz C5 i w ten sposób przekształcając je w ich postaci aktywne [52]. Wiadomo, że składniki dopełniacza C3 i C5 indukują zapalenie i działają chemotaktycznie na komórki zapalne. W zmianach miażdżycowych w ludzkich tętnicach wieńcowych stwierdza się zwiększoną ekspresję receptorów anafilatoksyn C3aR i C5aR w porównaniu ze zdrowymi naczyniami. Receptory te są umiejscowione głównie na makrofagach, ale znajdują się również na powierzchni komórek śródbłonna, komórek mięśni gładkich naczyń w błonie wewnętrznej, limfocytów T i komórek tucznych. W sumie dane te wskazują na nową płaszczyznę interakcji między krzepnięciem a zapaleniem w miażdżycy.

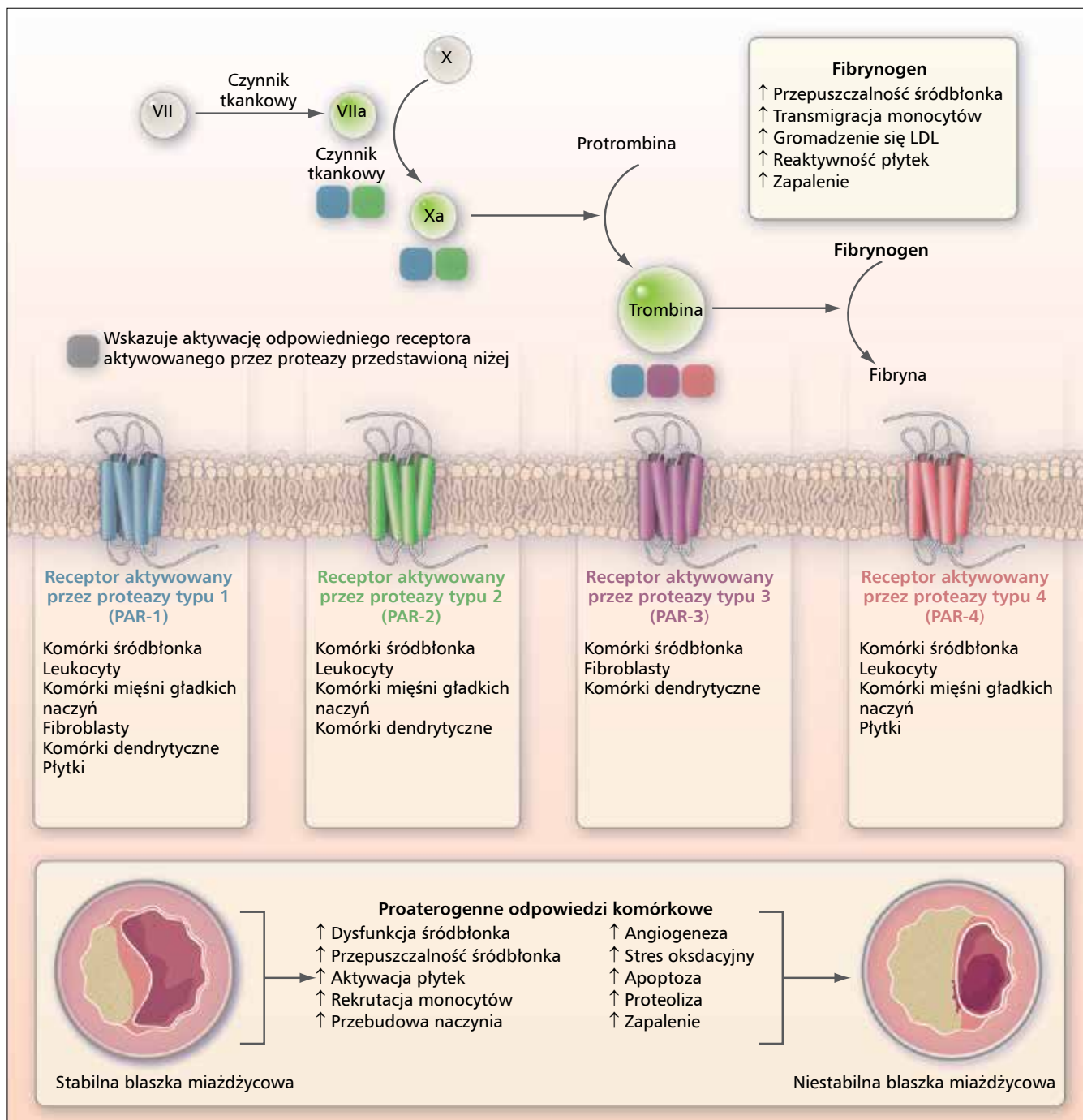
Podawanie swoistych inhibitorów trombiny ogranicza restenozę po angioplastyce u królików z miażdżycą [53,54]. Inne dowody wskazujące na znaczenie tych działań *in vivo* pochodzą z badania przeprowadzonego u myszy genetycznie pozbawionych apolipoproteiny E, w którym wykazano, że bezpośredni inhibitor trombiny, melagatran, ogranicza progresję miażdżycy i poprawia stabilność blaszek miażdżycowych przez hamowanie prozapalnych czynników transkrypcyjnych i zmniejszenie syntezy metaloproteaz macierzy [55]. U myszy z niedoborem czynnika VIII i apolipoproteiny E stwierdzono ponadto istotnie mniej nasilone zmiany miażdżycowe niż u myszy z grupy kontrolnej, mimo że hiperlipidemia była u nich bardziej nasiloną [56]. Nadkrzepliwość natomiast powiązano z progresją miażdżycy w badaniach na myszach, w których wykazano, że homozygotyczne występowanie mutacji Leiden czynnika V, znanej mutacji o działaniu prozakrzepowym, sprzyja aterogenezie [57]. W niedawnym badaniu wykazano jednak narastanie blaszek miażdżycowych u myszy wykazujących skłonność do zakrzepicy, co wskazuje na to, że stan nadkrzepliwości przyczynia się do bardziej stabilnego fenotypu blaszek [31]. Wyniki te pozwalają sądzić, że układ hemostazy wywiera różny wpływ na naczynia i przez działanie różnych regulatorów może ostatecznie przyczynić się do ukształtowania fenotypu blaszek miażdżycowych.

Dowody kliniczne w tej kwestii pozostają niejednoznaczne. Mimo że prozakrzepowe warianty genetyczne nie zostały jednoznacznie powiązane z progresją chorób układu krążenia u pacjentów [44], dane kliniczne wskazują na dodatnią zależność między wskaźnikami wytwarzania trombiny a nasileniem zmian miażdżycowych [58,59]. Nie wykazano, aby małe stężenie czynnika VIII u pacjentów z hemofilią chroniło przed rozwojem

miażdżycy [44], natomiast dane kliniczne wskazują, że zwiększone stężenie czynnika VIII sprzyja chorobom układu krążenia [60]. W osoczu czynnik VIII krąży w kompleksie z czynnikiem von Willebranda, który moduluje aktywność czynnika VIII w krążeniu. Ponieważ u myszy z niedoborem czynnika von Willebranda blaszek miażdżycowych jest istotnie mniej niż u myszy w grupie kontrolnej, czynnik von Willebranda również może odgrywać pewną rolę w rozwoju miażdżycy [61]. Podobnie jak dane na temat czynnika VIII i innych proteaz układu krzepnięcia, również kliniczne dane na temat związku między czynnikiem von Willebranda a chorobami układu krążenia są niespójne [44,60]. W celu wyjaśnienia tych zależności potrzeba więcej danych eksperymentalnych i klinicznych.

FIBRYNOGEN, FIBRYNA I CZYNNIK XIII

W badaniach klinicznych obserwuje się silne zależności między zwiększonym stężeniem fibrynogenu a ryzykiem chorób układu krążenia, co wskazuje na to, że hiperfibrinogenemia jest niezależnym czynnikiem predykcyjnym incydentów naczyniowych [62]. Jednoznacznie też udokumentowano umiejscowienie fibrynogenu i produktów degradacji fibryny w zmianach miażdżycowych w trakcie ich progresji [63,64]. Zwiększone stężenie fibrynogenu w osoczu, ważnego czynnika wpływającego na ilość wytwarzanej trombiny [65], jest ściśle powiązane ze zwiększeniem nasilenia zwapnień w tętnicach wieńcowych oraz większą grubością błony wewnętrznej i środkowej – wskaźnikami przedwczesnej miażdżycy [66]. Z perspektywy komórkowej i molekularnej fibrynogen może wpływać na fenotyp blaszek miażdżycowych za pośrednictwem kilku różnych mechanizmów: sprzyjając przepuszczalności komórek śródbłonna, zewnątrzkomórkowemu gromadzeniu się cholesterolu LDL oraz powstawaniu komórek piankowatych, indukując migrację monocytów i komórek mięśni gładkich naczyń, zwiększając reaktywność lub agregację płytek, a także nasilając zapalenie (ryc. 3) [67]. W badaniach przeprowadzonych na zwierzętach uzyskano rozbieżne wyniki dotyczące roli fibrynogenu w miażdżycy, ponieważ niektóre badania wskazują na to, że niedobór fibrynogenu u transgenicznych myszy wiąże się z przyspieszeniem aterogenezy zależnym od trombiny [68], natomiast w innych badaniach wykazano, że niedobór fibrynogenu nie jest koniecznym warunkiem powstawania zaawansowanych blaszek miażdżycowych [69]. Zwiększone stężenie D-dimerów w osoczu również wiąże się z bardziej nasilonym zapaleniem i zwiększoną zapadalnością na choroby układu krążenia i uważa się je za biomarker zakrzepicy na podłożu miażdżycy [70]. Wpływ produktów degradacji fibryny na fenotyp ściany naczyniowej jest jednak mniej jasny. Mimo że wyniki jednego z badań wskazują na to, że cząsteczki D-dimerów sprzyjają proaterogennemu fenotypowi ludzkich monocytów [71], w innych badaniach wykazano, że



RYCINA 3. Rola niehemostatycznych działań wywołanych przez czynnik tkankowy oraz wspólnych szlaków aktywacji w modulacji fenotypu ściany tętniczej.

Trombina, czynnik Xa oraz kompleks czynnika tkankowego i czynnika VIIa mogą aktywować receptory aktywowane przez proteazy, które ulegają powszechnej ekspresji na powierzchni komórek śródbłonna, leukocytów, komórek mięśni gładkich naczyń, fibroblastów, komórek dendrytycznych i płytek, co prowadzi do wielu działań proaterogennych. Szare okręgi oznaczają nieaktywne postacie białek układu krzepnięcia, a zielone ich postacie aktywne. LDL – lipoproteiny o małej gęstości.

fragmenty D i fragmenty E mogą zapobiegać proliferacji komórek mięśni gładkich naczyń *in vitro* [72].

Z aterogenezą może być też powiązany jeszcze jeden czynnik krzepnięcia, czynnik XIII. Po aktywacji czynnik ten nie tylko wiąże krzyżowo łańcuchy fibryny, co zwiększa stabilność skrzepiny, ale również sprzyja powstawaniu hiperaktywnych dimerów receptora angiotensyny II typu 1, prowadząc do przewlekłej sensytyzacji krążących monocytów i nasilenia miażdżycy [73].

