

Koncepcja niestabilnej blaszki miażdżycowej i farmakologiczne strategie terapeutyczne

The concept of unstable atherosclerotic plaque and pharmacological therapeutic strategies

Karolina Jarzabek¹, Agata Sobczyk¹, Wojciech Sobczyk¹, Krzysztof Łabuzek², Dariusz Belowski², Bożena Gabryel¹

¹Zakład Farmakologii Katedry Farmakologii, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach (Department of Pharmacology, Medical University of Silesia, Katowice, Poland)

²Klinika Chorób Wewnętrznych i Farmakologii Klinicznej Katedry Farmakologii, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach (Department of Internal Medicine and Clinical Pharmacology, Medical University of Silesia, Katowice, Poland)

Streszczenie

Główną przyczyną umieralności w Polsce są choroby układu sercowo-naczyniowego. W patogenezie miażdżycy początkiem są zaburzenia funkcji śródbłonna naczyniowego. Miażdżycą jako proces zapalny, obejmujący ścianę naczyń, rozwija się poprzez wiele szlaków sygnałowych. Zaburzenia gospodarki lipidowej dodatkowo przyspieszają jej rozwój. Również zaburzenia przepływu krwi, definiowane jako małe i oscylacyjne naprężenia ścinające, wpływają przez proces mechanotransdukcji na zwiększenie ekspresji genów odpowiedzialnych za odkładanie się złogów w ścianie naczyń. W konsekwencji dochodzi do nasilenia reakcji wolnorodnikowych. Nadal jednak brak jednoznacznych informacji na temat mechanizmów progresji od zmian bezobjawowych do blaszek niestabilnych o wysokim ryzyku pęknięcia. Biorąc pod uwagę tak wiele mechanizmów uczestniczących w patogenezie rozwoju miażdżycy dysponujemy już wieloma farmakologicznymi strategiami zapobiegania i leczenia jej powikłań. W niniejszym artykule omówiono główne grupy leków o udokumentowanej skuteczności w stabilizacji blaszki miażdżycowej. Pojawiają się nowe możliwości jakie dają nanoleki, które poprzez potencjalne zwiększenie efektywności terapii jednocześnie minimalizują jej powikłania, działając bezpośrednio w miejscu docelowym.

Słowa kluczowe: niestabilna blaszka miażdżycowa, miażdżycy, strategie terapeutyczne, leki

Chirurgia Pol 2015, 17, 1–2, 49–68

Abstract

The main cause of mortality in Poland are diseases of the cardiovascular system. Vascular endothelial dysfunction is the beginning of atherosclerosis development. Atherosclerosis, as an inflammatory process involving the vessel wall, evolves through multiple signaling pathways. While the dyslipidemia accelerate its development. Also, blood flow disorders defined as small and oscillating shear stress through the process of mechanotransduction, increases expression of genes, which are responsible for accumulating deposits in vessel walls. Consequently potentiates free radical reactions. There is still lack of clarity about mechanisms of progression from asymptomatic lesions to unstable plaques with high risk of rupture. Considering so many mechanisms participating in the pathogenesis of atherosclerosis we already have a lot of pharmacological strategies for preventing and treating its complications. This article discusses the main groups of drugs with documented effectiveness in the stabilization of atherosclerotic plaque. There are new opportunities offered by nanodrugs due to an effectiveness increase of the treatment while minimizing its complications by acting directly at the target site.

Key words: unstable atherosclerotic plaque, atherosclerosis, therapeutic strategies, drugs

Chirurgia Pol 2015, 17, 1–2, 49–68

Miażdżycza jest procesem zapalnym obejmującym ścianę naczyń krwionośnych, zdominowanym przez makrofagi. Jest główną przyczyną umieralności ludzi w krajach rozwiniętych. Współczesne metody diagnostyki obrazowej pozwalają na stwierdzenie miażdżycy w tętnicach mumii nawet sprzed 3500 lat [1]. Fakt ten poddaje pod dyskusję powszechnie panującą opinię, że miażdżycza jest chorobą związaną ze współczesnym stylem życia. Rodzi się pytanie, czy nie jest procesem naturalnie związanym ze starzeniem się człowieka i czy człowiek nie jest genetycznie predysponowany do jej rozwoju [2]. Prawdopodobnie rolę współczesnych nauk medycznych będzie ustalenie jakie cechy zmian miażdżycowych predysponują do wystąpienia nagłego zgonu oraz opracowanie metod umożliwiających zabezpieczenie takich zmian lub zahamowanie ich progresji.

Według danych Głównego Urzędu Statystycznego za 2013 rok w Polsce z powodu chorób układu sercowo-naczyniowego zmarło 78 563 osoby.

Rozwój koncepcji ranliwej/niestabilnej blaszki miażdżycowej

Koncepcja, iż nagły zgon sercowy może być związany z pęknięciem blaszki miażdżycowej w świetle naczyń wieńcowych prawdopodobnie po raz pierwszy pojawiła się w 1844 roku na podstawie wnikliwie przeprowadzonej autopsji słynnego duńskiego artysty Bertela Thorvaldsena, zmarłego tragicznie w teatrze w Kopenhadze [3]. W 1934 roku Timothy Leary dokonał interesującego porównania wyglądu blaszki miażdżycowej do ropnia zlokalizowanego w ścianie naczyń [4].

Do 1980 roku istniały różne opinie odnośnie tego, czy zakrzep stwierdzany w świetle tętnicy wieńcowej podczas badania autopsyjnego pacjentów był przyczyną czy następstwem przebytego zawału. Ostatecznie w 1980 roku DeWood i wsp. [5] dzięki badaniom angiograficznym dostarczyli przekonujących dowodów na to, że skrzeplina wewnątrz tętnicy wieńcowej jest bezpośrednią przyczyną zawału mięśnia sercowego. W 1985 roku Davies i Thomas wykazali, że w 90% przypadków nagłego zgonu sercowego pęknięcie blaszki było przyczyną zakrzepicy w świetle naczyń [6]. Muller i wsp. [7] w 1989 roku określili nieistotne hemodynamicznie blaszki miażdżycowe z wysokim ryzykiem pęknięcia jako niestabilne/ranliwe.

Definicja niestabilnej/ranliwej blaszki miażdżycowej

U zdecydowanej większości pacjentów (~70%) zmiany w tętnicach wieńcowych, które doprowadziły do wystąpienia ostrego zespołu wieńcowego (ACS, *acute coronary syndrome*) nie powodowały wcześniej ich istotnego zwężenia (średnica światła tętnicy zmniejszona o < 50%, pole przekroju zmniejszone o < 75%). W kontrolnych badaniach koronarograficznych wykonanych u pacjentów po przebyłym zawału serca oraz po skutecznym leczeniu fibrynolitycznym zazwyczaj uwidaczniano niewielkie zmiany w naczyniach odpowiedzialnych za zawał [8]. Wydaje

Atherosclerosis, an inflammatory process affecting the wall of the blood vessel dominated by macrophages, constitutes the leading cause of death in developing countries. The common opinion is that atherosclerosis is a disease associated with modern lifestyle, however current diagnostic imaging methods allowed to recognize it even in the arteries of the 3500-year old mummies [1]. This raises the question: whether it is naturally associated with aging in humans or if its development is genetically predisposed [2]. Probably, the role of modern medical science will be to determine which characteristics of atherosclerotic lesions predispose to sudden death, and to develop methods to protect such lesions or at least inhibit their progression.

According to the Central Statistical Office data for 2013 year in Poland, due to cardiovascular diseases 78 563 people died.

Development of the concept of vulnerable/unstable atherosclerotic plaque

The concept that sudden cardiac death may be related to plaque rupture in the lumen of the coronary artery appeared probably in 1844 on the basis of carefully conducted autopsy of the famous Danish artist Bertel Thorvaldsen, who died tragically at the theater in Copenhagen [3]. In 1934, Leary aptly compared the appearance of atherosclerotic plaque to abscess located in the vessel wall [4].

Until 1980, it was unclear whether the clot found in a lumen of the coronary artery during the autopsy of patients was a cause or a consequence of myocardial infarction. Finally, in 1980, DeWood *et al.* [5] provided convincing evidence thanks to angiography that clot inside a coronary artery is the direct cause of myocardial infarction. In 1985, Davies showed that in 90% cases of sudden cardiac death plaque rupture was the cause of thrombosis in the lumen of artery [6]. In 1989, Muller *et al.* first named hemodynamically insignificant plaques with a high risk of rupture as unstable/vulnerable [7].

The definition of an unstable/vulnerable atherosclerotic plaque

In the majority of patients (~70%), changes in the coronary arteries, which lead to an acute coronary syndrome (ACS), do not cause significant stenosis (the artery lumen diameter reduced by < 50%, cross-sectional area reduced by < 75%). In the control coronary angiography performed in these patients after myocardial infarction with successful thrombolysis, only small changes in the vessels responsible for the infarction are usually visible [8]. Thus, if not the plaque size is the most important feature for determining increased risk of developing ACS, there should be other morphological features of atherosclerotic lesions for better rupture risk stratification. For this purpose,

się więc, że skoro nie rozmiar blaszki jest najważniejszą cechą determinującą podwyższone ryzyko wystąpienia ACS to należy szukać innych cech morfologicznych zmian miażdżycowych, które pozwoliłyby na lepszą stratyfikację ryzyka jej pęknięcia.

W tym celu blaszki miażdżycowe podzielono na blaszki stabilne oraz niestabilne. Stabilna blaszka miażdżycowa ma małą zawartość lipidów zlokalizowanych pozakomórkowo i jest oddzielona od światła naczynia krwionośnego zwartą, włóknistą czapeczką zabezpieczającą przed pęknięciem. Niestabilna blaszka miażdżycowa jest określana również jako ranliwa, trombogenna czy blaszka podwyższonego ryzyka, a jej pełna definicja brzmi: „blaszka miażdżycowa, zidentyfikowana przyżyciowo, o udokumentowanym wysokim prawdopodobieństwie pęknięcia z trombogennymi następstwami” [9]. Obecne określenie „niestabilna blaszka miażdżycowa” odnosi się do blaszki, która posiada duży, martwiczy rdzeń lipidowy, a grubość czapeczki łącznotkankowej nie przekracza 65 μm . W jej obrębie dochodzi do nasilenia procesu zapalnego zdominowanego przez makrofagi i limfocyty T. Często obserwowany jest proces neowaskularyzacji i krwotoki do wnętrza blaszki [10].

W prawidłowych tętnicach rozwój procesu miażdżycowego trwa dekady. W konsekwencji prowadzi do rozwoju początkowo bezobjawowych zmian miażdżycowych, które mogą przekształcić się w blaszki wysokiego ryzyka, a na ich podłożu może dojść do powstania skrzepliny. Powyżej opisany proces może prowadzić do: (i) bezobjawowej progresji stenozy; (ii) objawowej stenozy wywołującej objawy stabilnej dławicy piersiowej; (iii) ACS dającego objawy niestabilnej dławicy, zawału serca lub doprowadzający do nagłego zgonu sercowego [11]. Należy zwrócić uwagę, że późniejsze stadia rozwoju mają tendencję do nawrotowości w stosunkowo krótkich odstępach czasu, szczególnie dobrze udokumentowane przez wysokie krótkoterminowe ryzyko powtórnego zdarzenia u pacjentów po przebytych ACS [12].

Patogeneza występowania zmian miażdżycowych

Wstępem do rozwoju zmian miażdżycowych są prawdopodobnie zaburzenia funkcji śródbłonna naczyniowego. Śródbłonek stanowi wyściółkę naczynia utworzoną z jednej warstwy wysoce wyspecjalizowanych komórek płaskich o niewielkim jądrze. Komórki śródbłonna są ze sobą ściśle połączone, spoczywają na kolagenowej błonie podstawnej, tworząc wraz z nią błonę wewnętrzną (łac. *tunica intima*), będącą wewnętrzną warstwą ściany naczynia, stanowiącą barierę między światłem naczynia a warstwą miocytów gładkich. Komórki śródbłonna biorą udział w czynnym transporcie substancji chemicznych oraz wydzielają wiele substancji aktywnych biologicznie działających wazomotorycznie, wpływających na krzepnięcie i fibrylizację, a także uczestniczących w regulacji procesów zapalnych [13].

Do potwierdzonych czynników sprzyjających zaburzeniom funkcji śródbłonna należą: nadciśnienie tętnicze,

the atherosclerotic plaque is divided into stable and unstable. The stable plaque has a low content of lipids located extracellularly and is separated from blood vessel lumen with compact fibrous cap protecting it against fracture. Unstable plaque (also referred to as vulnerable, thrombogenic or increased risk plaque), is defined as follows: “plaque, identified during life, with proven high probability of rupture with thrombogenic consequences” [9]. Unstable atherosclerotic plaque is the plaque with a large, necrotic lipid core and the thickness of the cap connective tissue not exceeding 65 microns. Within such plaque intensifies inflammation dominated by macrophages and T lymphocytes. Moreover, neovascularization and hemorrhages inside the plaque are frequently observed [10].

Development of atherosclerotic process in normal arteries takes decades. It leads at first to the development of asymptomatic atherosclerotic lesions that can transform into high-risk plaques, and then to thrombus. This process can lead to: (i) progression of asymptomatic stenosis; (ii) symptomatic stenosis inducing symptoms of stable angina pectoris; (iii) acute coronary syndrome with symptoms of unstable angina, myocardial infarction, or causing sudden cardiac death [11]. It should be noted that the later stages of atherosclerosis development tend to recurrence in a relatively short period of time, which is well documented by high short-term risk of re-occurrences in patients after acute coronary syndrome [12].

The pathogenesis of atherosclerotic lesions

The development of atherosclerotic lesions is probably precluded by dysfunctions of endothelium. The endothelium is a single layer of highly specialized flat cells with little nucleus, forming the lining of the vessel. Closely connected endothelial cells, resting on the basement membrane collagen, form an inner membrane (*Tunica intima*), which is the inner layer of the vessel wall and a barrier between the lumen and the layer of smooth myocytes. Endothelial cells are involved in the active transport of chemical substances, secrete a number of biologically active substances (vasomotor), affect both the coagulation and fibrinolysis, and participate in regulation of inflammatory processes [13].

Confirmed factors contributing to endothelial dysfunction include: hypertension, hyperlipidemia, protein glycation in diabetes, toxins present in tobacco smoke, circulating biogenic amines and immune complexes [14].

Participation of blood flow disturbances in the formation of vascular endothelial dysfunction

Distribution of biomechanical forces within the vessel, related to the variable speed of blood flow resulting from cardiac circle, largely affects the vascular endothelial function. The main types of forces that should

hiperlipidemia, glikacja białek w przebiegu cukrzycy, toksyny zawarte w dymie tytoniowym oraz krążące aminy biogenne i kompleksy immunologiczne [14].

Udział zaburzeń przepływu krwi w powstaniu dysfunkcji śródbłonka naczyniowego

Na funkcję śródbłonka naczyniowego w dużej mierze wpływa rozkład sił biomechanicznych oddziałujących w obrębie naczynia. Są one związane ze zmienną prędkością przepływu krwi wynikającą z cyklicznej pracy serca. Głównymi rodzajami sił, które należy w tym wypadku rozpatrywać, są naprężenie rozciągające (TS, *tensile stress*) i naprężenie ścinające (ESS, *endothelial shear stress*). Naprężenie rozciągające (TS) generowane jest przez ciśnienie krwi znajdujące się w danym momencie w naczyniu, natomiast naprężenie ścinające (ESS) związane jest z przenoszeniem naprężeń pomiędzy strumieniem płynącej krwi i ścianą naczynia krwionośnego [15]. Mimo że wartość TS jest znacznie większa od ESS, to właśnie ESS odgrywa zasadniczą rolę w rozwoju zmian miażdżycowych. Podczas przepływu krwi dochodzi do rozpraszania energii mechanicznej związanej z transportem pędu i energii kinetycznej elementów morfotycznych. Przy niejednorodnym rozkładzie średniego pędu krwinek wyrównywanie występuje na skutek tarcia wewnętrznego, czyli naprężeń stycznych pomiędzy nimi. Właściwość przenoszenia naprężeń pomiędzy sąsiednimi warstwami płynu nazywamy lepkością. Lepkość krwi oraz naprężenie styczne pomiędzy strumieniem krwi a ścianą naczynia indukuje powstanie ESS. Oznacza to, że na śródbłonek naczyniowy działa siła styczna, zgodna z kierunkiem przepływu, której wielkość w dużym uproszczeniu odpowiada iloczynowi lepkości krwi oraz gradientu prędkości przepływu [16]. Upraszczając można również stwierdzić, że lepkość krwi w tym wypadku jest wartością stałą, natomiast gradient prędkości przepływu, wynikający z cyklicznej pracy serca, jest zmienną. Co ciekawe wykazano, że w procesie aterogenezy istotną rolę odgrywają małe i oscylacyjne ESS, które powstają na wewnętrznych krzywiznach naczyń, gdzie prędkość przepływu jest mniejsza. Zwrot wektora oscylacyjnych ESS nie jest zgodny z przepływem w obu fazach pracy serca. W konsekwencji dochodzi do przyściennych zaburzeń w przepływie oraz zalegania krwi, w szczególności przy bocznych ścianach bifurkacji oraz tuż za zwężającą światło zmianą miażdżycową [17]. Efektorem dla tych oddziaływań są komórki śródbłonka naczyniowego, które w procesie mechanotransdukcji przetwarzają sygnały mechaniczne w biologiczne. Co oznacza, że w odpowiedzi na zaburzony przepływ, w tym małe i oscylacyjne ESS oraz (w mniejszym stopniu) zwiększone TS, dochodzi do zainicjowania zmiany fenotypu komórki śródbłonka naczyniowego [18]. Zwiększa się ekspresja genów sprzyjających odkładaniu złogów. Przy udziale czynników transkrypcyjnych, głównie czynnika jądrowego kappa B (NF- κ B, *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells*) i aktywatora proteiny 1 (AP-1, *activator protein 1*) śródbłonek przybiera proza-

be considered are tensile stress (TS) and endothelial shear stress (ESS). The tensile stress is generated by the pressure of blood in the vessel in a given time, while the shear stress is caused by a friction of the flowing blood on the endothelial surface of blood vessel wall [15]. Although the value of the TS is considerably greater than the ESS, the latter plays a major role in the development of atherosclerotic lesions. Both the mechanical energy associated with transport of momentum and the kinetic energy of morphotic elements are dissipated during the blood flow. When the distribution of the flow of blood cells momentum is heterogeneous, an internal friction or shear occurs between them. Such stress transmission between adjacent layers of fluid is called viscosity. Blood viscosity and shear stress between the blood stream and the vessel wall induce ESS. As a result, tangential force (to the flow direction) acts on the endothelium, whose size can be approximated as product of blood viscosity and flow velocity gradient [16]. For further simplification, blood viscosity can be described as constant and the velocity gradient as variable, related to the cyclic heart rate. Interestingly, it has been shown that in the process of atherogenesis an important role plays low and oscillatory ESS is raising in the inner curved vessel (where the flow velocity is lower). The sense of oscillatory ESS vector is not compatible with the blood flow in both phases of the cardiac cycle. Consequently, irregularity in a perimeter flow and blood residue arises, in particular by side walls of the bifurcation and behind the tapered lumen of atherosclerotic changes [17]. Effector for these interactions are the vascular endothelial cells which process mechanical signals to biological by mechanotransduction. In response to a disturbed flow including low and oscillatory ESS and (to a lower degree) increased TS, a change in the phenotype of vascular endothelial cells initiates [18]. Also, gene expression increases and promotes the accumulation of deposits. In the presence of transcription factors, mostly nuclear factor kappa B (NF- κ B) and activator protein 1 (AP-1), the endothelium becomes pro-inflammatory and thus pro-atherogenic [19]. It manifests as a decrease in the production rate of nitric oxide (NO) and prostacyclin (PGI₂), both acting vasodilatory and antiplatelet. In contrast, the production of the endothelin-1 (ET-1), a protein acting vasoconstrictively, pro-inflammatory and enhancing oxidative stress is increased [20]. The asymmetrical nature of the blood flow leads to change of shape, to gradual loss of integrity of endothelial cells and also to thinning and depletion of glycocalyx, which increases the permeability of the endothelium for lipoproteins, monocytes and other blood atherogenic particles [21]. This results in an increased expression of proteins responsible for adhesion to the endothelium and transmigration of monocytes for the inner layer of vessel wall. The process involves: E-selectins, slowing down the rolling of leukocytes on the endothelium, monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1), and adhesins including

palny i tym samym proaterogeny fenotyp [19]. Objawia się to zmniejszeniem produkcji tlenku azotu (NO, *nitric oxide*) i prostacykliny (PGI₂), które mają działanie zarówno wazodylatacyjne, jak i przeciw płytkowe. Natomiast zwiększa się produkcja endoteliny-1 (ET-1, *endothelin 1*), białka mającego działanie wazokonstrykcyjne, prozapalne i powodujące nasilenie stresu oksydacyjnego [20]. Asymetryczny charakter przepływu doprowadza do zmiany kształtu oraz stopniowej utraty integralności komórek śródbłonna. Ponadto powoduje ścieńczenie i zubożenie glikokaliksu, co zwiększa przepuszczalność endotelium dla lipoprotein, monocytów i innych krwiopochodnych cząstek aterogennych [21]. Dochodzi do zwiększonej ekspresji białek odpowiedzialnych za przyleganie do śródbłonna oraz za transmigrację monocytów do warstwy wewnętrznej ściany naczynia. W procesie tym uczestniczą: E-selektyny spowalniające ruch toczących się po śródbłonu leukocytów, białko chemotaktyczne monocytów typu 1 (MCP-1, *monocyte chemotactic protein 1*), adhezywny, w tym międzykomórkowa cząsteczka adhezyjna typu 1 (ICAM-1, *intercellular adhesion molecule 1*) oraz naczyniowa cząsteczka przylegania komórkowego typu 1 (VCAM-1, *vascular cell adhesion molecule 1*). Ligandem dla VCAM-1 jest znajdująca się na monocytach i limfocytach integryna α4β1 (VLA-4, *very late antigen 4*). Nasilenie produkcji białek adhezywnych przyczynia się do ułatwienia przenikania makrofagów, leukocytów oraz płytek krwi do warstwy wewnętrznej, gdzie uwalniają czynniki prozapalne, to jest cytokiny (TNF-α, IL-1, INF-γ), czynniki wzrostu [płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF, *platelet-derived growth factor*), czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF, *vascular endothelial growth factor*)] oraz inhibitory wzrostu [transformujący czynnik wzrostu beta (TGF-β, *transforming growth factor beta*), inhibitor aktywatora plazminogenu-1 (PAI-1)]. Płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF) i czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF) stymulują przenikanie miocytów gładkich z warstwy wewnętrznej do intymy. Monocyty pod wpływem czynnika stymulującego kolonie makrofagów (M-CSF, *macrophage colony-stimulating factor*) wytwarzanego przez komórki śródbłonna i miocyty ściany naczynia, przekształcają się w makrofagi [22].

Konsekwencją procesu mechanotransdukcji jest również nasilenie reakcji wolnorodnikowych. Wykazano, że nasilone reakcje wolnorodnikowe, poprzez szybsze utlenianie NO i rozprzęganie eNOS, zmniejszają biodostępność NO oraz zaburzają jego wytwarzanie przez endotelium. Nie tylko śródbłonek o fenotypie prozapalnym, ale także wszystkie pozostałe, pobudzone komórki naciekające ścianę naczynia wykazują tendencję do nasilonego stresu oksydacyjnego, co objawia się wzrostem aktywności enzymów zarówno oksydacyjnych (oksydazy ksantynowej, oksydazy NADPH), jak i antyoksydacyjnych (dysmutazy ponadtlenkowej, peroksydazy glutationowej, katalazy) oraz spadkiem poziomu glutationu [23].

Liczba ranliwych blaszek miażdżycowych koreluje z poziomem cholesterolu całkowitego oraz frakcji HDL we krwi pacjentów. Przy podwyższonym poziomie lipidów we krwi wydłuża się czas ich eliminacji z krążenia. To, wraz

intercellular adhesion molecule type 1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule type 1 (VCAM-1) The ligand for VCAM-1 is found on monocytes and lymphocytes integrin VLA-4 (very late antigen 4). Increased rate of production of adhesion molecules facilitate the penetration of macrophages, leukocytes and platelets into the inner layer, which release pro-inflammatory agents as cytokines, TNF-α, IL-1, INF-γ, growth factors – mainly: platelet-derived growth factor (PDGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF), and growth inhibitors: TGF-β, plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1). PDGF and VEGF stimulate passage of smooth myocytes from the inner layer to the intima. Under the influence of macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) produced by endothelial cells and myocytes of the vessel wall, monocytes transform into macrophages [22].

The consequence of mechanotransduction process is also an increased number of free radical reactions. It has been shown that by rapid oxidation of NO (nitric oxide) and uncoupling of eNOS (endothelial nitric oxide synthase), NO bioavailability is reduced, and endothelium production of NO is interfered. Not only endothelium of proinflammatory phenotype, but also all other stimulated cells infiltrating the vessel wall tend to intensify oxidative stress, which results in an increased production of both oxidative (xanthine oxidase and NADPH oxidase) and antioxidative enzymes (superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase) and in a decreased level of glutathione [23].

Number of vulnerable atherosclerotic plaques correlates with the level of total cholesterol and HDL cholesterol in the patients' blood. With the increased level of lipids in blood, time needed for their elimination from the circulation is prolonged. This, together with endothelial dysfunction, promotes lipid penetration and accumulation in the deeper layers of the vessel wall. Intensified free radical reactions lead to lipid oxidation to their oxidized forms — oxy-LDL [24]. The modified LDLs are involved in the activation of macrophages. The monocyte-derived macrophages phagocytose oxidized lipids (particularly oxy-LDL) with the participation of scavenger receptors (SR). This type of receptors is not subject to regulation, opposed to the receptors for LDL apo B/E, which are inhibited by oversupply of LDL particles, thus protecting the cell from overcharging. Scavenger receptors are responsible for the uncontrolled oxy-LDL phagocytosis by macrophages, transforming them into foam cells. The deposition of foam cells (macrophages overloaded with cholesterol) in the endothelium result in fatty infiltration of the vessel wall [25]. This change can be either completely regressed or proceed to the formation of the next stages of atherosclerosis.

The collapse of foam cells leads to the formation of amorphous deposits of extracellular lipids consisting mainly of free cholesterol and its esters

z zaburzeniami funkcji śródbłnka, sprzyja ich przenikaniu i kumulacji w głębszych warstwach ściany naczynia. Następnie, na skutek nasilonych reakcji wolnorodnikowych, dochodzi do utleniania lipidów, w czego wyniku powstają ich utlenione formy, czyli oksy-LDL [24]. Zmodyfikowane LDL uczestniczą w aktywacji makrofagów. Powstałe z monocytów makrofagi fagocytują utlenione lipidy (w szczególności oksy-LDL) przy udziale „receptorów zmiatających” (SR, *scavenger receptors*). Ten rodzaj receptorów nie podlega regulacji w przeciwieństwie do receptorów dla LDL apoB/E, które ulegają zahamowaniu przy nadmiernej podaży cząstek LDL, chroniąc tym samym komórki przed przeładowaniem. Receptory zmiatające (SR) odpowiedzialne są za niekontrolowaną fagocytozę oksy-LDL przez makrofagi, przez co przekształcają się w komórki piankowate. Komórki piankowate, czyli przeładowane cholesterolom makrofagi zdeponowane pod śródbłonkiem, powodują powstanie nacieczenia tłuszczowego ściany naczynia [25]. Jest to zmiana, która może ulec całkowitej regresji lub postępować, prowadząc do powstania kolejnych stadiów zaawansowania miażdżycy.

Rozpad komórek piankowatych prowadzi do powstania bezpostaciowych, pozakomórkowych złożeń lipidów, składających się głównie z wolnego cholesterolu i jego estrów tworzących jądro lipidowe powstającej blaszki miażdżycowej. Patologiczne pogrubienie błony wewnętrznej, czyli obszar pozakomórkowych lipidów usytuowany pod powierzchnią miocytów gładkich stanowi najwcześniejszą zmianę morfologiczną ściany naczynia tętniczego, w której dochodzi do rozwoju zaawansowanych zmian miażdżycowych. Taka pierwotna transformacja zostaje nacieczona przez makrofagi pozostające w jej obrębie i ulegające z czasem apoptozie. Uważa się, że śmierć tych komórek jest odpowiedzialna za przekształcenie do stadium fibroatheroma, czyli blaszki miażdżycowej z czapczką łącznotkankową. Obecność oks-LDL jest nie tylko sygnałem dla makrofagów, ale także dla miocytów gładkich, które przenikają z blaszki środkowej do blaszki wewnętrznej ściany naczynia, gdzie biorą udział w produkcji elementów tkanki łącznej. Otaczająca jądro lipidowe tkanka łączna tworzy czapczkę włóknistą zabezpieczającą blaszkę przed pęknięciem [26]. Powstała blaszka zaburza przepływ laminarny. Ruch okrężny bezpośrednio za nią sprzyja dalszemu wzrostowi długości zmiany począwszy od jej dystalnego końca [27]. Progresywne zwiększanie nacieku zapalnego i apoptozy wraz z martwicą indukowaną narastającą hipoksją prowadzi do dalszego rozwoju blaszki miażdżycowej.