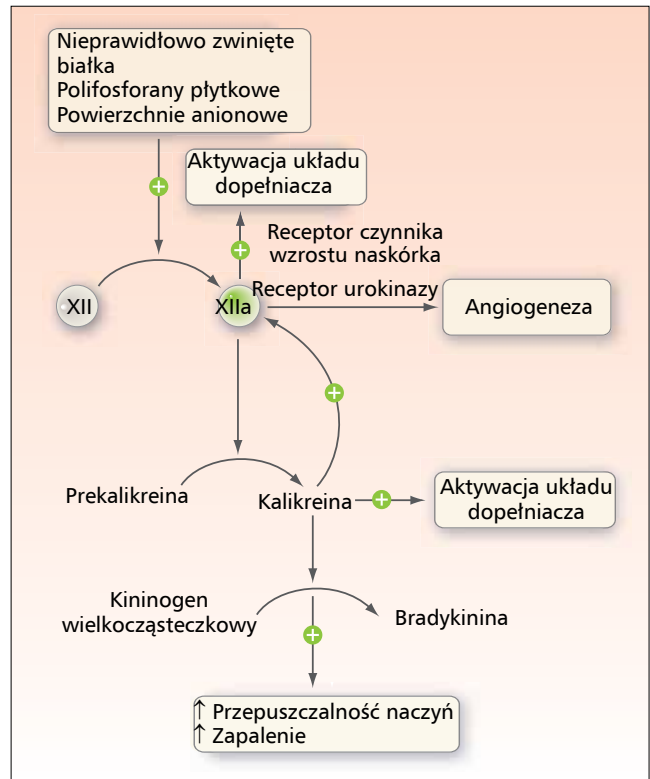
Szlak aktywacji kontaktowej (szlak wewnętrzny)

Uważa się, że szlak aktywacji kontaktowej nie jest niezbędny do hemostazy *in vivo* (ryc. 1C i 4). Może on jednak uczestniczyć w patogenezie zakrzepicy tętniczej [14]. Dane eksperymentalne jednoznacznie dowodzą, że myszy z niedoborem czynnika XII są chronione przed zakrzepicą tętniczą i udarami mózgu [14], jednak w kilku badaniach epidemiologicznych uzyskano niespójne dane na temat zależności między czynnikiem XII a ryzykiem chorób układu krążenia u ludzi [74-76]. Mimo że w tej dziedzinie potrzebne są dodatkowe badania, farmakologiczne hamowanie aktywacji czynnika XII stanowi potencjalny cel terapii [77,78], zwłaszcza że dziedziczny niedobór czynnika XII nie wiąże się ze szkodliwą ani innymi patologicznymi stanami.

Na poziomie molekularnym czynnik XII wpływa na różne procesy, głównie za pośrednictwem osoczowego układu kalikreina-kinina [79]. Zależne od czynnika XII wytwarzanie bradykininy nie tylko reguluje rozkurcz i przepuszczalność naczyń, ale również aktywuje układ dopełniacza i układ fibrynolityczny, aktywując składniki dopełniacza C3 i C5 oraz ułatwiając syntezę tkankowego aktywatora plazminogenu w komórkach śródbłonna, podczas gdy kalikreina aktywuje aktywator plazminogenu typu urokinazowego i plazminogen. Płytkopochodne polifosforany nieorganiczne [80] oraz nieprawidłowo zwinięte białka, które występują w dużych ilościach w zmienionych miażdżycowo tętnicach [81], również mogą aktywować czynnik XII, prowadząc do wytwarzania kalikreiny bez inicjowania krzepnięcia [82]. Stężenie kalikreiny w tkankach i prekalikreiny w osoczu wiąże się z nasileniem chorób układu krążenia [83,84] i stwierdzono, że czynniki te mają zasadnicze znaczenie w procesach naprawy naczyń [85]. Biorąc pod uwagę proangiogeny i prozapalny charakter czynnika XII [86] oraz osoczowego układu kalikreina-kinina, przewlekła stymulacja tych odpowiedzi może z czasem sprzyjać proaterogennemu środowisku wewnątrz tętnicemu.

Szlaki przeciwzakrzepowe w zapaleniu w układzie naczyniowym

Inhibitor szlaku czynnika tkankowego (TFPI), który występuje powszechnie w zdrowych tętnicach, ulega na



RYCINA 4. Szlak aktywacji kontaktowej i jego właściwości prozapalne oraz proangiogenne.

Szlak aktywacji kontaktowej odgrywa rolę w różnych procesach fizjologicznych, takich jak regulacja ciśnienia tętniczego, krzepnięcie, fibrynoliza, angiogeneza i zapalenie. Składa się on z czynnika XII, prekalikreiny oraz kininogenu wielkocząsteczkowego. Aktywacja prozapalnych układów kalikreina-kinina i dopełniacza jest wyzwalana przez proteolityczne trawienie czynnika XII (autoaktywacja) w odpowiedzi na kontakt ze sztucznymi lub biologicznymi powierzchniami o ujemnym ładunku elektrycznym. Szare okręgi oznaczają nieaktywne postacie białek układu krzepnięcia, a zielone ich aktywne postacie. Zielone kółka ze znakiem „+” wskazują reakcję typu dodatniego sprzężenia zwrotnego lub indukcję danego procesu.

ogół zwiększonej ekspresji w zmianach miażdżycowych (ryc. 5A) [87]. Mimo że ekspresję TFPI stwierdza się w komórkach śródbłonna, komórkach mięśni gładkich naczyń i makrofagach w otocze włóknistej i obszarach brzeżnych blaszek miażdżycowych, wykazuje on również skłonność do lokalizacji razem z czynnikiem tkankowym, a jego aktywność zmniejsza się w obrębie zmian miażdżycowych [30,96,97]. Ta obserwacja wskazuje na rolę TFPI nie tylko w regulacji aktywności prozakrzepowej czynnika tkankowego, ale również w kontroli proaterogennych szlaków sygnałowych indukowanych przez czynnik tkankowy. Podawanie rekombinowanego czynnika tkankowego zmniejszało nasilenie zapalenia i częstość zgonów w modelu zwierzęcym przez ograniczenie ekspresji czynnika martwicy nowotworów typu α (TNF- α), chemokin oraz mieloperoksydazy [88]. Co więcej, TFPI jest silnym inhibitorem metaloproteaz macierzy, które uważa się za odgrywaćce ważną rolę w destabilizacji blaszek i powikłaniach miażdżycowo-zakrzepowych. Zmniejszenie

ekspresji TFPI wiąże się ze zwiększeniem syntezy metaloproteaz macierzy w blaszkach miażdżycowych o fenotypie podatnym na destabilizację. Stwierdzono ponadto, że TFPI hamował migrację komórek śródbłonna i angiogenezę u myszy. W kilku badaniach na zwierzętach wykazano, że TFPI zmniejsza hiperplazję nowej błony wewnętrznej i ogranicza występowanie zwężeń, ale również hamuje uwalnianie proaterogennego płytkopochodnego czynnika wzrostu typu BB, CCL2 oraz metaloproteazy macierzy typu 2 [98-101]. Zgodne z tymi wynikami są obserwacje, że u myszy z niedoborem TFPI stwierdza się istotnie więcej blaszek miażdżycowych niż u myszy z grupy kontrolnej [102], natomiast ukierunkowane na naczynia zwiększenie ekspresji TFPI wydaje się regulować eliminację lipoprotein i czasowo zmniejszać stężenie cholesterolu w osoczu, ograniczając również rozwój blaszek miażdżycowych [103]. Dane kliniczne wskazują, że stężenie TFPI w osoczu jest wskaźnikiem dysfunkcji śródbłonna. Duże stężenie wolnego i całkowitego TFPI wiąże się ze zwiększonym nasileniem zmian miażdżycowych i zwągnięciami w tętnicach wieńcowych [104,105], natomiast małe stężenie całkowitego TFPI wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zakrzepicy na podłożu miażdżycy [106,107].

Oprócz właściwości przeciwwakrzepowych szlak białka C jest znany z ochronnego wpływu na profil ekspresji genów w naczyniach, obejmującego m.in. odpowiedzi przeciwapoptotyczne i przeciwzapalne, a także stabilizującego oddziaływania na barierę śródbłonkową (ryc. 5B) [108]. W badaniach dotyczących miażdżycy wykazano znaczne zmniejszenie miejscowej ekspresji śródbłonkowego receptora białka C i trombomoduliny w zmienionych miażdżycowo naczyniach, co wskazuje na upośledzenie aktywacji białka C i w związku z tym zmniejszenie odpowiedzi antyaterogennej. Za osłabienie przeciwwakrzepowej aktywności białka C w obrębie zmian miażdżycowych może odpowiadać kilka mechanizmów, w tym zwiększona utrata trombomoduliny z dysfunkcyjnego śródbłonna, duża ilość złogów cholesterolu LDL oraz miejscowe zapalenie w obrębie ściany naczyniowej. Wykazano, że zwiększona ekspresja trombomoduliny ogranicza powstawanie nowej błony wewnętrznej u królików [109], natomiast genetyczne upośledzenie funkcji trombomoduliny jako kofaktora aktywującego białko C, zmniejszające wytwarzanie aktywowanego białka C, wiąże się ze zmniejszeniem nasilenia zmian miażdżycowych u myszy [31].

Czynniki określające stężenie rozpuszczalnej trombomoduliny u pacjentów z miażdżycą zostały słabo poznane. Wyniki różnych badań klinicznych, w których oceniano zależność między trombomoduliną a nasileniem zmian miażdżycowych, są niejednoznaczne [110-114]. U małej postępująca miażdżycy wiąże się z upośledzeniem wytwarzania aktywowanego białka C, natomiast po wywołaniu regresji zmian miażdżycowych za pomocą diety stwierdzono zwiększenie odpowiedzi przeciwwakrzepowej

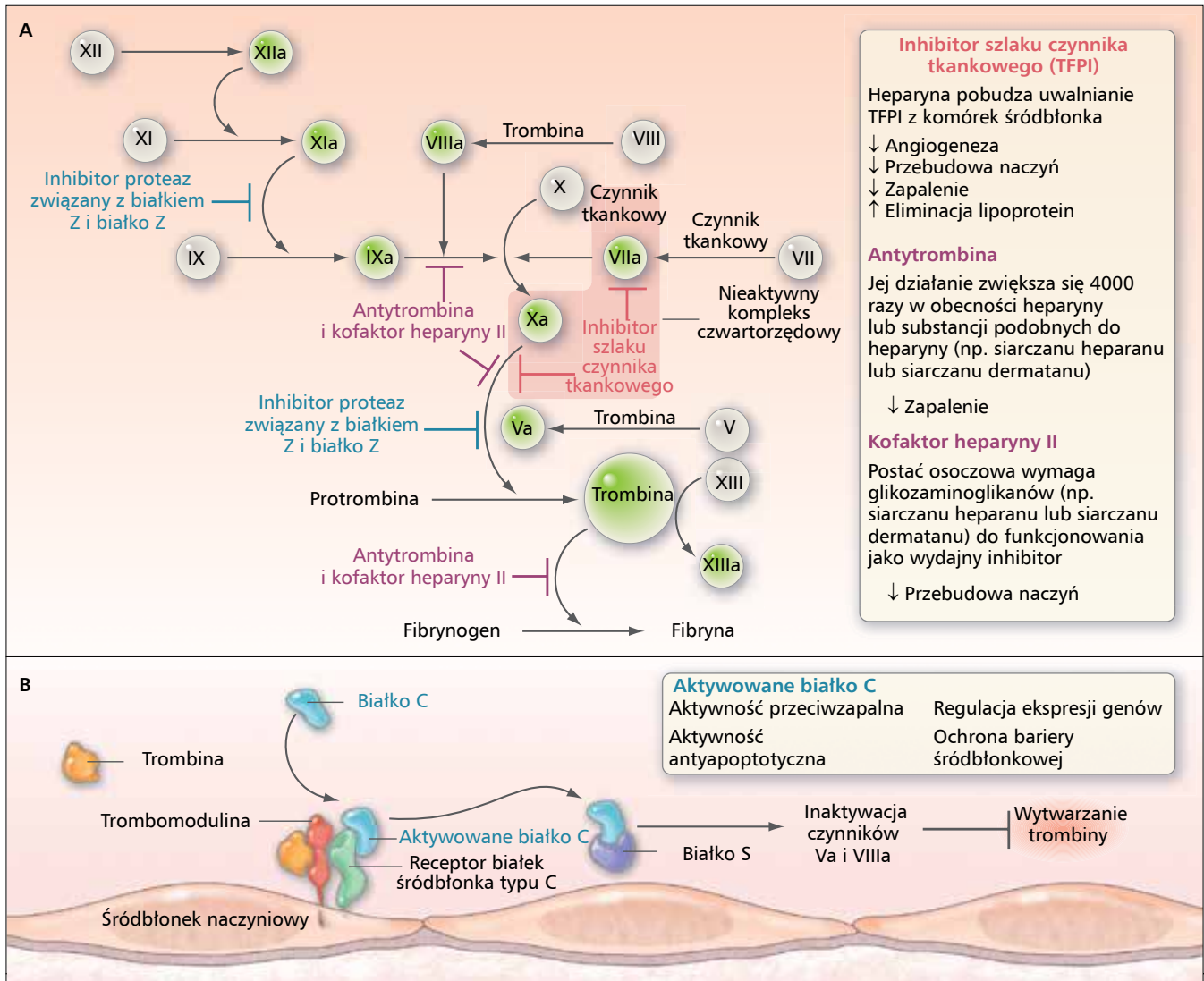
[115]. U myszy z heterozygotycznym niedoborem białka C dochodzi do nasilenia ogniskowego zapalenia i skłonności do powstawania skrzepliny w tętnicach, co prowadzi do zwiększonego wytwarzania nowej błony wewnętrznej i ograniczonej zakrzepicy. Zgodne z tymi obserwacjami są wyniki kilku badań klinicznych, w których potwierdzono istotny związek między małym stężeniem krążącego aktywowanego białka C a większą rozległością lub nasileniem miażdżycy [117-119].

Z kolei białko S, które opisano jako czynnik wiążący hemostazę, zapalenie i apoptozę, tworzy kompleks z regulatorem układu dopełniacza i ważnym inhibitorem jego klasycznej drogi aktywacji, białkiem wiążącym składnik dopełniacza C4b, powodując jego umiejscowienie na powierzchni komórek ulegających apoptozie [120] i w ten sposób sprzyjając fagocytarnej aktywności makrofagów [121]. Co ciekawe, białko S istotnie hamuje ekspresję receptora zmiatającego typu A w makrofagach oraz ogranicza zależny od tego receptora wychwytywanie acetylowanego cholesterolu LDL, co zmniejsza wewnątrzkomórkową zawartość lipidów w makrofagach [122]. Te działania można w większości przypisywać zdolności białka S do wiązania się z kinazą tyrozynową receptora Mer i wywoływania jej fosforylacji. Białko S odgrywa ponadto rolę w zachowywaniu integralności bariery krew-mózg [123]. W blaszkach miażdżycowych uzyskanych od pacjentów z niestabilną dławicą piersiową ekspresja białka S jest zmniejszona w porównaniu z próbkami uzyskanymi od pacjentów ze stabilną dławicą [124]. Dziedziczny niedobór zarówno białka C, jak i białka S wiąże się ze zwiększeniem częstości występowania tętniczych incydentów zakrzepowo-zatorowych [125] i choroby tętnic obwodowych (ryc. 5B) [89-95,126].

Perspektywy na przyszłość

Hemostaza jest ściśle powiązana z układem naczyniowym anatomicznie i czynnościowo. Coraz więcej danych wskazuje na to, że oprócz niezbędnej roli układu hemostazy w zachowywaniu integralności naczyń i utrzymywaniu prawidłowego przepływu krwi istnieją również ściśle wzajemne zależności między hemostazą a zapaleniem, co podkreśla rolę obu tych układów w wielu złożonych chorobach, w tym również zakrzepicy na podłożu miażdżycy. Co ciekawe, w wielu badaniach przeprowadzonych na zwierzętach udokumentowano również ściśle powiązania hemostazy z patofizjologią aterogenezy. Czy ten związek, za którym przemawiają głównie dane eksperymentalne, potwierdzają również obserwacje kliniczne?

Zgodnie z obecną koncepcją podatnej na destabilizację blaszki miażdżycowej powtarzające się mikropęknięcia blaszek, a następnie subkliniczna zakrzepica odgrywają główną rolę we wzroście i destabilizacji zmian miażdżycowych [127-129]. Zgodne z tymi danymi są wyniki badań histopatologicznych, w których wykazano,



RYCINA 5. Szlaki przeciwzakrzepowe i ich właściwości niehemostatyczne.

Regulacja krzepnięcia działa na trzech poziomach: hamowania trombiny, czynnika Xa i czynnika IXa przez antytrombinę, hamowania czynnika Xa oraz kompleksu czynnika tkankowego i czynnika VIIa, a w rezultacie hamowania wytwarzania trombiny przez inhibitor szlaku czynnika tkankowego oraz proteolitycznej inaktywacji czynnika V i czynnika VIII przez aktywowane białko C. [A] Antytrombina jest proteazą serynową, która hamuje główne enzymy układu krzepnięcia, takie jak trombina, czynniki Xa i IXa. Działanie antytrombiny zwiększa się nawet 4000 razy w obecności heparyny lub substancji podobnych do heparyny, takich jak proteoglikan zawierający siarczan heparanu. Wydaje się, że antytrombina wywiera działanie przeciwzapalne [88], o czym świadczy wzrost uwalniania prostacykliny oraz hamowanie szlaku sygnałowego czynnika jądrowego κ B, znanego z indukowania wielu odpowiedzi prozapalnych. Podobne działania, zwiększające stabilność blaszek miażdżycowych *in vivo*, obserwowano po podaniu syntetycznych bezpośrednich inhibitorów trombiny [55]. Antytrombina hamuje rekrutację leukocytów w przebiegu reakcji zapalnej, co wskazuje na jeszcze jedną jej możliwą rolę chroniącą przed miażdżycą. Heparyna pobudza uwalnianie z komórek śródbłonna inhibitora szlaku czynnika tkankowego, który następnie wiąże się z czynnikiem Xa oraz kompleksem czynnika tkankowego i czynnika VIIa, tworząc nieaktywny kompleks czwartorzędowy, a więc również wykazuje wiele działań antyaterogennych. Podobnie jak antytrombina, kofaktor heparyny II wykazuje zdolność inaktywowania trombiny, czynników Xa i IXa, ale osoczowa postać kofaktora heparyny II jest wydajnym inhibitorem tylko w obecności glikozaminoglikanów (np. siarczanu heparanu lub siarczanu dermatanu). Wskazywano na udział kofaktora heparyny II zarówno w przebudowie naczyń, jak i w aterogenezie. U myszy z niedoborem kofaktora heparyny II obserwuje się zwiększoną hiperplazję błony wewnętrznej po uszkodzeniu naczynia [89]. U takich myszy stwierdza się również zwiększenie powstawania nowej błony wewnętrznej i nasilenie aterogenezy w porównaniu z myszami z grupy kontrolnej. Wyniki badań klinicznych są jednak niejednoznaczne, ponieważ niektóre z nich wskazują na to, że kofaktor heparyny II jest silnym czynnikiem predykcijnym mniejszego zaawansowania miażdżycy [90,91], natomiast w jednym badaniu nie stwierdzono jego wartości predykcyjnej [92]. Białko Z jest kofaktorem innego białka, nazwanego inhibitorem proteaz związanym z białkiem Z, które hamuje czynniki Xa i XIa w kaskadzie krzepnięcia. Mimo że rola białka Z oraz inhibitora proteaz związanego z białkiem Z w zapaleniu i rozwoju zmian miażdżycowych jest słabo poznana, w kilku próbach klinicznych wykazano istotną odwrotną zależność między stężeniem tych białek a klinicznym zaawansowaniem miażdżycy [93-95]. [B] Trombina również zachowuje się fizjologicznie jako cząsteczka o działaniu przeciwzakrzepowym. Białko C po związaniu ze śródbłonkowym receptorem białka C jest przekształcane w aktywne białko C przez kompleks aktywujący, który powstaje w wyniku interakcji między trombiną a trombomoduliną. Następnie aktywne białko C odłącza się od śródbłonkowego receptora białka C i powstaje kompleks składający się z aktywowanego białka C i S, który inaktywuje czynniki Va i VIIIa, ograniczając dalsze wytwarzanie trombiny. Szare okręgi oznaczają nieaktywne postaci białek układu krzepnięcia, a zielone ich aktywne postaci.

że dwie trzecie skrzeplin w tętnicach wieńcowych uzyskanych od pacjentów zmarłych nagle z przyczyn sercowo-naczyniowych znajdowało się w późniejszych stadiach dojrzwania, co pozwala sądzić, że skrzeplina może występować na długo przed tym, zanim dochodzi do pęknięcia blaszki [33,34]. Znacznie zmieniły się również współczesne poglądy na proces zakrzepicy na podłożu miażdżycy, ponieważ wykazano nowe funkcje układu hemostazy, które wykraczają poza samą zakrzepicę. W artykule autorzy podsumowali różne potencjalne działania układu hemostazy w odniesieniu do fenotypu zmienionej miażdżycowo ściany naczyniowej, które są zapewne powiązane ze stabilnością blaszek miażdżycowych. Ale czy mają one znaczenie kliniczne?

Leczenie przeciwzakrzepowe, polegające na podawaniu leków przeciwplatek lub przeciwkrzepliwych, ma kluczowe znaczenie w zapobieganiu zakrzepicy na podłożu miażdżycy w różnych sytuacjach klinicznych [130-133]. Rola leczenia przeciwplatekowego w prewencji wtórnej nie jest już kwestionowana, biorąc pod uwagę silne łączne działania takich leków, jak kwas acetylosalicylowy [134]. W metaanalizie prób klinicznych dotyczących prewencji pierwotnej stwierdzono, że stosowanie kwasu acetylosalicylowego wiąże się ze zmniejszeniem ryzyka zawału mięśnia sercowego o ok. 30%, natomiast wpływ tego leku na ryzyko udaru mózgu jest mniejszy [135]. Skuteczność kwasu acetylosalicylowego może wynikać nie tylko z działania przeciwplatekowego, ale częściowo również z jego aktywności przeciwzapalnej [136-138]. Trudno jednak oddzielić udział płytek od tych przeciwzapalnych działań kwasu acetylosalicylowego. Działanie przeciwzapalne i opóźniające rozwój miażdżycy opisywano również w przypadku bardziej selektywnych leków przeciwplatekowych, w tym kłopidogrelu, prasugrelu i tikagreloru, które działają na receptory płytkowe, zmniejszając aktywację płytek [139]. W próbach klinicznych, w których stosowano inhibitory płytek w zapobieganiu progresji miażdżycy, nie uzyskano jednak danych, które wskazywałyby jednoznacznie na ograniczenie rozwoju blaszek miażdżycowych [140].

Doustne leki przeciwkrzepliwie są stosowane od wielu lat z różnych wskazań w leczeniu krótko- i długoterminowym. W badaniach dotyczących heparyny i antagonistów witaminy K wykazano, że krótkoterminowe stosowanie tych leków raczej nie wpływa istotnie na przewlekłe choroby, takie jak miażdżycy [141,142]. Mimo że długoterminowe podawanie antagonistów witaminy K nie miało widocznego wpływu na angiograficzną progresję choroby u pacjentów poddanych operacji pomostowania tętnic wieńcowych, dodatkowa ocena po 3 latach od przerwania leczenia wykazała istotne zmniejszenie umieralności ogólnej w grupie warfaryny o 35% [143]. Biorąc pod uwagę znaczne zmniejszenie ryzyka zakrzepowych incydentów sercowo-naczyniowych, można zakładać, że wpływ ten zależał przynajmniej częściowo od wpływu antagonisty witaminy K na fenotyp

blaszek, a nie na ich wielkość. Jednocześnie głównym naczyniowym działaniem niepożądanym podawania tych leków jest przyspieszenie rozwoju zwapnień. Wpływ ten wynika głównie z bezpośredniego hamowania innych białek zależnych od witaminy K, które znajdują się w ścianie naczynia, w tym białka macierzy Gł. Nie wiadomo, czy nie występują dodatkowe działania wynikające z hamowania wytwarzania trombiny [144,145]. Rola układu hemostazy w rozwoju miażdżycy u ludzi wymaga dalszych badań. Istniejące leki wpływają tylko na niektóre cząsteczki odgrywające rolę w hemostazie. W miarę opracowywania bardziej swoistych interwencji mogą pojawić się nowe możliwości leczenia i kierunki badań naukowych. Wraz z wprowadzeniem nowych dostępnych leków przeciwkrzepliwych (np. bezpośrednich inhibitorów czynnika Xa lub trombiny) [146,147], które są małymi cząsteczkami mogącymi wnikać w ścianę naczynia, możliwe będzie udokumentowanie ich wpływu na powstawanie blaszek miażdżycowych, a zwłaszcza na ich stabilność. Ponieważ hamowanie trombiny [55] i stan prozakrzepowy [31] uważa się za czynniki sprzyjające stabilności blaszek miażdżycowych w modelach aterogenezy u myszy, działania tych leków u ludzi, jeżeli występują, są nieprzewidywalne.