Destabilizujący wpływ krwotoku do wnętrza blaszki

Dostrzeżono również istotny wpływ krwotoku do wnętrza blaszki i jego destabilizujący wpływ na przebieg choroby [28]. W przeciwieństwie do warstwy zewnętrznej (przydanki) i środkowej, w warstwie wewnętrznej prawidłowych ludzkich tętnic wieńcowych nie występuje sieć naczyń krwionośnych. Wzrost objętości zmiany oraz nacieku zapalnego indukuje hipoksję. Cytokiny i czynniki wzrostu, w tym VEGF, wytwarzane przez makrofagi oraz

constituting the nuclear lipid of resulting atherosclerotic plaque. Pathologic intimal thickening — an area of extracellular lipids located below the surface of the smooth myocytes — constitutes the earliest morphological change of arterial wall, in which the development of advanced atherosclerotic lesions occurs. This initial change is infiltrated by macrophages remaining within it and slowly undergoing apoptosis. It is believed that the death of these cells is responsible for the conversion to stage of fibroatheroma, an atherosclerotic plaque with thin cap. The presence of oxy-LDL is not only a signal for macrophages but also for smooth myocytes, which penetrate from the central lamina to inner lamina wall of the vessel, where they are involved in the production of connective tissue. Connective tissue surrounding the nucleus lipid forms fibrous cap which protects plaque from rupture [26]. Founded plaque disrupts laminar flow, and generates a circular flow directly behind it, which favors further length of lesion from the distal end [27]. The progressive increase of inflammatory infiltration and apoptosis with necrosis induced by increasing hypoxia leads to the further development of plaque.

Destabilizing influence of hemorrhage inside the plaque

Hemorrhage inside the plaque has a significant destabilizing impact on the further course of the disease [28]. In contrast to the outer and central layer, in the inner layer of normal human coronary arteries no network of blood vessels exists. The increase in the volume of plaques and inflammatory infiltrate induces hypoxia. Cytokines and growth factors, including VEGF produced by macrophages and T lymphocytes, stimulate penetration of arterioles branches supplying the vessel wall (*vasa vasorum*) into the atherosclerotic plaque. The process of angiogenesis is closely associated with the progression of atherosclerotic lesion. Newly formed, immature blood vessels surrounded by a small amount of pericytes and smooth myocytes with no connections between endothelial cells are leaky, and erythrocytes easily penetrate into the extravascular space. Moreover, these small, fragile vessels become sources of recurrent hemorrhages into the plaque. In the course of this phenomenon, large amounts of phospholipids and free cholesterol contained in the cell membranes of erythrocytes get into the plaque. This causes a rapid increase in the volume of the necrotic core and inflammatory infiltration which is a critical point of development of atherosclerotic change that could lead to the transformation of stable plaque in unstable, with all subsequent consequences [29]. Interestingly, on the surface of the developing plaques reduction in the number of proliferation of vascular endothelial cells is observed, while due to neovascularization proliferation of these cells occurs [30].

limfocyty T stymulują proces wnikania odgałęzień tętniczek zaopatrujących ścianę naczynia (*vasa vasorum*) do wnętrza blaszki miażdżycowej. Proces neoangiogenezy jest ściśle związany z progresją zmiany miażdżycowej. Nowo powstałe, niedojrzałe naczynka otoczone niewielką liczbą perycytów oraz miocytów gładkich z niewykształconymi połączeniami między komórkami endotelium są nieszczelne, przez co erytrocyty z łatwością przenikają do przestrzeni pozanaczyniowej. Te drobne, kruche naczynia stają się też przyczyną powtarzających się krwotoków do wnętrza blaszki. W przebiegu tego zjawiska duże objętości fosfolipidów oraz wolnego cholesterolu zawartego w błonach komórkowych erytrocytów przedostają się w obręb blaszki. Powoduje to gwałtowny wzrost objętości martwiczego rdzenia oraz nacieku zapalnego, co stanowi krytyczny punkt rozwoju zmiany miażdżycowej, mogący prowadzić do przekształcenia stabilnej blaszki w niestabilną, wraz z późniejszymi tego konsekwencjami [29]. Co ciekawe, na powierzchni rozwijającej się blaszki obserwuje się zmniejszenie proliferacji endotelium. Natomiast w wyniku procesu neowaskularyzacji dochodzi do ponownego nasilenia proliferacji tych komórek [30].

Destabilizujący wpływ procesu zapalnego na integralność pokrywy blaszki miażdżycowej

W czapeczce łącznotkankowej występuje kolagen typu I i III. W utrzymaniu jej integralności biorą udział komórki mięśni gładkich ściany naczynia, dzięki produkcji podstawowych białek macierzy zewnątrzkomórkowej, to jest kolagen czy elastyna. Proces ten może zostać zaburzony przez aktywowane limfocyty T z powodu produkowanego przez nie $\text{INF-}\gamma$, hamującego produkcję kolagenu oraz ekspresję ligandu CD40 (CD40L), który stymuluje miocyty oraz zapalne makrofagi do uwalniania i aktywacji enzymów degradujących macierz pozakomórkową [31]. Do aktywacji makrofagów w obrębie czapeczki przyczyniają się także między innymi $\text{TNF-}\alpha$, M-CSF oraz MCP-1. Wszystkie wymienione powyżej czynniki wpływają na utratę cząstek strukturalnych macierzy pozakomórkowej i znaczne osłabienie odporności mechanicznej czapeczki łącznotkankowej blaszki miażdżycowej, czyniąc ją tym samym szczególnie podatną na pęknięcie [32].

Przebieg naturalny miażdżycy

Przez lata, a nawet dekady, rozwijająca się blaszka miażdżycowa nie powoduje zwężenia światła naczynia, dzięki jego kompensacyjnemu powiększeniu przez zmniejszenie średnicy błony sprężystej wewnętrznej znajdującej się tuż pod komórkami śródbłonna. Blaszka miażdżycowa może aż w 40% obejmować błonę sprężystą wewnętrzną, nie wpływając na zwężenie światła naczynia. Zjawisko określane jako pozytywny remodeling lub zjawisko Glagova [33] powodowało, że zmiany te nie były diagnozowane aż do 1987 roku, kiedy to dominującym narzędziem w diagnostyce choroby wieńcowej pozostawała angiografia [34]. Powolna progresja jest przerywana okresami szybko

Destabilizing effect of the inflammatory process on the integrity of atherosclerotic plaque cover

The thin-cap fibroatheroma incorporates collagen type I and III. Smooth muscle cells of the vessel wall participate in maintaining its integrity due to the production of basic extracellular matrix proteins such as collagen and elastin. This process can be disturbed by activated T cells because they produced gamma interferon inhibiting the production of collagen and the expression of CD 40 ligand which stimulates myocytes and inflammatory macrophages to release and activate enzymes degradative to the extracellular matrix [31]. To an activation of macrophages within the thin-cap also contribute: $\text{TNF-}\alpha$, macrophage colony stimulating factor (M-CSF) and MCP-1. All factors listed above contribute to the loss of structural extracellular matrix particles and significantly weaken the mechanical strength of the connective thin-cap of atherosclerotic plaque, thus making it particularly vulnerable to rupture [32].

The natural history of atherosclerosis

Over the years, or even decades, the development of atherosclerotic plaque does not cause luminal obstruction of vessel, as luminal narrowing is compensated by reduction of the diameter of the internal elastic membrane located just below endothelial cells. Atherosclerotic plaque can cover internal elastic membrane up to 40% without affecting the constriction of the vessel lumen. This phenomenon is referred to as positive remodeling or Glagova phenomenon [33] and was not diagnosed until 1987, when the dominant tool in the diagnosis of coronary artery disease remained angiography [34]. Slow progression is interrupted by periods of rapidly progressive atherosclerosis. Only in 11% cases of acute plaque rupture no previous damages within it were found. It is believed that in the process of advanced atherosclerotic plaques recurrent asymptomatic cracks occurs, accompanied by thrombus formation, which is then built in, thus increasing the volume of the existing lesion [35].

Negligible hemodynamically unstable atherosclerotic plaque may have tendency to crack, erosion or may have calcified nodules on the surface. Approximately 2/3 of the plaque erosion cases take place the rupture of plaque, contact of the necrotic core containing thrombogenic substances with a stream of flowing blood and the formation of a blood clot in the lumen of the vessel. In half of the remaining cases, the thin-cap is so dense at the site of damage that interruption is not observed. Instead, thrombus formation due to blood contact with smooth muscle cells and proteoglycans with reduced inflammation process may occur. This type of damage to the plaque has a lower stenosis of the lumen, reduced degree of calcification and lesser infiltration by macrophages and T lymphocytes compared to the ruptured plaque

postępujących zmian miażdżycowych. Tylko w 11% przypadków ostrego pęknięcia blaszki nie wykazano wcześniejszych uszkodzeń w jej obrębie. Uważa się, że w procesie rozwoju zaawansowanej blaszki miażdżycowej dochodzi do powtarzających się, bezobjawowych pęknięć z towarzyszącym powstaniem skrzepliny, która następnie zostaje wbudowana, tym samym zwiększając objętość już istniejącej zmiany [35].

Nieistotna hemodynamicznie niestabilna blaszka miażdżycowa może wykazywać tendencję do pęknięcia, erozji lub mogą występować na jej powierzchni zwapniałe guzki. W około dwóch trzecich przypadków dochodzi do pęknięcia blaszki miażdżycowej oraz kontaktu martwicze-go rdzenia, zawierającego substancje trombogenne, ze strumieniem płynącej krwi i powstania zakrzepu w świetle naczynia. Natomiast w przebiegu drugiej co do częstotści (20–30%) erozji blaszki miażdżycowej w połowie przypadków nie dochodzi do przerwania czapeczki łącznotkankowej, dzięki jej zagęszczeniu w miejscu uszkodzenia. Może jednak dojść do powstania zakrzepu na bazie kontaktu krwi z komórkami mięśni gładkich i proteoglikanami wykazującymi mniejsze nasilenie procesu zapalnego. W porównaniu z pękniętą blaszką miażdżycową, ten typ uszkodzenia charakteryzuje się mniejszym zwężeniem światła naczynia i stopniem uwapnienia oraz słabszym nacieczeniem przez makrofagi i limfocyty T. Częściej jest spotykane w przypadku kobiet i młodszych pacjentów. Zwapniałe guzki powodują, że czapeczka łącznotkankowa jest nieciągła, a powierzchnia blaszki staje się nieregularna i pozbawiona komórek śródbłonna [36].

Niezwykle istotna była obserwacja, że do pęknięcia blaszki dochodzi zwykle w części proksymalnej patologicznie zmienionego naczynia, na obszarze, gdzie występuje najwyższe wtórne ESS. Indukowane przepływem krwi ESS stopniowo prowadzi do osłabienia wytrzymałości mechanicznej czapeczki łącznotkankowej blaszki miażdżycowej, zwiększając jej podatność na pęknięcia, w szczególności przy współwystępujących mikrozwapnieniach [37, 38]. W 70% przypadków zgonów pacjentów z powodu pęknięcia blaszki znaleziono współistniejące zmiany typu blaszki miażdżycowej z cienką czapeczką łącznotkankową (TCFA, *thin cap fibroatheroma*). Podobne zmiany znajdowano u zaledwie 30% pacjentów, u których doszło do zawału na podłożu uwapnionej zmiany (*fibrocalcific*) [39]. Wykazano, że do zamknięcia światła naczynia skrzepliną częściej dochodzi w odcinkach proksymalnych odejścia wszystkich trzech głównych tętnic wieńcowych [40]. Również zmiany typu TCFA częściej występują w odcinkach proksymalnych głównych tętnic wieńcowych [41].

Pęknięta blaszka miażdżycowa wykazuje najwyższy remodeling w porównaniu ze zmianą z krwotokiem później TCFA, blaszek zabliznionych oraz fibroateroma. Natomiast w zmianach z całkowitą niedrożnością lub towarzyszącą erozją śródbłonna nie obserwuje się remodelingu [42].

Ograniczenia koncepcji ranliwej blaszki

Badania morfologiczne powinny dostarczyć informacji, jakie cechy blaszki miażdżycowej mogą wskazywać, że

and is more commonly found in women and younger patients. Calcified nodules cause discontinuity in the thin cap, and plaque surface becomes irregular and devoid of endothelial cells [36].

An observation that a plaque rupture usually occurs in the proximal part of pathologically modified vessels, in the area where secondary ESS concentration is highest, was crucial. ESS-induced blood flow gradually leads to weakening of the mechanical strength of thin-cap of atherosclerotic plaque increasing its susceptibility to cracking, particularly when microcalcifications co-exist [37, 38]. In 70% of deaths of patients with atherosclerotic plaque rupture, the type of plaque with a thin cap fibroatheroma (TCFA) was found. Similar changes were found only in 30% of patients whose heart attack was due to calcified changes (fibrocalcific) [39]. It has been shown that the vessel thrombotic occlusion frequently occurs in the proximal segments of the three major coronary arteries [40], just as TCFA [41].

Ruptured atherosclerotic plaque shows the highest remodeling in comparison to the change with hemorrhage later TCFA, plaques healed and fibroatheroma. However, in the lesion with total occlusion or accompanying erosion of endothelium there is no remodeling observed [42].

Restrictions on concept of vulnerable plaques

The morphological studies should provide characteristics of plaque able to indicate its instability and high risk of rupture. Such characteristics could be applied in modern imaging methods to identify dangerous changes in patients. However, there is still not enough information to determine the exact mechanisms of progression from asymptomatic stage to high-risk changes. One of the reasons for that are problems with establishing the relationship between changes described during the autopsy and processes in vessels during life. Another is difficulty of detecting vulnerable plaques in living patients. Unfortunately, the current mouse models of atherosclerosis rarely go beyond the stage of fibroatheroma. Mostly only mass lipid infiltrated macrophages in the intima are observed, without a well developed fibrous cap or necrosis. Changes of this type have not much of a clinical significance, except the cases of severe hyperlipidemia, when the lumen of the vessel can be closed due the growth of plaques only, but this is rarely found in humans [43]. Contrary, atherosclerotic plaque hemorrhage with blood leaking vasa vasorum, considered an important factor in the development of necrotic core in human is a phenomenon rarely seen in mice. More importantly, the mechanisms of initiation and progression of the disease in humans and mice are very different. Atherosclerotic lesions within the mouse vessels are formed from macrophages, while in humans, the early progression is initiated by smooth muscle cells in the

jest ona niestabilna i niesie ze sobą duże ryzyko pęknięcia. Informacje te powinny być możliwe do wykorzystania we współczesnych metodach obrazowania do identyfikacji niebezpiecznych zmian u pacjentów. Jednak, jak dotąd, wciąż brak informacji pozwalających ustalić dokładnie mechanizmy progresji od bezobjawowego stadium do zmian wysokiego ryzyka. Jedną z przyczyn jest fakt, że trudno ustalić związek pomiędzy zmianami opisywanymi podczas sekcji, a procesami zachodzącymi w naczyniach przyżyciowo. Mają również na to wpływ trudności w wykrywaniu niestabilnych blaszek miażdżycowych u żyjących pacjentów. Niestety w obecnych mysich modelach miażdżycy rzadko udaje się wyjść poza stadium fibroatheroma. Częściej obserwowane są tylko masy lipidowe naciezione makrofagami w błonie wewnętrznej, bez dobrze rozwiniętej czapeczki włóknistej lub martwicy. Zmiany tego typu nie mają dużego znaczenia klinicznego, z wyjątkiem przypadków ciężkiej hiperlipidemii, kiedy to światło naczynia może zostać zamknięte wyłącznie przez wzrost blaszki. Jednak są to przypadki niezwykle rzadko występujące u ludzi [43]. Także uważany za ważny czynnik w rozwoju martwiczego rdzenia ludzkiej blaszki miażdżycowej, krwotok z nieszczelnych naczyń *vasa vasorum* jest zjawiskiem rzadko obserwowanym u myszy. Mechanizmy inicjacji i progresji choroby u ludzi oraz gryzoni doświadczalnych znacznie się różnią. Zmiany miażdżycowe w obrębie mysich naczyń powstają z makrofagów, podczas gdy u ludzi, wczesna progresja zmian inicjowana jest przez komórki mięśni gładkich w środowisku proteoglikanów i kolagenu z dyskretnymi depozytami lipidów (tak zwane patologiczne zgrubienie błony wewnętrznej) [44, 45]. Rozwój zmiany w kolejnych stadiach wydaje się jednak być podobny, co oznacza, że formowanie się włóknistej czapeczki, proteoliza, aktywacja i śmierć komórek u myszy przypominają procesy zachodzące w ludzkich naczyniach. Dlatego też zaproponowano inną klasyfikację zmian miażdżycowych opisywanych u myszy opartą o stopień nacieczenia przez makrofagi [46]. Prawdopodobnie najbardziej zaawansowaną zmianą miażdżycową u myszy jest ogniskowa, centralna degradacja z rozległym zaawansowanym zapaleniem, komórkami tucznymi i neowaskularyzacją, w przeciwieństwie do pękniętej blaszki u ludzi.

Rola układu krzepnięcia

Ostry zespół wieńcowy (ACS) jest związany ze zwiększoną generacją trombiny. Już we wczesnych zmianach miażdżycowych obserwuje się zwiększoną ilość fibrynogenu, fibryny oraz produktów ich rozpadu, a wraz z progresją zmiany i pogrubieniem błony wewnętrznej rośnie ich ilość. Trombina odgrywa kluczową rolę nie tylko w kaskadzie krzepnięcia, ale jest również silnym czynnikiem prozapalnym i proaterogennym. Wykazano, że może nasilać zapalenie wywołane niedokrwieniem (będące skutkiem zakrzepicy) pośrednio przez generowanie dalszych mediatorów, to jest aktywowane białko C, albo bezpośrednio przez receptory proteaz (PAR, *protease-activated receptor*). Trombina stymuluje rekrutację monocytów poprzez nasilenie ekspresji MCP-1 oddzia-

environment of proteoglycans and collagen with discrete lipid deposits (so-called pathological thickening of the intima) [44, 45]. In contrast, the development of changes in the characteristics of the fibrous cap formation, proteolysis, activation and cell death in mice are similar to the processes in human vessels. Therefore, a different classification of atherosclerotic lesions in mice was proposed, based on the degree of infiltration by macrophages [46]. Perhaps the most advanced atherosclerotic lesion in mice is the focal middle degradation of extensive advanced inflammation, mast cells and neovascularization in contrast to the ruptured plaque in humans.

The role of the coagulation system

ACS is associated with increased thrombin generation. Even in early atherosclerotic lesions an increased amount of fibrinogen, fibrin, and their degradation products has been observed, leading to progression of lesion and thickening of the intima. Thrombin not only plays a key role in the coagulation cascade, but is also a potent pro-inflammatory and proatherogenic factor. It has been shown that thrombin exacerbates inflammation (resulting from thrombosis) indirectly through generation of additional mediators, such as activated protein C or directly, through protease-activated receptor (PAR). Thrombin also stimulates recruitment of monocytes through increase of intensity of MCP-1 expression acting on the receptors CCR2 and is a major factor activating progenitor cells and smooth myocytes after vascular lesion by protease activated receptor type 1 (PAR-1) [47–49].

In the course of inflammation over time, there is a rupture or tear of atherosclerotic plaque and contact of its highly thrombogenic content with the stream of flowing blood. Collagen fibers, contained in the cover of plaque, are exposed. Under normal circumstances negatively charged vascular endothelial cells constitute a physical and electrostatic barrier for the negatively charged red blood cells. Collagen, however, has a positive charge and after the vessel wall damage, its fibers attract negatively charged erythrocytes and platelets. Collagen itself has limited affinity for thrombocytes, but von Willebrand factor (by which it connects to the basement membrane) produced by endothelium is a ligand for the platelets and causes platelets to adhere to sites of injury, particularly at high shearing forces. Initially inactive platelets attached to the injured plaque are rapidly stimulated by collagen. Platelets are also activated by endogenous substances: adenosine diphosphate (ADP), thrombin, epinephrine, thromboxane A₂, serotonin, vasopressin, noradrenaline, trypsin and antigen-antibody complexes. Among the most powerful platelet activators, causing them to degranulate, are thrombin and ADP. Under physiological conditions, the concentration of ADP is adjusted by endothelial and plasmic ADP-ase. Furthermore, endothelium regulates the activity of platelets through

lującego na receptory CCR2 i jest głównym czynnikiem aktywującym komórki progenitorowe oraz miocyty gładkie po urazie naczyniowym poprzez receptor proteaz typu 1 (PAR-1) [47–49].

W przebiegu toczącego się procesu zapalnego z czasem dochodzi do pęknięcia lub rozdarcia blaszki miażdżycowej i kontaktu jej wysoce trombogenicnej zawartości ze strumieniem płynącej krwi. Zawarte w pokrywie blaszki włókna kolagenowe zostają odsłonięte. W prawidłowych warunkach ujemnie naładowane komórki śródbłonka naczyniowego stanowią barierę fizyczną i elektrostatyczną dla ujemnie naładowanych erytrocytów. Jednak głębiej położony kolagen ma ładunek dodatni. Dlatego w momencie uszkodzenia ściany naczynia włókna kolagenowe zmieniają ładunek ściany naczynia i powodują przyciąganie nie tylko ujemnie naładowanych erytrocytów, ale także płytek krwi. Sam kolagen ma ograniczone powinowactwo do trombocytów. Natomiast wytwarzany przez śródbłonek czynnik von Willebranda (dzięki któremu łączy się on z błoną podstawną) jest ligandem dla płytek i za jego pośrednictwem trombocyty ulegają adhezji do miejsc uszkodzenia, zwłaszcza przy dużych siłach ścinających. Początkowo nieaktywne płytki przytwierdzone do uszkodzonej blaszki miażdżycowej ulegają szybkiemu pobudzeniu przez kolagen. Płytki są aktywowane także przez substancje endogenne, głównie difosforan adenozyny (ADP), trombinę, adrenalinę, tromboksan A2, serotoninę, wazopresynę, noradrenalinę, trypsynę i kompleksy antygen-przeciwciała. Jednym z najsilniejszych aktywatorów płytek jest trombina i ADP, który powoduje ich degranulację. W warunkach fizjologicznych stężenie ADP jest regulowane za pomocą ADP-azy śródbłonkowej i osoczowej. Ponadto śródbłonek reguluje aktywność trombocytów, między innymi poprzez produkcję NO i PGI2, które również są substancjami silnie hamującymi ich aktywację. Tak więc aktywacja płytek jest znacznie ułatwiona w obecności dysfunkcyjnego śródbłonka.

Aktywowane płytki przybierają formę sferyczną, następnie wytwarzają pseudopodia i uwalniają substancje wazoaktywne, które poza wpływem na ścianę naczyniową, aktywują receptory GP IIb/IIIa. Znajdujący się na powierzchni płytek receptor GP IIb/IIIa odgrywa kluczową rolę w procesie ich agregacji. W wyniku aktywacji wiąże się z fibrynogenem, umożliwiając wytworzenie mostków fibrynogenowych pomiędzy płytkami [50].

Płytki krwi uczestniczą we wszystkich etapach rozwoju blaszki miażdżycowej. Są źródłem serotoniny oraz czynników wzrostu, które stymulują proliferację miocytów gładkich, a także indukują ekspresję tromboplastyny tkankowej inaczej określanej jako czynnik tkankowy (TF, *tissue factor*) w komórkach śródbłonka i miocytach gładkich [51].

Szczególnie duże zainteresowanie przywiązuje się do roli szlaku sygnałowego CD40-sCD40L. Aktywacja płytek krwi z udziałem trombiny prowadzi do ekspresji CD40L na ich powierzchni. Kolejno w wyniku złączania powstaje jego rozpuszczona forma sCD40L. Proteina ta jest zaliczana do nadrodziny TNF. Część CD40, ligand dla sCD40L, występuje między innymi na powierzchni lim-

the production of NO and PGI 2, inhibiting their activation. Thus, the activation of platelets is facilitated by endothelium dysfunction.

Activated platelets take the spherical form, produce pseudopodia and release vasoactive substances, which affect the vascular wall and activate the receptors GP IIb/IIIa. Located on the platelets surface GP IIb/IIIa receptor plays a key role in the process of aggregation: activated, it binds to fibrinogen enabling formation of fibrinogen bridges between the platelets [50].

Platelets participate in all stages of plaque development. They are the source of serotonin and growth factors that stimulate proliferation of smooth myocytes, and induce expression of tissue thromboplastin (tissue factor, TF) in endothelial cells and smooth myocytes [51].

There is a great interest in the role of CD40-sCD40L signaling pathway. Platelets activation involving thrombin leads to the expression of CD40L on their surface, and as a result of exfoliation, dissolved form of sCD40L is formed. It is known that this protein belongs to TNF superfamily. Molecule CD40, the ligand for sCD40L is present chiefly on the surface of lymphocytes, monocytes, endothelial cells, neutrophils and smooth myocytes. The release of sCD40L from activated platelets stimulates the inflammatory response of endothelial cells, the production of TF, as well as the adhesion of molecules and inflammatory cytokines, including interleukin 6. It also leads to the expression of numerous cytokines, growth factors, clotting factors and extracellular matrix metalloproteinases in cells involved in the development of plaques, and stimulates back platelets. Moreover, it was observed that activated inflammatory cells show increased expression of CD40, making them more sensitive to the pro-inflammatory action of sCD40L. Trail CD40-sCD40L is therefore a link between coagulation and inflammation. It turns out that it plays also an important role in the progression and destabilization of the atherosclerotic plaque [52–55].

The role of tissue factor and inhibitor

The extrinsic pathway of thrombin generation plays dominant role in the pathogenesis of ACS [56]. TF initiates the coagulation cascade by extrinsic via activation of factor VII and formation of complex TF/VIIa that activates factors IX and X. Activated factor Xa, together with factor V in the presence of calcium ions catalyzes the conversion of prothrombin to thrombin. Thrombin leads to non-enzymatic polymerization of fibrinogen to form fibrin, which is stabilized by the participation of factor XIII, thereby forming a stronger fibrin. Apart from coagulation, TF stimulates proliferation and migration of endothelial cells and smooth myocytes in inflammatory processes and neovascularization [57]. Even low levels of active TF in the blood causes immediate clotting [58]. However, most of the circulating TF is associated with cell membranes [59]. Thanks to

focytów, monocytów, endotelium, neutrofilii i miocytów gładkich. Uwalnianie sCD40L z pobudzonych płytek stymuluje reakcję zapalną komórek endotelium, wytwarzanie TF, molekuł adhezyjnych oraz cytokin zapalnych, w tym IL-6. Prowadzi również do ekspresji licznych cytokin, czynników wzrostu, czynników krzepnięcia i metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej w komórkach uczestniczących w rozwoju blaszki oraz pobudza zwrótnie płytki. Co więcej zaobserwowano, że pobudzone zapalnie komórki wykazują podwyższoną ekspresję CD40, dzięki czemu są bardziej wrażliwe na prozapalne działanie sCD40L. Szlak CD40-sCD40L stanowi więc ogniwo łączące proces krzepnięcia i stan zapalny. Jak się okazuje odgrywa także istotną rolę w progresji i destabilizacji blaszki miażdżycowej [52–55].

Rola czynnika tkankowego i jego inhibitora

Dominującą rolę w patogenezie ACS odgrywa zewnątrzpochozny szlak generacji trombiny [56]. Czynn timerkowy (TF) zapoczątkowuje kaskadę krzepnięcia na drodze zewnątrzpochodnej poprzez aktywację czynn timerka VII i utworzeniu kompleksu TF/VIIa, który aktywuje czynn timerki IX i X. Aktywny czynn timerk Xa wraz z czynn timerkiem V w obecności jonów Ca^{2+} katalizuje przemianę protrombiny w trombinę, która doprowadza do nieenzymatycznej polimeryzacji fibrynogenu z utworzeniem fibryny. Fibryna zostaje ustabilizowana przy udziale czynn timerka XIII, dzięki czemu powstaje bardziej wytrzymały włóknik. Poza wpływem na układ krzepnięcia TF stymuluje proliferację i migrację komórek endotelium oraz miocytów gładkich w przebiegu procesów zapalnych i neowaskularyzacji [57]. Już niewielka zawartość aktywnego TF we krwi powoduje natychmiastowe krzepnięcie [58]. Jednak większość krążącego TF jest związana z błonami komórkowymi [59]. Dzięki posttranslacyjnemu zahamowaniu jego aktywności, co określane jest jako „ukrywanie” TF, nie doprowadza on do krzepnięcia krwi, a stanowi jedynie łatwo dostępną pulę zapasową, która może zostać szybko zaktywowana. W wyniku pobudzenia komórki i napływu Ca^{2+} do cytoplazmy dochodzi do „odstąpienia” TF i ujawnienia jego pełnej aktywności prozakrzepowej, poprzez zmianę struktury czwartorzędowej cząsteczki TF [60]. Pewna pula TF znajduje się we krwi krążącej. W większości stanowi ją alternatywnie przecięty TF o znacznie zmniejszonej aktywności [61].

Czynn timerk timerkowy (TF) jest obecny w znacznych ilościach w uszkodzonej blaszce miażdżycowej. W warunkach prawidłowych jest go stosunkowo niewiele w obrębie błony środkowej naczynia czy komórkach mięśni gładkich [62]. Podobnie monocyty i makrofagi wykazują niewielką ekspresję TF. Natomiast w przebiegu procesu zapalnego pod wpływem cytokin wytwarzanych przez limfocyty T pomocnicze typu 1, reaktywnego białka C i innych mediatorów zapalenia dochodzi do zwiększenia ekspresji TF w układzie monocytów/ makrofagów, komórkach śródbłonna i w mniejszym stopniu miocytach gładkich. Limfocyty T typu 2 hamują ten efekt [63].

post-translational inhibition of its activity, referred to as “TF hiding”, it does not lead to blood clotting, and stands as a readily available backup pool that can be rapidly activated. Following stimulation of cells and the influx of calcium ions into the cytoplasm leads to “expose” of TF and disclosing its full thrombogenic activity by changing the quaternary structure of the TF molecule [60]. Some of TF is located in the blood stream, mostly as the alternative cut TF with significantly reduced activity [61].