Podsumowując, biorąc pod uwagę wpływ układu hemostazy na odpowiedzi molekularne i komórkowe w układzie naczyniowym, potrzebne są nowe naukowe podejścia do tej kwestii. Większość danych eksperymentalnych opiera się na ilościowej ocenie rozległości i wielkości blaszek miażdżycowych, a nie na dokładnej ocenie fenotypu tych zmian. Jest to ważne ograniczenie dotychczasowych badań z zakresu medycyny układu naczyniowego. Większość badań klinicznych ponadto koncentruje się na ocenie wyników leczenia dotyczących incydentów zakrzepowych i umieralności, a tylko w nielicznych badaniach ocenia się progresję blaszek miażdżycowych. W ostatniej dekadzie ważnym narzędziem obrazowania naczyń była ultrasonografia. Niestety, ta metoda charakteryzuje się słabą penetracją tkanki, nie dostarcza informacji na temat charakterystyki blaszek oraz jest podatna na zmienność obserwacji dokonywanych przez tego samego obserwatora oraz zmienność między różnymi obserwatorami. Wraz z rozwojem obrazowania o dużej rozdzielczości metodą rezonansu magnetycznego ocena charakterystyki blaszek miażdżycowych poprawi możliwości określania fenotypu ściany naczyniowej jako sposobu oceny roli układu hemostazy w miażdżycy.

Praca sfinansowana ze stypendium Marie Curie (MEST-CT-2005-020706) przyznanej przez Komisję Europejską (dr Borisoff).

Formularze dotyczące potencjalnych konfliktów interesów przesłane przez autorów są dostępne wraz z pełnym tekstem tego artykułu na stronie internetowej NEJM.org.

Podziękowania za pomocne wskazówki podczas przygotowywania niniejszej pracy otrzymują: Jo G.R. De Mey z Department of Pharmacology and Toxicology, Tilman M. Hackeng z Department of Biochemistry oraz Mat J.A.P. Daemen z Cardiovascular Research Institute Maastricht — wszyscy z Maastricht University Medical Center, Holandia.

From The New England Journal of Medicine 2011; 364: 1746-1760. Translated and reprinted in its entirety with permission of the Massachusetts Medical Society. Copyright © 2011 Massachusetts Medical Society. All Rights Reserved.

Piśmiennictwo

- Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-26.
- Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868-74.
- Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1685-95.
- Levi M, ten Cate H. Disseminated intravascular coagulation. *N Engl J Med* 1999; 341: 586-92.
- Levi M, van der Poll T, Buller HR. Bidirectional relation between inflammation and coagulation. *Circulation* 2004; 109: 2698-704.
- Esmon CT. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol* 2005; 131: 417-30.
- Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007; 357: 2482-94.
- Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med* 2008; 359: 938-49.
- Rosenberg RD, Aird WC. Vascular bed – specific hemostasis and hypercoagulable states. *N Engl J Med* 1999; 340: 1555-64.
- Ruggeri ZM. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med* 2002; 8: 1227-34.
- Monroe DM, Hoffman M, Roberts HR. Platelets and thrombin generation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 1381-9.
- Crawley JT, Zanardelli S, Chion CK, et al. The central role of thrombin in hemostasis. *J Thromb Haemost* 2007; 5(Suppl.1): 95-101.
- Mackman N, Tilley RE, Key NS. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 1687-93.
- Gailani D, Renne T. Intrinsic pathway of coagulation and arterial thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 2507-13.
- van der Meijden PE, Munnix IC, Auger JM, et al. Dual role of collagen in factor XII-dependent thrombus formation. *Blood* 2009; 114: 881-90.
- Gawaz M, Langer H, May AE. Platelets in inflammation and atherogenesis. *J Clin Invest* 2005; 115: 3378-84.
- Borensztajn K, Peppelenbosch MP, Spek CA. Factor Xa: at the crossroads between coagulation and signaling in physiology and disease. *Trends Mol Med* 2008; 14: 429-40.
- Borisoff JI, Spronk HM, Heeneman S, et al. Is thrombin a key player in the „coagulation-atherogenesis” maze? *Cardiovasc Res* 2009; 82: 392-403.
- Ossovskaya VS, Bunnett NW. Protease-activated receptors: contribution to physiology and disease. *Physiol Rev* 2004; 84: 579-621.
- Massberg S, Brand K, Grüner S, et al. A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. *J Exp Med* 2002; 196: 887-96.
- Huo Y, Schober A, Forlow SB, et al. Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E. *Nat Med* 2003; 9: 61-7.
- Weber C. Platelets and chemokines in atherosclerosis: partners in crime. *Circ Res* 2005; 96: 612-6.
- Gleissner CA, von Hundelshausen P, Ley K. Platelet chemokines in vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 1920-7.
- Rizvi M, Pathak D, Freedman JE, et al. CD40-CD40 ligand interactions in oxidative stress, inflammation and vascular disease. *Trends Mol Med* 2008; 14: 530-8.
- Lievens D, Eijgelaar WJ, Biessen EA, et al. The multi-functionality of CD40L and its receptor CD40 in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 2009; 102: 206-14.
- Antoniades C, Bakogiannis C, Tousoulis D, et al. The CD40/CD40 ligand system: linking inflammation with atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 669-77.
- Semple JW, Freedman J. Platelets and innate immunity. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67: 499-511.
- Tyner JW, Uchida O, Kajiwara N, et al. CCL5-CCR5 interaction provides antiapoptotic signals for macrophage survival during viral infection. *Nat Med* 2005; 11: 1180-7.
- Chiodoni C, Tezzi M, Guiducci C, et al. Triggering CD40 on endothelial cells contributes to tumor growth. *J Exp Med* 2006; 203: 2441-50.
- Borisoff JI, Heeneman S, Kilinc E, et al. Early atherosclerosis exhibits an enhanced procoagulant state. *Circulation* 2010; 122: 821-30.
- Seehaus S, Shahzad K, Kashif M, et al. Hypercoagulability inhibits monocyte transendothelial migration through protease-activated receptor-1-, phospholipase-C β -, phosphoinositide 3-kinase-, and nitric oxide-dependent signaling in monocytes and promotes plaque stability. *Circulation* 2009; 120: 774-84.
- With Notø AT, Mathiesen EB, Østerud B, et al. Increased thrombin generation in persons with echogenic carotid plaques. *Thromb Haemost* 2008; 99: 602-8.
- Kramer MC, Rittersma SZ, de Winter RJ, et al. Relationship of thrombus healing to underlying plaque morphology in sudden coronary death. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 122-32.
- Rittersma SZ, van der Wal AC, Koch KT, et al. Plaque instability frequently occurs days or weeks before occlusive coronary thrombosis: a pathological thrombectomy study in primary percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2005; 111: 1160-5.
- Mackman N. Role of tissue factor in hemostasis, thrombosis, and vascular development. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1015-22.
- Annex BH, Denning SM, Channon KM, et al. Differential expression of tissue factor protein in directional atherectomy specimens from patients with stable and unstable coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 619-22.
- Moreno PR, Bernardi VH, Lopez-Cuellar J, et al. Macrophages, smooth muscle cells, and tissue factor in unstable angina: implications for cell-mediated thrombogenicity in acute coronary syndromes. *Circulation* 1996; 94: 3090-7.
- Marmur JD, Thiruvikraman SV, Fyfe BS, et al. Identification of active tissue factor in human coronary atheroma. *Circulation* 1996; 94: 1226-32.
- Ardissino D, Merlini PA, Ariens R, et al. Tissue-factor antigen and activity in human coronary atherosclerotic plaques. *Lancet* 1997; 349: 769-71.
- Toschi V, Gallo R, Lettino M, et al. Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques. *Circulation* 1997; 95: 594-9.
- Ardissino D, Merlini PA, Bauer KA, et al. Thrombogenic potential of human coronary atherosclerotic plaques. *Blood* 2001; 98: 2726-9.
- Monroe DM, Key NS. The tissue factor-factor VIIa complex: procoagulant activity, regulation, and multitasking. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1097-105.
- Tilley RE, Pedersen B, Pawlinski R, et al. Atherosclerosis in mice is not affected by a reduction in tissue factor expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 555-62.
- Konings J, Govers-Riemslog JWP, ten Cate H. Novel insights into genetics of arterial thrombosis. In: Baars HF, ed. *Clinical cardiogenetics*. New York: Springer, 2010.

45. Gertow K, Amato M, Werba JP, et al. Tissue factor gene promoter haplotype associates with carotid intima-media thickness in subjects in cardiovascular risk prevention. *Atherosclerosis* 2009; 207: 168-73.
46. Cortellaro M, Baldassarre D, Cofrancesco E, et al. Relation between hemostatic variables and increase of common carotid intima-media thickness in patients with peripheral arterial disease. *Stroke* 1996; 27: 450-4.
47. Green D, Foiles N, Chan C, et al. An association between clotting factor VII and carotid intima-media thickness: the CARDIA study. *Stroke* 2010; 41: 1417-22.
48. Thomas AC, Campbell JH. Targeted delivery of heparin and LMWH using a fibrin antibody prevents restenosis. *Atherosclerosis* 2004; 176: 73-81.
49. Coughlin SR. Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature* 2000; 407: 258-64.
50. Wang D, Paria BC, Zhang Q, et al. A role for Gab1/SHP2 in thrombin activation of PAK1: gene transfer of kinasedead PAK1 inhibits injury-induced restenosis. *Circ Res* 2009; 104: 1066-75.
51. Hirano K. The roles of proteinase-activated receptors in the vascular physiology and pathophysiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 27-36.
52. Huber-Lang M, Sarma JV, Zetoune FS, et al. Generation of C5a in the absence of C3: a new complement activation pathway. *Nat Med* 2006; 12: 682-7.
53. Chen X, Ren S, Ma MG, et al. Hiruloglike peptide reduces restenosis and expression of tissue factor and transforming growth factor-beta in carotid artery of atherosclerotic rabbits. *Atherosclerosis* 2003; 169: 31-40.
54. Thome LM, Gimple LW, Bachhuber BG, et al. Early plus delayed hirudin reduces restenosis in the atherosclerotic rabbit more than early administration alone: potential implications for dosing of antithrombin agents. *Circulation* 1998; 98: 2301-6.
55. Bea F, Kreuzer J, Preusch M, et al. Melagatran reduces advanced atherosclerotic lesion size and may promote plaque stability in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 2787-92.
56. Khallou-Laschet J, Caligiuri G, Tupin E, et al. Role of the intrinsic coagulation pathway in atherogenesis assessed in hemophilic apolipoprotein E knockout mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:e123-e126.
57. Eitzman DT, Westrick RJ, Shen Y, et al. Homozygosity for factor V Leiden leads to enhanced thrombosis and atherosclerosis in mice. *Circulation* 2005; 111: 1822-5.
58. Di Tullio MR, Homma S, Jin Z, et al. Aortic atherosclerosis, hypercoagulability, and stroke the APRIS (Aortic Plaque and Risk of Ischemic Stroke) study. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52: 855-61.
59. Páramo JA, Orbe J, Beloqui O, et al. Prothrombin fragment 1+2 is associated with carotid intima-media thickness in subjects free of clinical cardiovascular disease. *Stroke* 2004; 35: 1085-9.
60. Folsom AR, Wu KK, Rosamond WD, et al. Prospective study of hemostatic factors and incidence of coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 1997; 96: 1102-8.
61. Methia N, Andre P, Denis CV, et al. Localized reduction of atherosclerosis in von Willebrand factor-deficient mice. *Blood* 2001; 98: 1424-8.
62. Danesh J, Lewington S, Thompson SG, et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA* 2005; 294: 1799-809.
63. Bini A, Fenoglio JJ Jr, Mesa-Tejada R, et al. Identification and distribution of fibrinogen, fibrin, and fibrin(ogen) degradation products in atherosclerosis: use of monoclonal antibodies. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 109-21.
64. Lepedda AJ, Cigliano A, Cherchi GM, et al. A proteomic approach to differentiate histologically classified stable and unstable plaques from human carotid arteries. *Atherosclerosis* 2009; 203: 112-8.
65. Dielis AW, Castoldi E, Spronk HM, et al. Coagulation factors and the protein C system as determinants of thrombin generation in a normal population. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 125-31.
66. Green D, Chan C, Kang J, et al. Longitudinal assessment of fibrinogen in relation to subclinical cardiovascular disease: the CARDIA study. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 489-95.
67. de Moerloose P, Boehlen F, Neerman-Arbez M. Fibrinogen and the risk of thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2010; 36: 7-17.
68. Iwaki T, Sandoval-Cooper MJ, Brechmann M, et al. A fibrinogen deficiency accelerates the initiation of LDL cholesterol-driven atherosclerosis via thrombin generation and platelet activation in genetically predisposed mice. *Blood* 2006; 107: 3883-91.
69. Xiao Q, Danton MJ, Witte DP, et al. Fibrinogen deficiency is compatible with the development of atherosclerosis in mice. *J Clin Invest* 1998; 101: 1184-94.
70. Folsom AR. Hemostatic risk factors for atherothrombotic disease: an epidemiologic view. *Thromb Haemost* 2001; 86: 366-73.
71. Zhou D, Yang PY, Zhou B, et al. Fibrin D-dimer fragments enhance inflammatory responses in macrophages: role in advancing atherosclerosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34: 185-90.
72. Ishida T, Tanaka K. Effects of fibrin and fibrinogen-degradation products on the growth of rabbit aortic smooth muscle cells in culture. *Atherosclerosis* 1982; 44: 161-74.
73. Abdalla S, Lother H, Langer A, et al. Factor XIIIa transglutaminase crosslinks AT1 receptor dimers of monocytes at the onset of atherosclerosis. *Cell* 2004; 119: 343-54.
74. Zito F, Lowe GD, Rumley A, et al. Association of the factor XII 46C>T polymorphism with risk of coronary heart disease (CHD) in the WOSCOPS study. *Atherosclerosis* 2002; 165: 153-8.
75. Govers-Riemslog JW, Smid M, Cooper JA, et al. The plasma kallikrein-kinin system and risk of cardiovascular disease in men. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1896-903.
76. Siegerink B, Govers-Riemslog JW, Rosendaal FR, et al. Intrinsic coagulation activation and the risk of arterial thrombosis in young women: results from the Risk of Arterial Thrombosis in relation to Oral contraceptives (RATIO) case-control study. *Circulation* 2010; 122: 1854-61.
77. Hagedorn I, Schmidbauer S, Pleines I, et al. Factor XIIa inhibitor recombinant human albumin Infestin-4 abolishes occlusive arterial thrombus formation without affecting bleeding. *Circulation* 2010; 121: 1510-7.
78. Gailani D, Renné T. The intrinsic pathway of coagulation: a target for treating thromboembolic disease? *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1106-12.
79. Schmaier AH. The elusive physiologic role of factor XII. *J Clin Invest* 2008; 118: 3006-9.
80. Müller F, Mutch NJ, Schenk WA, et al. Platelet polyphosphates are proinflammatory and procoagulant mediators in vivo. *Cell* 2009; 139: 1143-56.
81. Röcken C, Tautenhahn J, Bühling F, et al. Prevalence and pathology of amyloid in atherosclerotic arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 676-7.
82. Maas C, Govers-Riemslog JW, Bouma B, et al. Misfolded proteins activate factor XII in humans, leading to kallikrein

- formation without initiating coagulation. *J Clin Invest* 2008; 118: 3208-18.
83. Merlo C, Wuillemin WA, Redondo M, et al. Elevated levels of plasma prekallikrein, high molecular weight kininogen and factor XI in coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2002; 161: 261-7.
 84. Porcu P, Emanuelli C, Desortes E, et al. Circulating tissue kallikrein levels correlate with severity of carotid atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1104-10.
 85. Stone OA, Richer C, Emanuelli C, et al. Critical role of tissue kallikrein in vessel formation and maturation: implications for therapeutic revascularization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 657-64.
 86. LaRusch GA, Mahdi F, Shariat-Madar Z, et al. Factor XII stimulates ERK1/2 and Akt through uPAR, integrins, and the EGFR to initiate angiogenesis. *Blood* 2010; 115: 5111-20.
 87. Crawley J, Lupu F, Westmuckett AD, et al. Expression, localization, and activity of tissue factor pathway inhibitor in normal and atherosclerotic human vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1362-73.
 88. Okajima K. Regulation of inflammatory responses by natural anticoagulants. *Immunol Rev* 2001; 184: 258-74.
 89. Aihara K, Azuma H, Akaike M, et al. Strain-dependent embryonic lethality and exaggerated vascular remodeling in heparin cofactor II-deficient mice. *J Clin Invest* 2007; 117: 1514-26.
 90. Takamori N, Azuma H, Kato M, et al. High plasma heparin cofactor II activity is associated with reduced incidence of in-stent restenosis after percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2004; 109: 481-6.
 91. Aihara K, Azuma H, Takamori N, et al. Heparin cofactor II is a novel protective factor against carotid atherosclerosis in elderly individuals. *Circulation* 2004; 109: 2761-5.
 92. Giri TK, Ahn CW, Wu KK, et al. Heparin cofactor II levels do not predict the development of coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 2689-90.
 93. Sofi F, Cesari F, Pratesi G, et al. Low protein Z levels in patients with peripheral arterial disease. *Thromb Haemost* 2007; 98: 1114-7.
 94. Pardos-Gea J, Ordi-Ros J, Serrano S, et al. Protein Z levels and anti-protein Z antibodies in patients with arterial and venous thrombosis. *Thromb Res* 2008; 121: 727-34.
 95. Sofi F, Cesari F, Tu Y, et al. Protein Z dependent protease inhibitor and protein Z in peripheral arterial disease patients. *J Thromb Haemost* 2009; 7: 731-5.
 96. Caplice NM, Mueske CS, Kleppe LS, et al. Presence of tissue factor pathway inhibitor in human atherosclerotic plaques is associated with reduced tissue factor activity. *Circulation* 1998; 98: 1051-7.
 97. Badimon JJ, Lettino M, Toschi V, et al. Local inhibition of tissue factor reduces the thrombogenicity of disrupted human atherosclerotic plaques: effects of tissue factor pathway inhibitor on plaque thrombogenicity under flow conditions. *Circulation* 1999; 99: 1780-7.
 98. Jang Y, Guzman LA, Lincoff AM, et al. Influence of blockade at specific levels of the coagulation cascade on restenosis in a rabbit atherosclerotic femoral artery injury model. *Circulation* 1995; 92: 3041-50.
 99. Oltrona L, Speidel CM, Recchia D, et al. Inhibition of tissue factor-mediated coagulation markedly attenuates stenosis after balloon-induced arterial injury in minipigs. *Circulation* 1997; 96: 646-52.
 100. Zoldhelyi P, Chen ZQ, Shelat HS, et al. Local gene transfer of tissue factor pathway inhibitor regulates intimal hyperplasia in atherosclerotic arteries. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 4078-83.
 101. Kopp CW, Hölzenbein T, Steiner S, et al. Inhibition of restenosis by tissue factor pathway inhibitor: in vivo and in vitro evidence for suppressed monocyte chemoattraction and reduced gelatinolytic activity. *Blood* 2004; 103: 1653-61.
 102. Westrick RJ, Bodary PF, Xu Z, et al. Deficiency of tissue factor pathway inhibitor promotes atherosclerosis and thrombosis in mice. *Circulation* 2001; 103: 3044-6.
 103. Pan S, White TA, Witt TA, et al. Vascular-directed tissue factor pathway inhibitor overexpression regulates plasma cholesterol and reduces atherosclerotic plaque development. *Circ Res* 2009; 105: 713-20.
 104. Sakata T, Mannami T, Baba S, et al. Potential of free-form TFPI and PAI-1 to be useful markers of early atherosclerosis in a Japanese general population (the Suita Study): association with the intimalmedial thickness of carotid arteries. *Atherosclerosis* 2004; 176: 355-60.
 105. Mitchell CT, Kaminen A, Palmas W, et al. Tissue factor pathway inhibitor, vascular risk factors and subclinical atherosclerosis: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2009; 207: 277-83.
 106. Blann AD, Amiral J, McCollum CN, et al. Differences in free and total tissue factor pathway inhibitor, and tissue factor in peripheral artery disease compared to healthy controls. *Atherosclerosis* 2000; 152: 29-34.
 107. Massberg S, Grahl L, von Bruehl ML, et al. Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases. *Nat Med* 2010; 16: 887-96.
 108. Mosnier LO, Zlokovic BV, Griffin JH. The cytoprotective protein C pathway. *Blood* 2007; 109: 3161-72.
 109. Waugh JM, Li-Hawkins J, Yuksel E, et al. Thrombomodulin overexpression to limit neointima formation. *Circulation* 2000; 102: 332-7.
 110. Gerdes VE, Kremer Hovinga JA, ten Cate H, et al. Soluble thrombomodulin in patients with established atherosclerosis. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 200-1.
 111. Peter K, Nawroth P, Conradt C, et al. Circulating vascular cell adhesion molecule-1 correlates with the extent of human atherosclerosis in contrast to circulating intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, P-selectin, and thrombomodulin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 505-12.
 112. Salomaa V, Matei C, Aleksic N, et al. Soluble thrombomodulin as a predictor of incident coronary heart disease and symptomless carotid artery atherosclerosis in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study: a case-cohort study. *Lancet* 1999; 353: 1729-34.
 113. Wu KK, Aleksic N, Ballantyne CM, et al. Interaction between soluble thrombomodulin and intercellular adhesion molecule-1 in predicting risk of coronary heart disease. *Circulation* 2003; 107: 1729-32.
 114. Aleksic N, Wang YW, Ahn C, et al. Assessment of coronary heart disease risk by combined analysis of coagulation factors. *Atherosclerosis* 2008; 198: 294-300.
 115. Lentz SR, Miller FJ Jr, Piegors DJ, et al. Anticoagulant responses to thrombin are enhanced during regression of atherosclerosis in monkeys. *Circulation* 2002; 106: 842-6.
 116. Castellino FJ, Ganopoulos JG, Noria F, et al. Focal arterial inflammation is augmented in mice with a deficiency of the protein C gene. *Thromb Haemost* 2006; 96: 794-801.
 117. Salomaa V, Matei C, Aleksic N, et al. Cross-sectional association of soluble thrombomodulin with mild peripheral artery disease: the ARIC study. *Atherosclerosis* 2001; 157: 309-14.
 118. Zorio E, Navarro S, Medina P, et al. Circulating activated protein C is reduced in young survivors of myocardial infarction and inversely correlates with the severity of coronary lesions. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 1530-6.
 119. Matsumoto K, Yano Y, Gabazza EC, et al. Inverse correlation between activated protein C generation and carotid athero-