TF is present in significant quantities in the damaged atherosclerotic plaque. In normal conditions its content is relatively low within the vessel tunica media or in smooth muscle cells [62]. Similarly, monocytes and macrophages have little expression of TF. However, in the inflammatory process due to cytokines produced by lymphocyte T-helper type 1, reactive protein C and other inflammatory mediators, TF expression in the system of monocytes/macrophages is increased in endothelial cells and, to a lesser extent, in smooth myocytes. Lymphocyte T cells type 2 inhibit this effect [63]. Very rich source of TF stands macrophages underwent apoptosis, forming an amorphous mass of extracellular matrix of the atherosclerotic plaque [64]. All the confirmed risk factors for atherosclerosis have a clear impact on the increase in the level of TF in blood [65]. In patients with hypertension, significantly elevated levels of plasma TF antigen were observed, compared with patients with normal blood pressure [66]. High levels of angiotensin II directly induces the expression of TF in monocytes. Furthermore, different blood pressure-lowering drugs can significantly reduce the level of TF [67]. Also in the course of diabetes an increased activity of TF was observed and its reduction as a result of the alignment glycemie [68]. The use of statins in the course of hyperlipidemia also reduces the elevated levels of TF [69]. In addition, antiplatelet drugs reduce the concentration of TF, while the warfarin-type anticoagulants increase its concentration, which can be associated with inhibition of TF consumption clotting [70].

TF inhibitor (TFPI) is triggered in the early stages of coagulation, causing reversible inhibition of factor Xa and forms a complex Xa/TFPI, which inhibits a complex of TF/VIIa — this makes TFPI a dual inhibitor of thrombin formation. Greatest TFPI pool — 50–80% of the vascular po — is bound to the surface of endothelium, about 10% is included in thrombocytes and released upon activation by thrombin, and remaining 10–50% is associated with plasma lipoproteins. Because TFPI is mainly related to the endothelium it stands one of the determinants of its functions. TFPI apart from prevention of thrombosis initiated by the TF inhibits proliferation of endothelial cells and thus prevents occlusion in the course of inflammatory disorders [71, 72]. Under physiological conditions TFPI level in the blood increases after meals. Heparin given intravenously is a potent inducer of endothelial TFPI: it can increase its blood concentration 3–10 times [73].

Bardzo bogatym źródłem TF są szczególnie makrofagi, które uległy apoptozie, tworzące bezpostaciową masę substancji międzykomórkowej blaszki miażdżycowej [64]. Wszystkie potwierdzone czynniki ryzyka rozwoju miażdżycy mają wyraźny wpływ na wzrost poziomu TF we krwi [65]. U pacjentów z nadciśnieniem tętniczym zaobserwowano znacznie podwyższony poziom antygeny osoczowego TF, w porównaniu z osobami z prawidłowym ciśnieniem [66]. Wysoki poziom angiotensyny II bezpośrednio indukuje ekspresję TF w monocytach. Co więcej, różne leki obniżające ciśnienie krwi mogą istotnie zmniejszyć poziom TF [67]. Także w przebiegu cukrzycy zaobserwowano wzrost aktywności TF i jego obniżenie w wyniku wyrównania glikemii [68]. Stosowanie statyn w przebiegu hiperlipidemii również redukuje podwyższony poziom TF [69]. Ponadto leki przeciwplatekcyjne zmniejszają stężenie TF, podczas gdy doustne antykoagulanty (to jest warfaryna) je podwyższają, co może być związane z zahamowaniem zużycia TF w procesach krzepnięcia [70].

Inhibitor TF (TFPI) działa we wczesnej fazie krzepnięcia, powoduje odwracalne hamowanie czynnika Xa i tworzy kompleks Xa/TFPI, który hamuje kompleks TF/VIIa. Jest więc podwójnym inhibitorem tworzenia trombin. Największa pula naczyniowa TFPI jest związana z powierzchnią endotelium (50–80%). Około 10% TFPI zawarte jest w trombocytach i uwalniane w wyniku aktywacji trombiną, a 10–50% jest związane z lipoproteinami osocza. Ponieważ TFPI jest głównie związany ze śródbłonkiem, stanowi jeden z wyznaczników jego funkcji. TFPI oprócz zapobieganiu zakrzepicy inicjowanej przez TF, hamuje proliferację komórek śródbłonka dzięki czemu zapobiega okluzji naczyń w przebiegu zaburzeń o podłożu zapalnym [71, 72]. W warunkach fizjologicznych poziom TFPI we krwi wzrasta po posiłkach. Silnym induktorem uwalniającym TFPI ze śródbłonka jest podana dożylnie heparyna, która podnosi jego stężenie we krwi 3–10 razy [73].

Farmakologiczne strategie terapeutyczne stabilizacji blaszki miażdżycowej

Statyny

Główną grupą leków modyfikującą progresję zmian miażdżycowych są statyny, czyli inhibitory reduktazy 3-hydroksy-3-metyloglutarylo koenzymu A (HMG-CoA). Wykazano, że poza działaniem hipolipemizującym są w stanie doprowadzić do regresji wielkości uwidocznionych blaszek miażdżycowych i istotnie zmniejszyć ryzyko wystąpienia epizodu ACS [74]. Działanie statyn jest przede wszystkim związane z zahamowaniem syntezy cholesterolu w wątrobie. Powoduje to kompensacyjnie zwiększenie ekspresji receptora dla lipoprotein o małej gęstości (LDL-C) na hepatocytach, co prowadzi do nasilenia wychwytu LDL z krwi krążącej. W konsekwencji zmniejsza się stężenie we krwi cholesterolu całkowitego (TCh), frakcji LDL i trójglicerydów (TG) oraz wzrasta zawartość cholesterolu w lipoproteinach o dużej gęstości (HDL-C) [75]. Poza głównym opisanym powyżej efektem hipolipemizującym statyny wykazują również działanie plejotropowe związane z zahamowaniem syntezy kwasu

The pharmacological therapeutic strategies to stabilize atherosclerotic plaque

Statins

The main group of drugs modifying the progression of atherosclerosis are statins—inhibitors of 3-hydroxy 3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMG-CoA). It has been shown that in addition to lipid lowering activity, statins are able to cause regression of atherosclerotic plaques size and significantly reduce the risk of an ACS episode [74]. This results in a compensatory increase in expression of low density lipoprotein (LDL-C) receptor in the hepatocytes, which leads to increased uptake of LDL from the blood stream. As a consequence, blood levels of total cholesterol (TCh), LDL and triglyceride (TG) decrease and the cholesterol content of high density lipoproteins (HDL-C) increases [75]. Apart from the above-described main effect of the lipid lowering, statins also have pleiotropic effect associated with inhibition of synthesis of the mevalonic acid. This compound is essential for the isoprenylation of many proteins, including the signaling proteins regulating endothelial functions. The use of statins reduces the expression of the NF- κ B pathway and increases the activity of PI3 kinase/Akt due to the inhibition of isoprenylation. Akt stimulates phosphorylation of eNOS which can improve the bioavailability of NO. Moreover, Akt modulates the function of the cytoskeleton, migration, shape and permeability of the endothelial cells and inhibits apoptosis [76–78]. Statins show also an inhibitory effect on the coagulation system by reducing TF expression in atherosclerotic plaques [79] through inhibition of NF- κ B [80] and RhoA kinase pathway [81]. A decrease of thrombin generation and an increase in the concentration of thrombomodulin, which is part of the protein C system, was also observed [82, 83]. Statins have a direct impact on the structural changes within the plaque, which could cause them to break. They reduce total lipids and accelerate the transition of liquid cholesterol ester to crystal in stroma lipid plaque, increase synthesis of collagen, decrease metalloproteinase activity and cause loss of adhesion factors. Probably, these drugs also exhibit non-specific anti-inflammatory effects relative to inflammatory processes in the atherosclerotic plaque. It may be indicated by lowering the concentration of acute phase protein (hs-CRP) in serum in patients treated with statins [84]. Thus, both the migration of macrophages into the subendothelial and the activity of blood platelets layer is reduced [85].

Numerous clinical studies evaluated the effects of individual statins on plaque stabilization. In the Heart Protection Study (HPS) it was found that 5-year period of using of simvastatin reduces the risk of death and serious cardiovascular events independently of baseline LDL cholesterol [86].

Marketou *et al.* [87] showed that in patients with hyperlipidemia receiving both simvastatin and atorvastatin reduced IL-6, TNF- α and soluble form of ICAM-1

mewalonowego. Związek ten jest niezbędny w procesie izoprenylacji wielu białek, w tym białek sygnałowych regulujących funkcję śródbłonna. Stwierdzono, że w wyniku stosowania statyn dochodzi do zmniejszenia ekspresji NF- κ B oraz wzrostu aktywności szlaku kinaz PI3/Akt z powodu zahamowania izoprenylacji. Kinaza Akt stymuluje fosforylację eNOS, w efekcie zwiększając biodostępność NO. Ponadto kinaza Akt moduluje funkcję cytoszkieletu, migrację, kształt i przepuszczalność komórek śródbłonna oraz hamuje apoptozę [76–78]. Co więcej, statyny wykazują hamujący wpływ na układ krzepnięcia poprzez zmniejszenie ekspresji TF w blaszkach miażdżycowych [79] w wyniku inhibicji NF- κ B [80] oraz szlaku kinaz RhoA [81]. Zaobserwowano również zmniejszenie generacji trombiny oraz wzrost stężenia trombotomoduliny, która wchodzi w skład układu białka C [82–83]. Statyny wykazują bezpośredni wpływ na zmiany strukturalne w obrębie blaszki, które mogłyby prowadzić do jej pęknięcia. Powodują zmniejszenie całkowitej liczby lipidów oraz przyspieszenie przemian płynnych estrów cholesterolu w kryształy w zrębie lipidowym blaszki, zwiększenie syntezy kolagenu, zmniejszenie stężenia metaloproteinaz, spadek aktywności czynników adhezyjnych. Prawdopodobnie leki te wykazują także niespecyficzne działanie przeciwzapalne w stosunku do procesu zapalnego toczącego się w obrębie blaszki miażdżycowej. Może na to wskazywać obniżenie stężenia białka ostrej fazy (hs-CRP) w surowicy pacjentów stosujących statyny [84]. Tym samym dochodzi do zmniejszenia migracji makrofagów do warstwy podśródbłonkowej oraz aktywności płytek krwi [85].

W licznych badaniach klinicznych oceniano wpływ poszczególnych statyn na stabilizację blaszki miażdżycowej. W jednym z nich *Heart Protection Study* (HPS), stwierdzono, że 5-letnie stosowanie simwastatyny zmniejsza ryzyko zgonu i poważnych incydentów naczyniowych niezależnie od wyjściowych stężeń cholesterolu frakcji LDL [86].

Marketou i wsp. [87] wykazali, że u chorych z hiperlipidemią przyjmujących zarówno simwastatynę, jak i atorwastatynę udało się zmniejszyć stężenie IL-6, TNF- α oraz rozpuszczalnej postaci ICAM-1 (sICAM 1, *soluble intercellular vascular adhesion molecule*). Efekt ten występował jednak wcześniej w grupie pacjentów otrzymujących simwastatynę.

Natomiast w badaniu *Justification for the Use of statins of Primare prevention: an Intervention Trial Evaluation Rosuvastatin* (JUPITER) uzyskano redukcję stężenia białka C-reaktywnego (CRP, *C-reactive protein*) o 37% oraz spadek stężenia cholesterolu frakcji LDL o 50%, w porównaniu z wartościami wyjściowymi u pacjentów stosujących rosuvastatynę przez ponad 12 miesięcy [88].

W badaniu *Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering* (MIRACL) stwierdzono, że wczesne, intensywne leczenie hipolipemizujące pacjentów z ACS za pomocą atorwastatyny istotnie zmniejsza ryzyko ponownego niedokrwienia mięśnia sercowego w grupie zarówno z niskim, jak i prawidłowym stężeniem cholesterolu frakcji LDL [89].

Inhibitory konwertazy angiotensyny

Inhibitory konwertazy angiotensyny to kolejna grupa leków stabilizujących blaszkę miażdżycową. Leki te

(soluble intercellular vascular adhesion molecule, sICAM 1). However, this effect was also found earlier in patients receiving only simvastatin. In JUPITER study (Justification for the Use of Statins of Primary Prevention: an Intervention Trial Evaluation Rosuvastatin), a reduction of CRP concentration by 37% and LDL cholesterol by 50% compared to baseline in patients treated with rosuvastatin over 12 months was observed [88].

The MIRACL study (Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering) found that early, intensive lipid-lowering therapy in patients with acute coronary syndromes using atorvastatin significantly reduces the risk of recurrent ACS in the group with both low and normal levels of LDL [89].

Angiotensin converting enzyme inhibitors

Angiotensin converting enzyme inhibitors (ACE-inhibitors) are another class of drugs stabilizing atherosclerotic plaque. These drugs exert antihypertensive effect, reduce the vessel wall tension and directly inhibit mitogenic effect of angiotensin II on smooth muscle of the vessel. They also decrease the number of macrophages and cholesterol content in plaque and have a beneficial influence on coagulation-fibrinolysis system [90].

The SECURE study (Study to Evaluate Carotid Ultrasound Changes in Patients Treated with Ramipril and Vitamin E) confirmed that long-term use of ramipril slows the progression of atherosclerosis as assessed by ultrasound measurement of the thickness of intima-media wall of the common carotid artery [91].

Spectacular results were obtained in patients treated with perindopril in the PERSPECTIVE study (PERindopril Prospective Effect on Coronary Atherosclerosis by IntraVascular ultrasound Evaluation). After three years of treatment stabilization of atherosclerotic plaque was achieved thanks to a favorable rebuilding the walls of coronary arteries — binding of up to 10-fold reduction in the volume of noncalcified changes [92].

Beta-blockers

Beta-blockers are also classified as plaque stabilizing drugs due to their ability to normalize hemodynamic conditions and prevent instantaneous blood pressure increase which increases the risk of plaque rupture [93].

Other groups of medicines

According to the inflammatory theory of coronary heart disease, chronic infections with pathogens type of *Chlamydia pneumoniae* or *Helicobacter pylori* promote plaque destabilization. Therefore, macrolide antibiotics able to penetrate into the interior of macrophages which may be infected with these atypical pathogens seem to play a role in stabilizing of plaques. Tetracyclines, with a similar antibacterial spectrum are found out to be also strong inhibitors of metalloproteinases [94, 95].

wywierają działanie hipotensyjne, jednocześnie zmniejszając naprężenie ściany naczynia. Bezpośrednio hamują mitogeny wpływ angiotensyny II na mięśniówkę gładką naczyń. Doprowadzają do spadku liczby makrofagów oraz zawartości cholesterolu w blaszce. Ponadto wykazują korzystny wpływ na układ krzepnięcia-fibrinoliza [90].