- sclerosis in Type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 2007; 24: 1322-8.
120. Webb JH, Blom AM, Dahlbäck B. Vitamin K-dependent protein S localizing complement regulator C4b-binding protein to the surface of apoptotic cells. *J Immunol* 2002; 169: 2580-6.
 121. Anderson HA, Maylock CA, Williams JA, et al. Serum-derived protein S binds to phosphatidylserine and stimulates the phagocytosis of apoptotic cells. *Nat Immunol* 2003; 4: 87-91.
 122. Liao D, Wang X, Li M, et al. Human protein S inhibits the uptake of AcLDL and expression of SR-A through Mer receptor tyrosine kinase in human macrophages. *Blood* 2009; 113: 165-74.
 123. Zhu D, Wang Y, Singh I, et al. Protein S controls hypoxic/ischemic blood-brain barrier disruption through the TAM receptor Tyro3 and sphingosine 1-phosphate receptor. *Blood* 2010; 115: 4963-72.
 124. Randi AM, Biguzzi E, Falciani F, et al. Identification of differentially expressed genes in coronary atherosclerotic plaques from patients with stable or unstable angina by cDNA array analysis. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 829-35.
 125. Mahmoodi BK, Brouwer JL, Veeger NJ, et al. Hereditary deficiency of protein C or protein S confers increased risk of arterial thromboembolic events at a young age: results from a large family cohort study. *Circulation* 2008; 118: 1659-67.
 126. Cho YP, Kwon TW, Ahn JH, et al. Protein C and/or S deficiency presenting as peripheral arterial insufficiency. *Br J Radiol* 2005; 78: 601-5.
 127. Mann J, Davies MJ. Mechanisms of progression in native coronary artery disease: role of healed plaque disruption. *Heart* 1999; 82: 265-8.
 128. Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, et al. Healed plaque ruptures and sudden coronary death: evidence that subclinical rupture has a role in plaque progression. *Circulation* 2001; 103: 934-40.
 129. Finn AV, Nakano M, Narula J, et al. Concept of vulnerable/unstable plaque. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 1282-92.
 130. Holmes DR Jr, Kereiakes DJ, Kleiman NS, et al. Combining antiplatelet and anticoagulant therapies. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54: 95-109.
 131. Bhatt DL, Fox KA, Hacke W, et al. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med* 2006; 354: 1706-17.
 132. The Warfarin Antiplatelet Vascular Evaluation Trial Investigators. Oral anticoagulant and antiplatelet therapy and peripheral arterial disease. *N Engl J Med* 2007; 357: 217-27.
 133. Schulman S. Care of patients receiving long-term anticoagulant therapy. *N Engl J Med* 2003; 349: 675-83.
 134. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ* 2002; 324: 71-86. [Erratum, *BMJ* 2002; 324: 141].
 135. Patrono C, García Rodríguez LA, Landolfi R, Baigent C. Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis. *N Engl J Med* 2005; 353: 2373-83.
 136. Ferroni P, Martini F, Cardareello CM, et al. Enhanced interleukin-1beta in hypercholesterolemia: effects of simvastatin and low-dose aspirin. *Circulation* 2003; 108: 1673-5.
 137. Chiang N, Hurwitz S, Ridker PM, et al. Aspirin has a gender-dependent impact on antiinflammatory 15-epilipoxin A4 formation: a randomized human trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(2): e14-e17.
 138. Morris T, Stables M, Hobbs A, et al. Effects of low-dose aspirin on acute inflammatory responses in humans. *J Immunol* 2009; 183: 2089-96.
 139. Muhlestein JB. Effect of antiplatelet therapy on inflammatory markers in atherothrombotic patients. *Thromb Haemost* 2010; 103: 71-82.
 140. Dieker HJ, French JK, Joziassie IC, et al. Antiplatelet therapy and progression of coronary artery disease: a placebo-controlled trial with angiographic and clinical follow-up after myocardial infarction. *Am Heart J* 2007; 153(1): 66.e1-66.e8.
 141. The Post Coronary Artery Bypass Graft Trial Investigators. The effect of aggressive lowering of low-density lipoprotein cholesterol levels and low-dose anticoagulation on obstructive changes in saphenous-vein coronary-artery bypass grafts. *N Engl J Med* 1997; 336: 153-62. [Erratum, *N Engl J Med* 1997; 337:1859].
 142. Byington RP, Evans GW, Espeland MA, et al. Effects of lovastatin and warfarin on early carotid atherosclerosis: sex-specific analyses. *Circulation* 1999; 100(3): e14-e17.
 143. Knatterud GL, Rosenberg Y, Campeau L, et al. Long-term effects on clinical outcomes of aggressive lowering of low-density lipoprotein cholesterol levels and low-dose anticoagulation in the post coronary artery bypass graft trial. *Circulation* 2000; 102: 157-65.
 144. Spronk HM, Soute BA, Schurgers LJ, et al. Tissue-specific utilization of menaquinone-4 results in the prevention of arterial calcification in warfarin-treated rats. *J Vasc Res* 2003; 40: 531-7.
 145. Rennenberg RJ, van Varik BJ, Schurgers LJ, et al. Chronic coumarin treatment is associated with increased extracoronary arterial calcification in humans. *Blood* 2010; 115: 5121-3.
 146. Schulman S, Kearon C, Kakkar AK, et al. Dabigatran versus warfarin in the treatment of acute venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2009; 361: 2342-52.
 147. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, et al. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med* 2009; 361: 1139-51.



Komentarz

prof. dr hab. n. farm. Ewa Chabielska
Samodzielna Pracownia Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

HEMOSTAZA JAKO CEL FARMAKOTERAPII ROZWOJU MIAŻDŻYCY

Twórcą koncepcji udziału hemostazy w patogenezie miażdżycy był austriacki patolog Carl von Rokitansky (jako pierwszy opisał w 1840 roku zapalną naturę miażdżycy). Twierdził, że powodem rozwoju zmian miażdżycowych jest zakrzep wbudowywany w ścianę naczynia tętniczego. Kilkanaście lat później także Rudolf Virchow opisywał płytki miażdżycowe pierwotnie zbudowane z włókniaka i elementów morfotycznych krwi. Stał również na stanowisku, że proces zapalny śródbłonna jest kluczowy w inicjacji procesu miażdżycowego. W przeciwieństwie do Carla von Rokitansky'ego uważał jednak, że zapalenie jest pierwotną przyczyną miażdżycy [1]. Dziś już wiemy, że obaj uczeni mieli rację. Miażdżycą jest przewlekłym zapaleniem naczyń krwionośnych, w którym procesy zapalne i zakrzepowe wzajemnie się przeplatają i aktywują.

Przez długie lata udział hemostazy w patogenezie miażdżycy był postrzegany przede wszystkim w aspekcie dramatycznych powikłań zakrzepowych po pęknięciu blaszki miażdżycowej. Wykrycie ekspresji aktywnych białek układu krzepnięcia (czynnik tkankowy [tissue factor, TF], czynnik VII, fibrynogen, fibryna i produkty jej rozpadu) w zmianach miażdżycowych uznano za dowód szerszego niż przypuszczano udziału hemostazy w patogenezie procesu miażdżycowego. Stało się więc oczywiste, że proces zapalny jest kluczowy nie tylko w zapoczątkowaniu i propagacji zmiany miażdżycowej, ale również w patologicznej aktywacji hemostazy. Podobieństwo strukturalne składników odpowiedzi zapalnej i układu krzepnięcia sugeruje równoległą ewolucję obu układów i może wyjaśniać ich złożone interakcje funkcjonalne [2].

Czynniki ryzyka miażdżycy (dyslipidemia, otyłość, nadciśnienie tętnicze, cukrzyca, palenie tytoniu, wiek, menopauza, stres, zakażenia, reumatoidalne zapalenie stawów) mogą wywoływać odpowiedź zapalną, która w myśl obowiązującej obecnie teorii zapoczątkowuje rozwój miażdżycy. Cytokiny zapalne są także głównymi mediatorami aktywacji tych elementów hemostazy, które pełnią ważną rolę w zapoczątkowaniu i propagowaniu zmian miażdżycowych. Pogłębiają dysfunkcję śródbłonna naczyniowego, osłabiają proces fibrynolizy, zwiększają ekspresję i aktywność TF

oraz syntezę trombiny, zwiększają ekspresję receptorów aktywowanych przez proteazy (PAR), ułatwiają ekspozycję prokoagulacyjnej powierzchni błon płytek krwi, tłumią funkcję antytrombiny i szlaku białka C. Wreszcie mediatory zapalenia, zaburzając syntezę kolagenu, który stabilizuje blaszkę, i pobudzając proces apoptozy komórek mięśni gładkich, prowadzą do mechanicznego uszkodzenia pokrywy blaszki miażdżycowej, uruchomienia kaskady czynników prozakrzepowych i powstania zakrzepu. Aktywacja hemostazy i osłabienie aktywności naturalnych antykoagulantów w mechanizmie samonapędzającym wzmacniają naczyniowy proces zapalny i w konsekwencji progresję miażdżycy [2]. Dlatego modulacja procesu miażdżycowego przy udziale układu hemostazy związana jest z hemostatycznymi i niehemostatycznymi (prozapalnymi) działaniami białek tego układu. Wyróżnić tu możemy następujące kluczowe etapy. We wczesnych zmianach zapalnych miejscowe wytwarzanie trombiny lub fibryny można wiązać z naturalnym mechanizmem obronnym. Następnie widoczna jest wielopłaszczyznowa rola hemostazy w inicjacji i progresji rozwoju blaszki miażdżycowej, dalej działania białek tego układu, mające strategiczne znaczenie w utrzymaniu lub obniżeniu stabilności blaszki, i etap końcowy, którym jest powikłanie zakrzepowe.

Analizując związek układu hemostazy z miażdżycą, należy zwrócić uwagę na niebagatelną rolę układu fibrynolitycznego. Jego prawidłowe działanie jest ważne w upłynnianiu zakrzepu powstającego po pęknięciu blaszki miażdżycowej. Elementy tego układu mają także wielokierunkowy wpływ na inicjację i rozwój blaszki miażdżycowej. Należą do nich m.in.: rekrutacja i migracja komórek zapalnych, ułatwianie odkładania złogów fibryny, nasilanie działania trombiny, destabilizacja płytki, sprzyjanie tworzeniu zmian zakrzepowych na płytkach miażdżycowych [3]. Trombina wspólnie z TF indukuje ekspresję inhibitora aktywatora plazminogenu typ 1 (PAI-1). PAI-1 jest również uwalniany z aktywowanych płytek krwi. Inhibitor ma działanie prozapalne, aktywuje makrofagi, indukuje proliferację, migrację i apoptozę mięśniówki gładkiej, a także determinuje gromadzenie się macierzy pozakomórkowej w blaszce miażdżycowej. Wszystko to sugeruje jego ważną rolę w regulacji procesu miażdżycowego [3]. Także działanie plazminy

wykracza poza upływnianie zakrzepu i obejmuje wzmocnienie zapalenia i degradację macierzy pozakomórkowej [4]. Fibrynogen i fibryna zwiększają wytwarzanie cytokin prozapalnych i chemokin [3].

W zmianach miażdżycowych u ludzi wykryto zwiększoną ekspresję PAI-1, szczególnie nasiloną u pacjentów z cukrzycą typu 2 [5,6]. O ile badania kliniczne, choć jest ich niewiele, są zgodne i wykazują związek między rozwojem miejscowej miażdżycy a zwiększeniem stężenia PAI-1, to wyniki badań podstawowych są rozbieżne. Aktywatory plazminogenu, tkankowy (t-PA) i urokinazowy (u-PA), wykazują właściwości protekcyjne w modelu myszy z miażdżycą, ale zwiększona ekspresja u-PA w makrofagach, nasilając destrukcję błony środkowej naczynia, zwiększa miażdżycę w mysim modelu (apoE^{-/-}) [7]. Zauważono też nasilenie procesu miażdżycy w modelu myszy (apoE^{-/-}) z dodatkowo wyłączonym genem plazminogenu. Ten wpływ może być wynikiem zwiększonej produkcji fibryny i potęgowanym wzrostem blaszki miażdżycowej [8]. Całkowity brak plazminogenu prowadzi do uszkodzeń wielonarządowych, więc instrumentem do trafnej oceny roli systemu plazminogenu w miażdżycy byłby model z lokalnymi zaburzeniami aktywacji plazminogenu w ścianie naczynia. Dane o roli PAI-1 w progresji miażdżycy w modelach mysich nie są spójne. W modelu myszy z miażdżycą (apoE^{-/-}) i wyłączonym genem dla PAI-1 dostrzeżono paradoksalne zwiększenie rozrostu blaszki miażdżycowej i macierzy pozakomórkowej [7]. W innych modelach uzyskano jednak wyniki przeciwne lub nie obserwowano wpływu na progresję miażdżycy. Rola inhibitorów i aktywatorów układu fibrynolitycznego w procesie miażdżycowym wymaga więc dalszych badań. Należy podkreślić, że układ fibrynolizy w miażdżycy jest brany pod uwagę jako potencjalny cel farmakologicznej modulacji. Doniesiono o skuteczności doustnego antagonisty inhibitora aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1) w zapobieganiu miażdżycy w modelu zwierzęcym [9].

Autorzy artykułu również podkreślają rozbieżności między wynikami badań podstawowych oraz podstawowych i klinicznych. Ich powodem mogą być takie czynniki, jak: wielofunkcyjność i wielokierunkowość działania hemostatycznych mediatorów miażdżycy, różnorodność i dalekie od patologii ludzkiej modele eksperymentalne, a także podkreślona przez autorów artykułu niedoskonała diagnostyka zmian miażdżycowych. Interpretując wyniki, należy uwzględnić to, że mysz nie tworzy podatnej na całkowite pęknięcie, a typowej w patologii człowieka blaszki miażdżycowej, czego przyczyną jest duże napięcie powierzchniowe w naczyniu o małej średnicy [10]. Rozmiar naczynia i zmiany miażdżycowe determinują warunki

przepływu (średnica mysiej aorty jest ok. 200 razy mniejsza niż ludzkiej). Prędkość przepływu krwi i jego pochodna, którą jest naprężenie ścinające, mają znaczenie w aktywacji hemostazy, m.in. indukują prokoagulacyjny fenotyp komórek śródbłonna i zwiększają ekspresję i wzrost TF [11]. Hemostaza gryzoni znacznie różni się od ludzkiej (np. słaba odpowiedź mysich płytek krwi na trombinę) [12]. Badania na zwierzętach prowadzone są w „czystym układzie” z ograniczeniem współtowarzyszących patologii i najczęściej u osobników młodych. Należy jednak podkreślić, że model myszy z miażdżycą (mysz z wyłączonym genem dla apolipoproteiny E rozwija miażdżycę spontanicznie, bez diety wysokocholesterolowej) posiada niekwestionowane zalety, jest uznany za najlepszy model doświadczalnej miażdżycy i stał się cennym narzędziem do badań patofizjologii tej choroby.

Rosnąca wiedza o udziale hemostazy w inicjacji, rozwoju i stabilności blaszki miażdżycowej wskazuje na konieczność poszukiwania nowych strategii ograniczania jej niekorzystnej aktywacji w przebiegu miażdżycy. Promiażdżycowe właściwości trombiny związane są przede wszystkim z pobudzeniem receptorów PAR, których ekspresja wzrasta m.in. na płytkach krwi w trakcie procesu miażdżycowego. Hamowanie działania trombiny dzięki zniesieniu jej pobudzającego wpływu na płytki krwi (blokada receptora PAR-1) stanowi nowy kierunek poszukiwań leków skutecznych w pierwotnej i wtórnej prewencji miażdżycy [13]. Zakończono drugą fazę badań klinicznych (trwają badania fazy trzeciej) z doustnym antagonistą płytkowego receptora PAR-1 aktywowanego trombiną – worapaksarem. Związek okazał się bezpieczny i zmniejszył częstość zawałów serca niezakończonych zgonem u pacjentów z objawami choroby wieńcowej i zaplanowanym zabiegiem PCI. Blokowanie PAR-1 nie jest związane z hamowaniem zależnej od trombiny produkcji fibryny, dzięki temu nie obserwuje się powikłań krwotocznych. Szczególnie interesujące z punktu widzenia ograniczania promiażdżycowych właściwości trombiny, wykraczające poza hamowanie aktywacji płytek krwi, są wyniki badań przedklinicznych antagonisty PAR-1 (E-5555). Hamował on uwalnianie sCD40L (rozpuszczalny ligand receptora CD40) z płytek ludzkich oraz interleukiny 6 i selektyny P z komórek mięśniówki gładkiej tętnicy wieńcowej i komórek śródbłonna [13].

Ostatnie dwie dekady były okresem dynamicznych badań obejmujących wpływ inhibitorów konwertazy angiotensyny (ACE-I), statyn i antagonistów receptora dla angiotensyny (AT1A) na układ hemostazy. Działania przeciwpłytkowe, profibrynolityczne, antykoagulacyjne i ochronne na śródbłonek, a nie wyłącznie

TABELA. Leki kardiologiczne a elementy hemostazy ważne w przebiegu miażdżycy
Badania kliniczne i eksperymentalne z zastosowaniem materiału uzyskanego od ludzi

Leki	Wpływ na hemostazę	Piśmiennictwo
Statyny	↓ ekspresji płytkowego receptora PAR-1 dla trombiny	14
	Pobudzenie płytkowych receptorów PPAR γ	15
	↓ ekspresji TF w makrofagach	16
	↓ stężenia antygeny i aktywności czynnika VII	17
	↓ produkcji trombiny	18
	↓ aktywacji czynnika V	18
	↑ inaktywacji czynnika Va	18
	↓ aktywacji czynnika XIII	18
	↑ ekspresji trombomoduliny	19
	↓ stężenia PAI-1	20
Fibraty	Pobudzenie płytkowych receptorów PPAR α	15
	↓ stężenia fibrynogenu	21
	↓ stężenia czynnika VII	21
	↓ stężenia antygeny PAI-1	21
ACE-I	↓ ekspresji TF w monocytach	24
	↓ stężenia antygeny TF w osoczu	23
	Zmiana trzeciorzędowej struktury trombiny	22
	↓ aktywności trombiny	22
	↓ stężenia fibrynogenu	25
	↓ stężenia AWF	26
	↓ stężenia antygeny PAI-1	25
Antagoniści receptora AT1	Blokada płytkowego receptora GPVI dla kolagenu	27
	Blokada płytkowego receptora TxA $_2$ /PGH $_2$	28
	↓ stężenia vWF w osoczu	25
	↓ stężenia czynnika XII	29
	↓ stężenia fibrynogenu	29
	↓ stężenia TFPI	29
	↓ stężenia antygeny PAI-1	29

PAR-1 – receptor aktywowany proteazą typu 1, PPAR – receptor aktywowany proliferatorami peroksydomów, TF – czynnik tkankowy, t-PA – tkankowy aktywator plazminogenu, PAI-1 – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1, vWF – czynnik von Willebranda, TFPI – inhibitor zależnej od czynnika tkankowego drogi krzepnięcia, TxA $_2$ /PGH $_2$ – receptor tromboksanowo-prostaglandynowy.

spadek stężenia cholesterolu czy wpływ hipotensyjny, stanowią o potencjale przeciwmiażdżycowym tych leków. Dowody świadczące o możliwości ich farmakologicznego oddziaływania na proces miażdżycowy via hemostazę zebrano w tabeli. Należy podkreślić, że istnieją różnice w sile i mechanizmach działania na hemostazę między lekami w danej grupie. Wpływ leków może być pośredni, np. przez wzrost biodostępności tlenu azotu i prostacykliny w śródbłonku naczyń. Molekuły te charakteryzują się, szeroko opisanym w piśmiennictwie, działaniem przeciwplateletowym, profibrynolitycznym i antykoagulacyjnym. Szczegółowa wiedza dotycząca wpływu poszczególnych leków kardiologicznych na hemostazę może zaowocować optymalnym wyborem leku w określonej sytuacji klinicznej. Dlatego konieczna wydaje się

szersza ocena wybranych elementów hemostazy w badaniach klinicznych.

Klinicznym objawem stabilizacji blaszek miażdżycowych pod wpływem przewlekłego leczenia ACE-I i statynami jest zmniejszenie częstości występowania powikłań sercowo-naczyniowych. Istotne zatem są pytania, czy i w jakim stopniu modyfikacja hemostazy przekłada się na kliniczną poprawę i ograniczenie zdarzeń sercowo-naczyniowych oraz czy wyniki badań klinicznych (np. ASCOT-LLA, EUROPA, HOPE, LIFE) to potwierdzają? Współczesna wiedza dowodzi, że wpływ wspomnianych leków na hemostazę może być istotny w hamowaniu rozwoju miażdżycy i jej poważnych klinicznie powikłań zakrzepowych.

Wobec złożoności oddziaływań między hemostazą a miażdżycą wydaje się, że farmakologiczna modulacja

hemostazy w miażdżycy ma ogromny potencjał terapeutyczny i może przynieść większą korzyść niż tylko eliminacja klasycznych czynników ryzyka miażdżycy. Najbardziej właściwą opcją terapeutyczną wydają się leki o działaniu wielokierunkowym, które hamowałyby rozwój miażdżycy we wczesnym okresie, a także zmniejszały ryzyko uszkodzenia blaszek. Leki działające wybiórczo mogą być szczególnie dobrym narzędziem farmakologicznym w badaniach nad rolą hemostazy w inicjacji, rozwoju i stabilizacji blaszek miażdżycowych.

Badania naukowe autora artykułu komentowanego na łamach *Kardiologii po Dyplomie* są finansowane z grantu Unii Europejskiej imienia Marii Skłodowskiej-Curie, wielkiej polskiej uczzonej, która 100 lat temu otrzymała Nagrodę Nobla w dziedzinie chemii za odkrycie polonu i radu. Właśnie rok 2011 został ustanowiony jej imieniem także za działalność naukową, która dała początek współczesnej terapii onkologicznej i przyczyniła się do światowego rozwoju nauk medycznych. Z dumą i radością dzielę się z Państwem tą refleksją.

Piśmiennictwo

- Mayerl C, Lukasser M, Sedivy R, et al. Atherosclerosis research from past present – on the track of two pathologists with opposing views, Carl von Rokitansky and Rudolf Virchow. *Virchows Arch* 2006; 449: 96-103.
- Esmon CT. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol* 2005; 131: 417-430.
- Fay WP, Garg N, Sunkar M. Vascular functions of the plasminogen activation system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 1231-1237.
- Lijnen HR. Plasmin and matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *Thromb Haemost* 2001; 86: 324-333.
- Arenillas JF, Alvarez-Sabín J, Molina CA, et al. Progression of symptomatic intracranial large artery atherosclerosis is associated with a proinflammatory state and impaired fibrinolysis. *Stroke* 2008; 39: 1456-1463.
- Aso Y. Plasminogen activator inhibitor (PAI)-1 in vascular inflammation and thrombosis. *Front Biosci* 2007; 12: 2957-2966.
- Luttun A, Lupu F, Storkebaum E, et al. Lack of plasminogen activator inhibitor-1 promotes growth and abnormal matrix remodeling of advanced atherosclerotic plaques in apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 499-505.
- Xiao Q, Danton MJ, Witte DP. Plasminogen deficiency accelerates vessel wall disease in mice predisposed to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 10335-10340.
- Liu J, Antrilli T, Elokda H, et al. Inhibition of plasminogen activator inhibitor-1 protects against atherosclerosis progression in apolipoprotein E-deficient mice. *Blood* 2004; 102: 148-III.
- Jawień J, Nastałek P, Korbut R. Mouse models of experimental atherosclerosis. *J Physiol Pharmacol* 2004; 55: 503-517.
- Malek AM, Alper SL, Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *JAMA* 1999; 282: 2035-2042.
- Siller-Matula JM, Plasenzotti R, Spiel A, et al. Interspecies differences in coagulation profile. *Thromb Haemost* 2008; 100: 397-404.
- White HD. Oral antiplatelet therapy for atherothrombotic disease: current evidence and new directions. *Am Heart J* 2011; 161: 450-461.
- Serebruany VL, Miller M, Pokov AN, et al. Effect of statins on platelet PAR-1 thrombin receptor in patients with the metabolic syndrome (from the PAR-1 inhibition by statins [PARIS] study). *Am J Cardiol* 2006; 97: 1332-1336.
- Ali FY, Armstrong PC, Dhanji AR, et al. Antiplatelet actions of statins and fibrates are mediated by PPARs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 706-711.
- Colli S, Eligini S, Lalli M, et al. Vastatins inhibit tissue factor in cultured human macrophages. A novel mechanism of protection against atherothrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 265-272.
- Morishita E, Minami S, Ishino C, et al. Atorvastatin reduces plasma levels of factor VII activity and factor VII antigen in patients with hyperlipidemia. *J Atheroscler Thromb* 2002; 9: 72-77.
- Undas A, Brummel KE, Musial J, et al. Simvastatin depresses blood clotting by inhibiting activation of prothrombin, factor V, and factor XIII and by enhancing factor Va inactivation. *Circulation* 2001; 103: 2248-2253.
- Masamura K, Oida K, Kanehara H, et al. Pitavastatin-induced thrombomodulin expression by endothelial cells acts via inhibition small G proteins of the Rho family. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 512-517.
- Walter T, Szabo S, Suselbeck T, et al. Effect of atorvastatin on haemostasis, fibrinolysis and inflammation in normocholesterolaemic patients with coronary artery disease: a post hoc analysis of data from a prospective, randomized, double-blind study. *Clin Drug Investig* 2010; 30: 453-460.
- Krysiak R, Gdula-Dymek A, Bachowski R, et al. Pleiotropic effects of atorvastatin and fenofibrate in metabolic syndrome and different types of pre-diabetes. *Diabetes Care* 2010; 33: 2266-2270.
- Brecher AS, Murrey SJ, Gray KD, et al. Anticoagulant activity of captopril. *J Cardiovasc Pharmacol* 2008; 51: 99-105.
- Soejima H, Ogawa H, Yasue H, et al. Effects of enalapril on tissue factor in patients with uncomplicated acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1996; 78: 336-340.
- Napoleone E, Di Santo A, Camera M, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors downregulate tissue factor synthesis in monocytes. *Circ Res* 2000; 86: 139-143.
- Rosei EA, Rizzoni D, Muiesan ML, et al. Effects of candesartan cilexetil and enalapril on inflammatory markers of atherosclerosis in hypertensive patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Hypertens* 2005; 23: 435-444.
- Ferrari R, Fox K. Insight into the mode of action of ACE inhibition in coronary artery disease: the ultimate EUROPA story. *Drugs* 2009; 69: 265-277.
- Grothusen C, Umbreen S, Konrad I, et al. EXP3179 inhibits collagen-dependent platelet activation via glycoprotein receptor-VI independent of AT1-receptor antagonism: potential impact on atherothrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 1184-1190.
- Montón M, Jiménez A, Núñez A, et al. Comparative effects of angiotensin II AT1-type receptor antagonists in vitro on human platelet activation. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000; 35: 906-913.
- Makris TK, Stavroulakis GA, Krespi PG, et al. Fibrinolytic/hemostatic variables in arterial hypertension: response to treatment with irbesartan or atenolol. *Am J Hypertens* 2000; 13: 783-788.