W badaniu *Study to Evaluate Carotid Ultrasound Changes in Patients Treated with Ramipril and Vitamine E (SECURE)* potwierdzono, że długotrwałe stosowanie ramiprilu spowalnia postęp zmian miażdżycowych, ocenianych ultrasonograficznie przez pomiar grubości błony wewnętrznej i środkowej ściany tętnicy szyjnej wspólnej [91].

Spektakularne efekty uzyskano u pacjentów leczonych perindopilem w badaniu *PERindopril'S Prospective Effect on Coronary aTherosclerosis by IntraVascular ultrasound Evaluation (PERSPECTIVE)*. Po trzech latach terapii osiągnięto stabilizację blaszek miażdżycowych dzięki korzystnej przebudowie ścian tętnic wieńcowych wiążącą się z aż 10-krotną redukcją objętości nieuwapnionych zmian [92].

Beta-adrenolityki

Również beta-adrenolityki zaliczane są do leków stabilizujących blaszkę, poprzez ich zdolność do normalizacji parametrów hemodynamicznych oraz zapobieganiu chwilowemu wyższemu ciśnieniu, które to podwyższają ryzyko pęknięcia blaszki [93].

Inne grupy leków

Według zapalnej teorii choroby niedokrwiennej serca przewlekłe infekcje patogenami typu *Chlamydia pneumoniae* czy *Helicobacter pylori* sprzyjają destabilizacji blaszki. Dlatego antybiotyki makrolidowe, które mają zdolność do przenikania do wnętrza makrofagów mogących być zainfekowanymi tymi atypowymi patogenami wydają się odgrywać rolę w stabilizacji blaszki. Z kolei tetracykliny, posiadające podobne spektrum przeciwbakteryjne, okazują się być także silnymi inhibitorami metaloproteinaz [94, 95].

Bierze się także pod uwagę stabilizujący wpływ na blaszkę miażdżycową naturalnych antyoksydantów, jakimi są witaminy C czy E, które zapobiegają utlenianiu LDL [96].

Leki przeciwplateletowe

Niezwykle istotne znaczenie w zapobieganiu zakrzepicy naczyń tętniczych będącej konsekwencją rozwoju zmian miażdżycowych mają leki przeciwplateletowe. Pozwalają istotnie zmniejszyć ryzyko wystąpienia ACS i udarów niedokrwiniennych mózgu oraz związanej z nimi całkowitej śmiertelności [97]. Leki przeciwplateletowe zapobiegają powstawaniu zakrzepów poprzez zmniejszenie agregacji płytek, głównie w naczyniach tętniczych, gdzie skrzeplina składa się przede wszystkim z trombocytów zaczopowanych na niewielkiej ilości fibryny. Ich działanie opiera się na hamowaniu enzymów uczestniczących w agregacji płytek. W przeciwieństwie do leków przeciwzakrzepowych zasadniczo nie wpływają na proces przekształcania fibrynogenu w fibrynę [50].

Najstarszym lekiem z tej grupy jest oczywiście kwas acetylosalicylowy (ASA), którego działanie przeciwzapal-

Stabilizing effect on plaque by natural antioxidants: vitamins C and E, which prevent the oxidation of LDL are also taken into account [96].

Antiplaetlet drugs

Antiplaetlet drugs are extremely important in the prevention of arterial thrombosis, developed as a consequence of atherosclerosis. They allow to significantly reduce the risk of ACS and ischemic stroke, and related all-cause mortality [97]. Antiplatelet agents prevent the formation of blood clots by reducing platelet aggregation, especially in arterial vessels where clot is composed mostly of clogged thrombocytes with small amount of fibrin. Their action rely on the inhibition of enzymes involved in platelet aggregation. In contrast to anticoagulants, antiplatelet drugs do not substantially affect the process of converting fibrinogen to fibrin [50].

The oldest drug of this group is acetylsalicylic acid (ASA), whose anti-inflammatory, analgesic and antipyretic properties were used in ancient times in the drugs made from the bark of willow trees and other plants rich in salicylates. Since 1899 it has been produced and sold in pure form. It was only in the 1950s when its effect on the increase in bleeding time was noticed. From 1960 to 1980 numerous clinical studies confirmed the effectiveness of salicylic acid as anticoagulant [98]. ASA is an irreversible inhibitor of cyclooxygenase (COX)-1, the enzyme catalyzing the reaction for the synthesis of prostaglandins (PG) H₂. Prostaglandins are precursors of thromboxane TXA₂ which causes platelet aggregation and vasoconstriction. In contrast to other organism cells, the platelets cannot regulate the concentration and activity of (COX)-1, therefore once inhibited they remain inactive until their lysis after about 7 days. ASA at low doses (75–350 mg/day) results in incomplete inactivation of COX-1 in platelets and inhibition of its functions, but platelets function returns completely after 3–4 days. No effects on other platelet pathways makes ASA a drug suitable for use in combination with other antiplatelet agents [99].

A newer group of antiplatelet drugs are thienopyridine-class antiplatelet agents able to inhibit ADP-dependent activation of platelets by irreversible modification of the P2Y₁₂ receptor. This group includes irreversible (clopidogrel, prasugrel, ticlopidine) and reversible (ticagrelor, cangrelor and elinogrel) P2Y₁₂ inhibitors. Their use leads to a decrease in platelets ESS-induced activation. Important issue is the inhibition of ADP-dependent platelet function by short-acting active metabolite of clopidogrel generated by the cytochrome P-450 in the liver gives a much less predictable effect than inhibiting thromboxane-dependent function by ASA. Because of the linear relationship between the inactivation of the P2Y₁₂ receptor and inhibition of platelet function, return of platelet ability to aggregation occurs after 7–8 days, due to their lifetime. Genetic variants of liver enzymes and drug interactions

ne, przeciwbólowe i przeciwgorączkowe było wykorzystywane już w starożytności, kiedy to sporządzano leki z kory wierzby i innych roślin bogatych w salicylany. Jest produkowany i sprzedawany w czystej postaci od 1899 roku. Jednak dopiero w latach 50. XX wieku dostrzeżono jej wpływ na wydłużenie czasu krwawienia. W latach 1960–1980 przeprowadzono liczne badania kliniczne, które potwierdziły skuteczność kwasu salicylowego jako leku przeciwzakrzepowego [98]. Kwas acetylosalicylowy (ASA) jest nieodwracalnym inhibitorem cyklooksygenazy (COX)-1, enzymu katalizującego reakcję syntezy prostaglandyn (PG)H₂. Prostaglandyny są prekursorami trombosanu TXA₂ powodującego agregację trombocytów i skurcz naczyń. W przeciwieństwie do innych komórek organizmu płytki nie posiadają zdolności do regulacji stężenia i aktywności (COX)-1, dlatego raz zahamowane pozostają nieaktywne aż do czasu ich lizy po około siedmiu dniach. Kwas acetylosalicylowy (ASA) stosowany w małych dawkach (75–350 mg/dobę) wywołuje niecałkowitą inaktywację COX-1 w płytkach oraz zahamowanie ich tromboksanozależnej funkcji, natomiast już po 3–4 dniach powraca funkcja płytek. Brak wpływu na inne szlaki płytkowe sprawia, że ASA jest lekiem nadającym się do stosowania w terapii skojarzonej z innymi lekami przeciwplatetkowymi [99].

Nowszą grupą leków przeciwplatetkowych są tienopirydyny. Ich działanie polega na hamowaniu zależnej od ADP aktywacji płytek poprzez nieodwracalną modyfikację receptora purynergicznego P2Y₁₂. W trakcie ich stosowania obserwuje się spadek aktywacji płytek wywołanej ESS. Do tej grupy należą nieodwracalne (klopidogrel, prasugrel, tiklopidynia) i odwracalne (tikagrelor, kangrelor, elinogrel) inhibitory P2Y₁₂. Istotną kwestią jest, że zahamowanie ADP-zależnej funkcji płytek przez krótko działający aktywny metabolit klopidogrelu generowany przez cytochrom P-450 w wątrobie daje znacznie mniej przewidywalny efekt, niż zahamowanie funkcji tromboksanozależnej przez ASA. Z powodu liniowej zależności pomiędzy inaktywacją receptora P2Y₁₂ oraz zahamowaniem funkcji trombocytów, powrót zdolności do agregacji płytek następuje dopiero po 7–8 dniach, zgodnie z czasem, w którym dochodzi do ich wymiany. Ponadto zarówno genetyczne odmiany enzymów wątrobowych, jak i interakcje lekowe (głównie z inhibitorami pompy protonowej) mają duży wpływ na poziom aktywnego metabolitu klopidogrelu we krwi. Wydaje się, iż prasugrel ma bardziej stabilne działanie, jest mniej zależny od funkcji enzymów wątrobowych i nie obserwuje się przy jego stosowaniu interakcji lekowych [99–102].

Antagoniści glikoproteiny (GP) IIb/IIIa zapobiegają wiązaniu fibrynogenu do aktywnego receptora GP IIb/IIIa, uniemożliwiając wytworzenie połączeń fibrynogenowych między płytkami. Obecnie stosowane są trzy leki z tej grupy: abciximab, eptifibatyd, tirofiban w postaci dożylniej [99]. Abciximab, niekompetycyjny inhibitor GPIIb/IIIa, jest humanizowanym, chimerycznym fragmentem Fab mysiego przeciwciała monoklonalnego. Abciximab reaguje krzyżowo z integrzyną $\alpha\beta_3$ występującą na śródbłonku i komórkach mięśni gładkich oraz z integrzyną

(mainly proton pump inhibitors) have a large impact on the level of the active metabolite of clopidogrel in the blood. Prasugrel has a more stable effect: it is less dependent on the function of liver enzymes and drug interactions are not observed [99–102].

Antagonists of the glycoprotein (GP) IIb/IIIa prevent the binding of fibrinogen to active GP IIb/IIIa preventing formation fibrinogen connections between platelets. Currently, there are three drugs in this group: abciximab, eptifibatide, tirofiban in intravenous form [99]. Abciximab, an uncompetitive inhibitor of GPIIb/IIIa is a humanized, a chimeric Fab fragment of mouse monoclonal antibody. Abciximab cross-reacts with $\alpha\beta_3$ integrin which is present on the endothelium and in smooth muscle cells and with Mb2 integrin (CD11b/CD18) of granulocytes and monocytes [103]. The other two blockers GP IIb/IIIa: eptifibatide (cyclic heptapeptide), and tirofiban (peptidomimetic) are competitive inhibitors, affecting particularly the string α_{IIb} of receptor GPIIb/IIIa [104]. Their effect on platelet aggregation is closely related to its concentration in plasma due to the short half-lifetime, so to achieve permanent inhibition of platelet, continuous infusion is necessary.

Based on meta-analysis of 287 randomized trials involving 135,000 patients, it was shown that with different antiplatelet regimens the total number of serious vascular events was reduced by one-fourth, including a heart attack does not lead to death by one-third, a stroke does not lead to death by a quarter, and total mortality associated with the occurrence of vascular events by one-sixth [97].

Anticoagulants

In the process of thrombus formation, not only the participation of atherosclerotic plaque and impaired function of cells of the vascular endothelium should be addressed, but also disturbances of coagulation and fibrinolysis, and the local conditions of blood flow. Plaque rupture leads to the formation of thrombus due to both mechanism of activation of platelets and to coagulation factors. For this reason, it seemed reasonable to combine antiplatelet agent with an anticoagulant in the prevention of atherothrombotic disease and related vascular incidents. However, the combination of warfarin and antiplatelet drug did not provide the desired results due to the significant increase of the bleeding risk and only slight reduction in the risk of ischemic incidents (Warfarin Antiplatelet Vascular Evaluation trial, WAVE) [105]. Anticoagulants with vitamin K antagonist (warfarin, acenocumarole) inhibit vitamin K reduction thus preventing the conversion of clotting factors to their active form. Anticoagulants act multidirectionally on the coagulation system but have a narrow therapeutic window, patients need to be frequently INR-monitored, and have multiple interactions with food and medicines [106]. Modern, oral anticoagulants such as rivaroxaban and apixaban are inhibitors of factor X and dabigatran (thrombin inhib-

aM β 2 (CD11b/CD18) granulocytów i monocytów [103]. Dwaj pozostali antagoniści GP IIb/IIIa, to jest eptifibatyd (cykliczny heptapeptyd) i tirofiban (peptydomimetyk) są kompetycyjnymi inhibitorami, działają szczególnie na łańcuch α_{IIb} receptora GPIIb/IIIa [104]. Ich działanie na agregację płytek krwi jest ściśle związane ze stężeniem w osoczu ze względu na krótkie okresy półtrwania, więc niezbędne jest ich podawanie w ciągłym wlewie do trwałego zahamowania płytek.

Na podstawie metaanalizy obejmującej 287 randomizowanych badań z udziałem 135 000 pacjentów wykazano, że stosując różne schematy leczenia przeciwplateletowego udało się osiągnąć zmniejszenie całkowitej liczby jakiegokolwiek poważnych incydentów naczyniowych o jedną czwartą, w tym: zawału serca niedoprowadzającego do zgonu o jedną trzecią, udaru mózgu niedoprowadzającego do zgonu o jedną czwartą oraz całkowitej śmiertelności związanej z występowaniem incydentów naczyniowych o jedną szóstą [97].

Antykoagulanty

Należy zwrócić uwagę nie tylko na udział blaszki miażdżycowej i upośledzonej funkcji komórek śródbłonna naczyniowego w procesie powstawania skrzepliny, ale również na zaburzenia równowagi procesów krzepnięcia i fibrylizacji oraz na lokalne warunki przepływu krwi. Pęknięcie blaszki prowadzi do powstania skrzepliny zarówno w mechanizmie aktywacji płytek, jak i czynników krzepnięcia. Z tego powodu uzasadnionym wydało się połączenie leku przeciwplateletowego z lekiem przeciwzakrzepowym w prewencji aterosklerozy i związanych z nią incydentów naczyniowych. Jednak kombinacja leku przeciwplateletowego i warfaryny nie przyniosła pożądanego efektu ze względu na znaczny wzrost ryzyka krwawień, w porównaniu z niewielkim obniżeniem ryzyka wystąpienia incydentów niedokrwienia (WAVE, *Warfarin Antiplatelet Vascular Evaluation trial*) [105]. Leki przeciwzakrzepowe z grupy antagonistów witaminy K (warfaryna, acenokumarol) hamują redukcję witaminy K, uniemożliwiając tym samym przekształcenie czynników krzepnięcia w ich aktywne formy. Charakteryzują się wielokierunkowym działaniem na układ krzepnięcia, wąskim oknem terapeutycznym, koniecznością częstego monitorowania INR oraz wchodzi w liczne interakcje z żywnością i lekami [106]. Nowoczesne doustne antykoagulanty, to jest rywaroksan i apiksaban, będące inhibitorami czynnika X oraz dabigatran (inhibitor trombiny) wykazują precyzyjne działanie w poszczególnych etapach syntezy trombiny. Zapobiegając generowaniu trombiny, zmniejszają ryzyko nie tylko zakrzepicy, ale także postępu miażdżycy. Co więcej leki te charakteryzuje łatwość dawkowania, ograniczone interakcje i pacjenci nie są zmuszeni do ciągłej kontroli INR. Jednak brak swoistego *antidotum* w przypadku masywnych krwawień, jak również brak swoistego testu laboratoryjnego do oceny stopnia antykoagulacji w szczególnych sytuacjach klinicznych oraz nadal wysokie koszty terapii są czynnikami ograniczającymi rozpowszechnienie leczenia tego typu [107–109].

itor). They act precisely in the various stages of the thrombin synthesis, and by preventing its generation can reduce the risk of thrombosis, as well as the progression of atherosclerosis. Moreover, these drugs are easy to dose, have limited interactions, and patients are not forced to continuously control INR. However, lack of specific antidote for massive bleeding, lack of specific laboratory test for assessing the degree of anticoagulation in specific clinical situations and the high costs of treatment are factors limiting the spread of this type of therapy [107–109].