Komentarz

prof. dr hab. n. med. Anetta Undas

Instytut Kardiologii Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie

DWA OBLICZA AKTYWACJI UKŁADU KRZEPNIĘCIA W MIAŻDŻYCY

Artykuł Borissoffa i wsp. [1] stanowi świetny przegląd współczesnej wiedzy o fizjologii i patofizjologii hemostazy oraz jej związkach z miażdżycą, a zwłaszcza z zapaleniem w ścianie naczynia. Rozumiejąc aterosklerozę jako szersze pojęcie, obejmujące właśnie udział płytek i białek osocznego układu krzepnięcia od pierwszych etapów rozwoju miażdżycy po jej groźne par excellence zakrzepowo-zatorowe powikłania, podsumowuje mechanizmy, na drodze których aktywacja krzepnięcia bierze udział w rozwoju miażdżycy.

Najciekawszy i nowy pogląd przedstawiony w artykule dotyczy moim zdaniem rzeczywistej roli aktywacji krzepnięcia i wzmożonej produkcji trombiny w miażdżycy. Niedawny paradygmat dotyczący związku między hemostazą a miażdżycą brzmiał: zwiększenie aktywności układu krzepnięcia, prowadząc do zwiększenia produkcji trombiny i aktywności płytek krwi, nasila rozwój miażdżycy na wszystkich jej etapach i sprzyja występowaniu jej powikłań zakrzepowo-zatorowych. W ostatnich latach ten pogląd ulega stopniowej i zaskakującej ewolucji. Pojawiła się bowiem kontrowersyjna hipoteza. Sugeruje ona, że zwiększenie aktywności układu krzepnięcia w obrębie zmiany miażdżycowej, a także we krwi krążącej, stanowi do pewnego stopnia mechanizm korzystny, ograniczający rozwój blaszki i stabilizujący ją głównie przez zmniejszenie nacisku zapalnego w ścianie i nasilenie włóknienia.

Sprawę na dobre rozpoczęła publikacja grupy Isermanna z Heidelbergu, która ukazała się w *Circulation* w 2009 roku. Na modelu mysim z hipercholesterolemią (apoE^{-/-}) i wrodzoną nadkrzepliwością (czynnik V Leiden, FVL^{+/+}) udowodniono, że w warunkach hiperlipidemii przy nadkrzepliwości (czynnik V Leiden to najczęstsza genetycznie warunkowana przyczyna nadkrzepliwości u osób rasy białej, występująca u 5% populacji ogólnej i zwiększająca 2-3-krotnie ryzyko wystąpienia żylnej choroby zakrzepowo-zatorowej; mutacja ta spowalnia inaktywację czynnika V przez aktywne białko C, co sprzyja zwiększonej produkcji trombiny) rozwijają się co prawda większe blaszki miażdżycowe, ale jednocześnie zachodzi wyraźna przebudowa ośrodkowa tętnicy bez zwężenia światła, a blaszki mają korzystne

cechy, tzn. mniej makrofagów, mniej obszarów martwicy, więcej komórek mięśni gładkich, a zatem więcej macierzy pozakomórkowej [2]. Podstawowego mechanizmu tych korzystnych zmian w morfologii upatrywano w upośledzeniu transmigracji monocytów do błony wewnętrznej wskutek zmniejszonej produkcji trombiny, która aktywując receptor aktywowany przez proteazy typu 1 (PAR-1), nasila to zjawisko, kluczowe dla początku miażdżycy. Co ważne, antykoagulacja znosi to działanie trombiny przynajmniej u myszy, co może sugerować niekorzystne oddziaływanie zahamowania trombinogenezy w początkowej fazie miażdżycy [2]. Wobec braku jednoznacznych danych na proaterogenne działanie nadkrzepliwości krwi, pojawił się mocny głos wskazujący, że produkcja trombiny jest na etapie inicjacji miażdżycy korzystna. Wiadomo ponadto, że białka układu krzepnięcia, takie jak protrombina, czynnik VII, X itp., są produkowane w komórkach znajdujących się w blaszce, zwykle w makrofagach i komórkach mięśni gładkich ścian naczyń. W 2010 roku Borisoff i wsp. [3] pokazali, że ekspresja czynnika tkankowego, protrombiny, czynnika X i XII oraz potencjał trombinowy tkanki w fazie inicjacji zmiany miażdżycowej jest większa niż w stabilnej zaawansowanej blaszce. Ograniczeniem tej intrygującej hipotezy jest fakt, że najmocniejszym argumentem na rzecz tej koncepcji jest badanie przeprowadzone u 138 chorych ze zwężeniem tętnicy szyjnej o co najmniej 35% światła naczynia opublikowane na łamach *Thrombosis and Haemostasis* w 2008 roku [4]. Wykazano w nim, że zwiększona echogeniczność blaszek miażdżycowych w tętnicach szyjnych koreluje liniowo ze zwiększonymi stężeniami markerów produkcji trombiny w osoczu [4], a nie, jak się spodziewano, z blaszkami „dużego ryzyka” o małej echogeniczności, które wiążą się ze zwiększonym ryzykiem incydentów niedokrwienia mózgu w obserwacji odległej [5], i cechują się większą zawartością obszarów bogatych w pozakomórkowy cholesterol i jego estry oraz ubogimi w kolagen w części od światła naczynia. Okazało się także, że stężenia markerów powstawania trombiny w osoczu nie wiążą się ze stopniem zwężenia tętnic szyjnych. Wsparciem dla tych zaskakujących obserwacji jest szwedzkie badanie z 2010 roku, pokazujące, że zwiększona produkcja trombiny odzwierciedlona przez wzmożoną aktywację przez trombinę

antykoagulacyjnego układu białka C, charakteryzuje pacjentów ze zwężeniem tętnic szyjnych i blaszkami o zwiększonej echogeniczności i nie wykazuje zależności od czasu, jaki upłynął od incydu niedokrwienia mózgu [6]. Choć te ostatnie spostrzeżenia mogą jednocześnie sugerować upośledzoną aktywację białka C na przykład wskutek zaburzonej czynności receptorów dla trombomoduliny na uszkodzonym śródbłonku zmienionych miażdżycowo tętnic, wyniki te sugerują, że układ krzepnięcia, z trombiną na czele, wykazującą liczne plejotropowe działania, ma swoje Janusowe oblicze. Nie tylko niekorzystne, ale także te sprzyjające ograniczeniu postępu zapalenia, nacieków komórkowych i aktywacji układu immunologicznego w ścianie tętnicy. Dalsze badania, zwłaszcza u ludzi z wykorzystaniem np. wirtualnej histologii i rezonansu magnetycznego, mogą pomóc wyjaśnić rolę białek układu krzepnięcia na różnych etapach rozwoju blaszek miażdżycowych o tak zróżnicowanej morfologii, jak dokumentują to analizy choćby autopsyjne u ludzi.

Czy czegoś brakuje w tym artykule pogłównym? Niewiele uwagi poświęcono roli nieprawidłowej struktury i czynności sieci fibryny w zakrzepie. Coraz więcej danych wskazuje, że osoby z tendencją do tworzenia zbitych sieci fibryny z utrudnionym transportem białek uczestniczących w fibrynolizie wykazują zwiększone ryzyko występowania zaawansowanej miażdżycy oraz jej powikłań, takich jak zawał mięśnia sercowego i udar niedokrwienno mózgu [7]. W marcu 2011 roku współpraca francusko-amerykańska przyniosła analizę skrzeplin uzyskanych w czasie trombektomii wykonywanej u chorych z zawałem z uniesieniem odcinka ST [8]. Wbrew tradycyjnemu przekonaniu o bogatopłytkowych zakrzepach tętniczych udokumentowano, że 60% masy zakrzepu zamkniętego światła tętnicy wieńcowej stanowi fibryna, a ilość jej wzrasta dwukrotnie z każdą godziną od początku bólu zawałowego (czas od początku objawów, w przedziale od 1 do 12 godzin, to główny czynnik determinujący skład zakrzepu u chorych ze świeżym zawałem serca). Co więcej, obecność zaktywowanych płytek spada z ok. 20% masy zakrzepu do 3 godzin od początku bólu do ok. 9%, gdy od początku zawału minęło ponad 6 godzin, ale ich obecność sprzyja tworzeniu zbitej sieci fibryny w obrębie zakrzepu [8]. Płytki są potrzebne w pierwszych minutach po uszkodzeniu blaszki, inicjują zakrzepicę, ale potem dominującą rolę odgrywa fibryna.

Wpływ zmienionej struktury fibryny również wydaje się mieć dwa oblicza. Tendencja do tworzenia zbitych sieci fibryny o cienkich włóknach trudno poddających się proteolizie przez plazminę może sprzyjać sprawnemu „gojeniu się” pękniętych blaszek miażdżycowych, a wiadomo, że np. w świeżym zawału można stwierdzić zwykle 2-3 inne uszkodzone blaszki, a zaawansowane zmiany miażdżycowe zawierają wiele śladów po bezobjawowo przebytych przerwanach ciągłości pokrywy blaszek w tętnicach szyjnych lub wieńcowych. Najpewniej manifestacje kliniczne lub ich brak zależą od delikatnej równowagi rządzącej hemostazą i odpowiadającej za mniej lub bardziej sprawną odpowiedź na wewnątrznaczyniowe uszkodzenie. Niewątpliwie choroby współistniejące i leki modyfikują tę odpowiedź. Jeśli uwzględnimy podłoże genetyczne tych efektów, obserwujemy się skomplikowaną sieć zależności, której zbadanie zajmie kolejne pokolenia badaczy.

Piśmiennictwo

1. Borrisoff JI, Spronk HM, ten Cate H. The hemostatic system as a modulator of atherosclerosis. *N Engl J Med* 2011; 364 (18): 1746-1760.
2. Seehaus S, Shahzad K, Kashif M, et al. Hypercoagulability inhibits monocyte transendothelial migration through protease-activated receptor-1-, phospholipase-Cbeta-, phosphoinositide 3-kinase-, and nitric oxide-dependent signaling in monocytes and promotes plaque stability. *Circulation* 2009; 120 (9): 774-784.
3. Borrisoff JI, Heeneman S, Kilinç E, et al. Early atherosclerosis exhibits an enhanced procoagulant state. *Circulation* 2010; 122 (8): 821-830.
4. With Notø AT, Mathiesen EB, Østerud B, et al. Increased thrombin generation in persons with echogenic carotid plaques. *Thromb Haemost* 2008; 99 (3): 602-608.
5. Mathiesen EB, Bønaa KH, Joakimsen O. Echolucent plaques are associated with high risk of ischemic cerebrovascular events in carotid stenosis: the Tromsø study. *Circulation* 2001; 103 (17): 2171-2175.
6. Kölbel T, Goncalves I, Dias N, et al. Coagulation activation and ultrasound characteristics in patients with carotid artery disease. *Thromb Res* 2010; 125 (2): 171-177.
7. Undas A, Ariens RAS. Fibrin clot structure and function: a role in the pathophysiology of arterial and venous thromboembolic diseases. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011 (w druku).
8. Silvain J, Collet JP, Nagaswami C, et al. Composition of coronary thrombus in acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2011; 57 (12): 1359-1367.