Prospects — nanodrugs?

The nanoparticles (NPs) are used to improve the pharmacokinetic, pharmacodynamic and biodistribution of drugs. They are able to improve their solubility, extend the half-life, allow the penetration of biological barriers and ensure accurate delivery to specific tissues. In addition, NPs should inhibit the action of the active substance before it reaches the target, and control its pharmacological activity.

So far, none of the used drugs or nanoparticles has natural affinity for endothelium. When endothelial cells are therapeutic target, one solution to overcome this may be to attach the ligand to the drug nanocarrier. Ligands allow precise transport to the target tissue, ensure the initial physical contact, anchoring to the surface of cells or internalization and secretion or storage in endothelial cells. In this case, the following ligands can be used: antibodies and their derivatives, nutrients, hormones, peptides, aptamers, nucleic acids and other substances for which receptors are located on the surface of endothelium [110].

The inspiration to search for new solutions in nanomedicine were properties of the cellular components of blood which allow them to perform their functions. NPs have in this case a similar task as the circulating blood cells. Platelet-NPs (Platelet-like nanoparticles, PLNs) have a natural affinity to the vessel wall at the lesion site. They fulfill their functions thanks to proper shape, flexibility, biophysical aggregation and to the presence on their surface ligands that mediate adhesion to both the von Willebrand factor and collagen. *In vivo* studies have demonstrated that PLNs can accumulate in the damaged fragment of the vessel, shorten the bleeding time by 65%, effectively imitate and improve platelet function [111].

The use of NPs activated by ESS is very promising. At the point of stenosis of arterial by atherosclerotic plaque or a blood clot, increased blood velocity results in increased shear stress acting on the endothelium and morphotic elements. It is one of the natural mechanisms of platelet activation. Korin *et al.* [112] inspired by this observation designed NPs which are stable at physiological blood flow and in the presence of elevated ESS break up into smaller drug-coated fragments. In an animal model of pulmonary embolism and mesenteric artery clot, researchers have confirmed

Perspektywy — nanoleki?

Nanocząstki (NPs, *nanoparticles*) są wykorzystywane w celu poprawy parametrów farmakokinetycznych, farmakodynamicznych i biodystrybucji leków. Są w stanie poprawić ich rozpuszczalność, wydłużyć okres półtrwania, umożliwić przenikanie przez bariery biologiczne oraz zapewnić precyzyjne dostarczanie do określonych tkanek. Ponadto NPs powinny hamować działanie substancji czynnej, zanim osiągnie miejsce docelowe, a także kontrolować jej aktywność farmakologiczną.

Jak dotąd żadne ze stosowanych leków ani nanocząstek nie wykazują naturalnego powinowactwa do endotelium. W sytuacji gdy celem terapeutycznym są komórki śródbłonna jednym z rozwiązań może być dołączenie ligandu do nanoosiłnika dla dostarczanego leku. Ligandy umożliwiają precyzyjny transport do miejsca docelowego, odpowiadają za początkowy kontakt fizyczny, kotwiczenie, przebywanie na powierzchni komórek lub internalizację oraz wydzielanie lub magazynowanie w komórkach śródbłonna. Funkcje ligandów w tym wypadku mogą pełnić: przeciwciała i ich pochodne, składniki odżywcze, hormony, peptydy, aptamery, kwasy nukleinowe i inne substancje, dla których receptory znajdują się na powierzchni śródbłonna [110].

Inspiracją dla szukania nowych rozwiązań w obszarze nanomedycyny stały się właściwości elementów morfotycznych krwi, które umożliwiają im spełnianie swoich funkcji. Nanocząstki mają w tym wypadku podobne zadania, jak komórki krwi krążącej. Płytkopodobne NPs (PLNs, *platelet-like nanoparticles*) posiadają naturalne powinowactwo do ściany naczynia w miejscu uszkodzenia. Spełniają swoje funkcje dzięki odpowiedniemu kształtowi, elastyczności, właściwościom biofizycznym umożliwiającym agregację oraz obecności na ich powierzchni ligandów pośredniczących w adhezji zarówno do czynnika von Willebranda, jak i kolagenu. W badaniach *in vivo* wykazano, że PLNs kumulują się w uszkodzonym fragmencie naczynia, doprowadzają do skrócenia czasu krwawienia o 65%, skutecznie naśladują i poprawiają funkcje płytek [111].

Niezwykle obiecującą metodą jest wykorzystanie NPs aktywowanych ESS. W miejscu zwężenia naczynia tętniczego przez blaszkę miażdżycową lub zakrzep dochodzi do wzrostu prędkości przepływu krwi, w czego wyniku zwiększa się naprężenie ścinające oddziałujące na śródbłonek i elementy morfotyczne. Jest to jeden z naturalnych mechanizmów aktywacji płytek krwi. Korin i wsp. [112] zainspirowani tą obserwacją zaprojektowali NPs, które są stabilne w warunkach fizjologicznego przepływu krwi, a pod wpływem podwyższonego ESS rozpadają się na mniejsze fragmenty pokryte lekiem. W modelu zwierzęcym zatoru tętnicy płucnej i zakrzepu tętnicy kreskowej badacze potwierdzili skuteczność dostarczanego tą metodą tkankowego aktywatora plazminogenu (tPA, *tissue plasminogen activator*) w leczeniu fibrynolitycznym. Co więcej, efektywna dawka leku była 50-krotnie mniejsza w porównaniu z tPA podanym w formie konwencjonalnej. Osiągnięto tym sposobem

the effectiveness of delivery of tissue plasminogen activator (tPA) in fibrinolytic therapy. Moreover, the effective amount of the drug were 50-fold lower compared to tPA applied the conventional way, which means a significant reduction in the risk of bleeding while maintaining a high concentration of drug only in the target tissue [112]. Perhaps in the future in this way nanodrugs can be delivered with antimetabolic agents, anti-inflammatory agents or drugs inhibiting the adhesion of monocytes released exclusively at the place of spread plaques which constrict the arteries [113].

Summary

Knowledge about the pathogenesis and progression of atherosclerosis is growing. Considering the amount of substances synthesized and secreted by the endothelium, many authors regard it as the largest endocrine organ in the human body. Increasing awareness of atherosclerosis complications tends toward the search for new methods of prevention and treatment. Today's medicine gives us great opportunities to fight with this common condition. Modern drugs do not only treat but also prevent the development of atherosclerosis by acting at different stages. Progress in the interventional cardiology and vascular surgery significantly reduced the number of fatal complications of atherosclerosis. High hopes rise with the development of nanodrugs with high efficiency of the treatment and accompanying minimization of complications.

znaczące obniżenie ryzyka krwawienia przy jednoczesnym zachowaniu wysokiej koncentracji leku wyłącznie w miejscach docelowych [112]. Być może w przyszłości w ten sposób będą mogły być dostarczane nanoleki zawierające substancje antymitotyczne, przeciwzapalne czy hamujące adhezję monocytów, uwalniane wyłącznie w miejscu rozszarpania blaszek miażdżycowych zwężających tętnice [113].

Podsumowanie

Wiedza na temat złożonej patogenezы miażdżycы jest coraz większa. Biorąc pod uwagę liczbę substancji syntezowanych i wydzielanych przez śródbłonek wielu autorów uważa go za największy narząd endokryny w organizmie człowieka. Równocześnie wzrost świadomości powikłań miażdżycы skłania ku poszukiwaniom coraz nowszych metod jej zapobiegania i leczenia. Współczesna medycyna daje duże możliwości walki z tym powszechnym schorzeniem. Dostępne środki farmakologiczne nie tylko leczą, ale też zapobiegają rozwojowi miażdżycы, działając na różnych jej etapach. Duże nadzieje wiąże się z rozwojem nanotechnologii jako dziedziny stwarzającej możliwość w zakresie wysokiej skuteczności i minimalizacji powikłań leczenia miażdżycы.

Piśmiennictwo (References)

1. Abdelfattah A, Allam AH, Wann S *et al.* Atherosclerotic cardiovascular disease in Egyptian women: 1570 BCE-2011 CE. *Int J Cardiol.* 2013; 167: 570–574.
2. Clarke EM, Thompson RC, Allam AH *et al.* Is atherosclerosis fundamental to human aging? Lessons from ancient mummies. *J Cardiol.* 2014; 63: 329–334.
3. Herrick JB. Clinical features of sudden obstruction of the coronary arteries. By James B. Herrick. *JAMA* 1983; 250: 1757–1765.
4. Leary T. Pathology of coronary sclerosis. *Am Heart J.* 1934; 10: 328–337.
5. DeWood MA, Spores J, Notske R *et al.* Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1980; 303: 897–902.
6. Davies MJ, Thomas A. Thrombosis and acute coronary-artery lesions in sudden cardiac ischemic death. *N Engl J Med.* 1984; 310: 1137–1140.
7. Muller JE, Tofler GH, Stone PH. Circadian variation and triggers of onset of acute cardiovascular disease. *Circulation* 1989; 79: 733–743.
8. Ambrose JA, Tannenbaum MA, Alexopoulos D. Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 1988; 12: 56–62.
9. Frygier A, Radomski M, Kochman W, Sukiennik A. Definicja i możliwości przyżyciowej identyfikacji niestabilnej blaszki miażdżycowej. *Folia Cardiologica Excerpta* 2009; 4: 260–264.
10. Finn AV, Nakano M, Narula J, Kolodgie FD, Virmani R. Concept of vulnerable/unstable plaque. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010; 30: 1282–1292.
11. Schaar JA, Muller JE, Falk E *et al.* Terminology for high-risk and vulnerable coronary artery plaques. Report of a meeting on the vulnerable plaque, June 17 and 18, 2003, Santorini, Greece. *Eur Heart J.* 2004; 25: 1077–1082.
12. Rioufol G, Finet G, Giron I *et al.* Multiple atherosclerotic plaque rupture in acute coronary syndrome: a three-vessel intravascular ultrasound study. *Circulation* 2002; 106: 804–808.
13. Obońska K, Grąbczewska Z, Fisz J. Ocena czynności śródbłonna naczyniowego — gdzie jesteśmy, dokąd zmierzamy? *Folia Cardiologica Excerpta* 2010; 5: 292–297.
14. Libby P, Theroux P. Pathophysiology of Coronary Artery Disease. *Circulation* 2005; 111: 3481–3488.
15. Li YS, Haga JH, Chien S. Molecular basis of the effects of shear stress on vascular endothelial cells. *J Biomech.* 2005; 38: 1949–1971.
16. Zarzycki R, Orzechowski Z, Prywer J. *Mechanika płynów w inżynierii i ochronie środowiska.* WNT, Warszawa 2009.
17. Weddell JC, Kwack J, Imoukhuede PI, Masud. A Hemodynamic analysis in an idealized artery tree: differences in wall shear stress between Newtonian and non-Newtonian blood models. *PLoS One* 2015; 10: e0124575.
18. Tarbell JM, Shi ZD, Dunn J, Jo H. Fluid Mechanics, Arterial Disease, and Gene Expression. *Annu Rev Fluid Mech.* 2014; 46: 591–614.
19. García-Cardena G, Comander JI, Blackman BR, Anderson KR, Gimbrone MA. Mechanosensitive endothelial gene expression profiles: scripts for the role of hemodynamics in atherogenesis? *Ann NY Acad Sci.* 2001; 947: 1–6.
20. Won D, Zhu SN, Chen M *et al.* Relative reduction of endothelial nitric-oxide synthase expression and transcription in atherosclerosis-prone regions of the mouse aorta and in an in vitro model of disturbed flow. *Am J Pathol.* 2007; 171: 1691–1704.
21. Potter DR, van Teeffelen JW, Vink H, van den Berg BM. Perturbed mechanotransduction by endothelial surface glycocalyx modification greatly impairs the arteriogenic process. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2015; 1522–1539.
22. Wasilewski J, Kiljański T, Miszański-Jamka K. Role of shear stress and endothelial mechanotransduction in atherogenesis. *Kardiol Pol.* 2011; 69: 717–720.
23. Förstermann U. Oxidative stress in vascular disease: causes, defense mechanisms and potential therapies. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med.* 2008; 5: 338–349.
24. Gradinaru D, Borsa C, Ionescu C, Prada GI. Oxidized LDL and NO synthesis-Biomarkers of endothelial dysfunction and ageing. *Mech Ageing Dev.* 2015; 151: 101–113.
25. Kościcki MA. Choroba niedokrwienne serca. Stabilna i niestabilna dławica piersiowa — budowa blaszki miażdżycowej i jej konsekwencje kliniczne. *KOF* 2010; 2: 137–151.
26. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; 20: 1262–1275.
27. Smedby O. Do plaques grow upstream or downstream? An angiographic study in the femoral artery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 912–918.
28. Patterson JC. The reaction of the arterial wall to intramural hemorrhage. In: *Symposium on Atherosclerosis.* Washington, D.C.: National Academy of Sciences-National Research Council 1954; 2: 65–73.
29. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP *et al.* Atherosclerotic plaque progression and vulnerability to rupture: angiogenesis as a source of intraplaque hemorrhage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005; 25: 2054–2061.
30. O'Brien ER, Garvin MR, Dev R *et al.* Angiogenesis in human coronary atherosclerotic plaques. *Am J Pathol.* 1994; 145: 883–894.
31. Amento EP, Ehsani N, Palmer H, Libby P. Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb.* 1991; 11: 1223–1230.
32. Galis ZS, Muszynski M, Sukhova *et al.* Cytokine-stimulated human vascular smooth muscle cells synthesize a complement of enzymes required for extracellular matrix digestion. *Circ Res.* 1994; 75: 181–189.
33. Ambrose JA, Singh M. Pathophysiology of coronary artery disease leading to acute coronary syndromes. *F1000Prime Rep.* 2015; 7: 08.
34. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Koletts GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med.* 1987; 316: 1371–1375.
35. Finn AV, Nakano M, Narula J, Kolodgie FD, Virmani R. History of Discovery Concept of Vulnerable/Unstable Plaque. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2010; 30: 1282–1292.
36. Otsuka F, Joner M, Prati F, Virmani R, Narula J. Clinical classification of plaque morphology in coronary disease. *Nat Rev Cardiol.* 2014; 11: 379–389.
37. Gijzen FJ, Wentzel JJ, Thury A *et al.* Strain distribution over plaques in human coronary arteries relates to shear stress. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008; 295: 1608–1614.
38. Vengrenyuk Y, Carlier S, Xanthos S *et al.* A hypothesis for vulnerable plaque rupture due to stress-induced debonding around cellular microcalcifications in thin fibrous caps. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 14678–14683.
39. Kolodgie FD, Virmani R, Burke AP *et al.* Pathologic assessment of the vulnerable human coronary plaque. *Heart* 2004; 90: 1385–1391.
40. Wang JC, Normand SL, Mauri L, Kuntz RE. Coronary artery spatial distribution of acute myocardial infarction occlusions. *Circulation* 2004; 110: 278–284.
41. Kolodgie FD, Burke AP, Farb A *et al.* The thin-cap fibroatheroma: a type of vulnerable plaque: the major precursor lesion to acute coronary syndromes. *Curr Opin Cardiol.* 2001; 16: 285–292.

42. Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, Weber D, Virmani R. Morphological predictors of arterial remodeling in coronary atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 297–303.
43. Falk E. Pathogenesis of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 2006; 47: 7–12.
44. Kolodgie FD, Burke AP, Nakazawa G, Virmani R. Is pathologic intimal thickening the key to understanding early plaque progression in human atherosclerotic disease? *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27: 986–989.
45. Nakashima Y, Fujii H, Sumiyoshi S, Wight TN, Sueishi K. Early human atherosclerosis: accumulation of lipid and proteoglycans in intimal thickenings followed by macrophage infiltration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27: 1159–1165.
46. Schwartz SM, Galis ZS, Rosenfeld ME, Falk E. Plaque rupture in humans and mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27: 705–713.
47. Popović M, Smiljanić K, Dobutović B, Syrovets T, Simmet T, Isenović ER. Thrombin and vascular inflammation. *Mol Cell Biochem.* 2012; 359: 301–313.
48. Chen D, Dorling A. Critical roles for thrombin in acute and chronic inflammation. *J Thromb Haemost.* 2009; 7: 122–126.
49. d'Audigier C, Cochain C, Rossi E *et al.* Thrombin receptor PAR-1 activation on endothelial progenitor cells enhances chemotaxis-associated genes expression and leukocyte recruitment by a COX-2-dependent mechanism. *Angiogenesis* 2015; 18: 347–359.
50. Undas A. Fibrin clot properties and their modulation in thrombotic disorders. *Thromb Haemost.* 2014; 112: 32–42.
51. Duchene J, von Hundelshausen P. Platelet-derived chemokines in atherosclerosis. *Hamostaseologie* 2015; 35: 137–141.
52. Schönbeck U, Libby P. CD40 Signaling and Plaque Instability *Circulation Research* 2001; 89: 1092–1103.
53. Mach F, Schonbeck U, Sukhova GK, Atkinson E, Libby P. Reduction of atherosclerosis in mice by inhibition of CD40 signalling. *Nature* 1998; 394: 200–203.
54. Henn V, Slupsky JR, Grafe M *et al.* CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature* 1998; 391: 591–594.
55. Armitage RJ, Fanslow WC, Strockbine L, *et al.* Molecular and biological characterization of a murine ligand for CD40. *Nature* 1992; 357: 80–82.
56. Minnema M, Peters R, de Winter R *et al.* Activation of clotting factors XI and IX in patients with acute myocardial infarction. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 2000; 20: 2489–2493.
57. Monroe D, Key N. The tissue factor-factor VIIa complex: procoagulant activity, regulation, and multitasking. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2007; 5: 1097.
58. Butenas S, Bouchard B, Brummel-Ziedins K, Parhami-Seren B, Mann K. Tissue factor activity in whole blood. *Blood* 2005; 105: 2764–2770.
59. Le D, Rapaport S, Rao L. Relations between factor VIIa binding and expression of factor VIIa/tissue factor catalytic activity on cell surfaces. *Journal of Biological Chemistry* 1992; 267: 15447–15454.
60. Bach RR. Tissue factor encryption. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26: 456–461.
61. Bogdanov V, Balasubramanian V, Hathcock J, Vele O, Lieb M, Nemerson Y. Alternatively spliced human tissue factor: a circulating, soluble, thrombogenic protein. *Nature Medicine* 2003; 4: 458–462.
62. Wilcox J., Smith K., Schwartz S., Gordon D. Localization of tissue factor in the normal vessel wall and in the atherosclerotic plaque. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2839–2843.
63. Sztowski B, Antoniuk S, Poller W, Heinz-Peter S, Rauch U. Procoagulant Soluble Tissue Factor Is Released From Endothelial Cells in Response to Inflammatory Cytokines. *Circ Res.* 2005; 96: 1233–1239.
64. Moreno P, Bernardi V, 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: 3090–3097.
65. Carmeliet P, Mackman N, Moons L *et al.* Role of tissue factor in embryonic blood vessel development. *Nature* 1996; 383: 73–75.
66. Felmeden DC, Spencer CG, Chung NA *et al.* Relation of thrombogenesis in systemic hypertension to angiogenesis and endothelial damage/dysfunction (a substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial [ASCOT]). *Am J Cardiol.* 2003; 92: 400–405.
67. He M, He X, Xie Q, Chen F, He S. Angiotensin II induces the expression of tissue factor and its mechanism in human monocytes. *Thromb Res.* 2006; 117: 579–590.
68. Lim HS, Blann AD, Lip GY. Soluble CD40 ligand, soluble P-selectin, interleukin-6, and tissue factor in diabetes mellitus: relationships to cardiovascular disease and risk factor intervention. *Circulation* 2004; 109: 2524–2528.
69. Eto M, Kozai T, Cosentino F, Joch H, Lüscher TF. Statin prevents tissue factor expression in human endothelial cells: role of Rho/Rho-kinase and Akt pathways. *Circulation* 2002; 105: 1756–1759.
70. Molero L, López-Farré A, Mateos-Cáceres PJ *et al.* Effect of clopidogrel on the expression of inflammatory markers in rabbit ischemic coronary artery. *Br J Pharmacol.* 2005; 146: 419–424.
71. Rucińska M, Gacko M, Skrzydlewski Z. Tissue factor pathway inhibitor (TFPI) and its role in pathology. *Postepy Hig Med Dosw.* 1997; 51: 421–430.
72. Witt I. Tissue factor pathway inhibitor: biochemistry, molecular biology, physiology and physiopathology. *Hamostaseologie* 2002; 22: 30–35.
73. Gori AM, Pepe G, Attanasio M *et al.* Tissue factor reduction and tissue factor pathway inhibitor release after heparin administration. *Thromb Haemost.* 1999; 81: 589–593.
74. Jensen LO, Thayssen P, Pedersen KE, Stender S, Haghfelt T. Regression of coronary atherosclerosis by simvastatin: a serial intravascular ultrasound study. *Circulation* 2004; 110: 265–270.
75. Virmani R, Narula J, Leon MB, Willerson JT. *The Vulnerable Atherosclerotic Plaque: Strategies for Diagnosis and Management.* Wiley-Blackwell 2008.
76. Ridley AJ. Rho-related proteins: actin cytoskeleton and cell cycle. *Curr Opin Genet Dev.* 1995; 5: 24–30.
77. Nobes C, Hall A. Rho GTPases control polarity, protrusion, and adhesion during cell movement. *J Cell Biol.* 1999; 144: 1235–1244.
78. Kureishi Y, Luo Z, Shiojima I *et al.* The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. *Nature Medicine* 2000; 6: 1004–1010.
79. Colli S, Eligini S, Lalli M, Camera M, Paoletti R, Tremoli E. VA statins inhibit tissue factor in cultured human macrophages. A novel mechanism of protection against atherothrombosis. *Arterioscler Thromb and Vasc Biol.* 1997; 17: 265–272.
80. Hilgendorff A, Muth H, Parviz B *et al.* Statins differ in their ability to block NF-kappaB activation in human blood monocytes. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2003; 41: 397–401.
81. Eto M, Kozai T, Cosentino F, Joch H, Luscher TF. Statin prevents tissue factor expression in human endothelial cells. Role of Rho/Rho-kinase and Akt pathways. *Circulation* 2002; 105: 1756–1759.
82. Ambrosi P, Aillaud MF, Habib G *et al.* Fluvastatin decreases soluble thrombomodulin in cardiac transplant recipients. *Thrombosis and Haemostasis* 2000; 83: 46–48.
83. Esmon CT. The protein C pathway. *Chest* 2003; 124: 26–32.
84. Takahashi H. High-sensitivity C-reactive protein (CRP) assay — a novel method for assessment of risk ratios for atherosclerotic vascular diseases. *Rinsho Byori.* 2002; 50: 30–39.

85. Undas A, Celińska-Löwenhoff M, Kaczor M, Musial J. New non-lipid effects of statins and their clinical relevance in cardiovascular disease. *Thromb Haemost.* 2004; 91: 1065–1077.
86. Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 360: 7–22.
87. Marketou ME, Zacharis EA, Nikitovic D *et al.* Early effects of simvastatin versus atorvastatin on oxidative stress and proinflammatory cytokines in hyperlipidemic subjects. *Angiology* 2006; 57: 211–218.
88. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA *et al.* Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359: 2195–2207.
89. Schwartz G, Olsson A, Ezekowitz M *et al.* Effects of Atorvastatin on Early Recurrent Ischemic Events in Acute Coronary Syndromes (MIRACL). *JAMA* 2001; 285: 1711–1718.
90. Heeneman S, Sluimer JC, Daemen MJ. Angiotensin-converting enzyme and vascular remodeling. *Circ Res.* 2007; 101: 441–454.
91. Lonn E, Yusuf S, Dzavik V *et al.* Effects of ramipril and vitamin E on atherosclerosis: the study to evaluate carotid ultrasound changes in patientstreated with ramipril and vitamin E (SECURE). *Circulation* 2001; 103: 919–925.
92. Rodriguez-Granillo GA, Vos J, Bruining N *et al.* Long-term effect of perindopril on coronary atherosclerosis progression (from the perindopril's prospective effect on coronary atherosclerosis by angiography and intravascular ultrasound evaluation [PERSPECTIVE] study). *Am J Cardiol.* 2007; 100: 159–163.
93. Sipahi I, Tuzcu EM, Wolski KE *et al.* Beta-blockers and progression of coronary atherosclerosis: pooled analysis of 4 intravascular ultrasonography trials. *Ann Intern Med.* 2007; 147: 10–18.
94. Janczak D, Ziolkowski P, Szydełko T *et al.* The presence of some cytokines and Chlamydia pneumoniae in the atherosclerotic carotid plaque in patients with carotid artery stenosis. *Postepy Hig Med Dosw.* 2015; 69: 227–232.
95. Vijayvergiya R, Vadivelu R. Role of Helicobacter pylori infection in pathogenesis of atherosclerosis. *World J Cardiol.* 2015; 7: 134–143.
96. Ozkanlar S, Akcay F. Antioxidant vitamins in atherosclerosis — animal experiments and clinical studies. *Adv Clin Exp Med.* 2012; 21: 115–123.
97. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *Antithrombotic Trialists' Collaboration BMJ* 2002; 324: 71–86.
98. Diarmuid Jeffreys. *Aspirin: The Remarkable Story of a Wonder Drug.* Bloomsbury Publishing. New York 2005.
99. Patrono C, Andreotti F, Arnesen H *et al.* Antiplatelet agents for the treatment and prevention of atherothrombosis. *Eur Heart J.* 2011; 32: 2922–2932.
100. Wallentin L, Varenhorst C, James S *et al.* Prasugrel achieves greater and faster P2Y12 receptor-mediated platelet inhibition than clopidogrel due to more efficient generation of its active metabolite in aspirin-treated patients with coronary artery disease. *Eur Heart J.* 2008; 29: 21–30.
101. Hulot JS, Collet JP, Silvain J *et al.* Cardiovascular risk in clopidogrel-treated patients according to cytochrome P450 2C19*2 loss-of-function allele or proton pump inhibitor coadministration. A systematic meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2010; 56: 134–143.
102. Farid NA, Kurihara A, Wrighton S. Metabolism and disposition of the thienopyridine antiplatelet drugs ticlopidine, clopidogrel, and prasugrel in humans. *J Clin Pharmacol* 2010; 50: 126–142.
103. Collier BS. Potential non-glycoprotein IIb/IIIa effects of abciximab. *Am Heart J.* 1999; 138: 1–5.
104. Estevez B, Shen B, Du X. Targeting integrin and integrin signaling in treating thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2015; 35: 24–29.
105. Anand S, Yusuf S, Xie C *et al.* Oral anticoagulant and antiplatelet therapy and peripheral arterial disease. *N Engl J Med.* 2007; 357: 217–27.
106. Jacomella V, Corti N, Husmann M. Novel anticoagulants in the therapy of peripheral arterial and coronary artery disease. *Curr Opin Pharmacol.* 2013; 13: 294–300.
107. Alexander JH, Becker RC, Bhatt DL *et al.* Apixaban, an oral, direct, selective factor Xa inhibitor, in combination with antiplatelet therapy after acute coronary syndrome: results of the Apixaban for Prevention of Acute Ischemic and Safety Events (APPRAISE) trial. *Circulation* 2009; 119: 2877–2885.
108. Kreutz R. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of rivaroxaban an oral, direct factor Xa inhibitor. *Curr Clin Pharmacol.* 2014; 9: 75–83.
109. Blech S, Ebner T, Ludwig-Schwellinger E, Stangier J, Roth W. The metabolism and disposition of the oral direct thrombin inhibitor, dabigatran, in humans. *Drug Metab Dispos.* 2008; 36: 386–399.
110. Howard M, Zern BJ, Anselmo AC, Shuvaev VV, Mitragotri S, Muzykantov V. Vascular targeting of nanocarriers: perplexing aspects of the seemingly straightforward paradigm. *ACS Nano* 2014; 8: 4100–4132.
111. Anselmo AC, Modery-Pawłowski CL, Menegatti S *et al.* Platelet-like nanoparticles: mimicking shape, flexibility, and surface biology of platelets to target vascular injuries. *ACS Nano* 2014; 8: 11243–11253.
112. Korin N, Kanapathipillai M, Matthews BD *et al.* Shear-activated nanotherapeutics for drug targeting to obstructed blood vessels. *Science* 2012; 337: 738–742.
113. Wasilewski J, Poloński L. Shear-activated nanotherapeutics. Are we witnessing a breakthrough in the treatment of thrombosis and atherosclerosis? *Kardiol Pol.* 2012; 70: 876.

Adres do korespondencji (Adress for correspondence):

dr hab. n. med. Bożena Gabryel
Zakład Farmakologii Katedry Farmakologii, Wydział Lekarski w Katowicach
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
ul. Medyków 18, 40–752 Katowice
e-mail: bgabryel@interia.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 25.08.2015 r.