

# Ocena czynności śródbłonna naczyniowego — gdzie jesteśmy, dokąd zmierzamy?

Karolina Obońska<sup>1</sup>, Zofia Grąbczewska<sup>1</sup>, Jacek Fisz<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Kardiologii i Chorób Wewnętrznych *Collegium Medicum* w Bydgoszczy,  
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

<sup>2</sup>Zakład Informatyki i Metodologii Pracy Naukowej *Collegium Medicum* w Bydgoszczy,  
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

## Streszczenie

Śródbłonek naczyniowy odgrywa niezwykle istotną rolę w organizmie. Pojedyncza warstwa komórek wyścielająca ścianę naczyń wydziela wiele substancji o działaniu wazoaktywnym, wpływającym na procesy krzepnięcia i fibrylizacji, biorących udział w regulacji procesów zapalnych, a także w oddziaływaniach między komórkami i ścianą naczyń. Dysfunkcja śródbłonna naczyniowego wyrażająca się zaburzeniem tych złożonych procesów odgrywa zasadniczą rolę w patogenezie miażdżycy. Obecnie dysponujemy biochemicznymi i fizycznymi metodami umożliwiającymi ocenę czynności śródbłonna naczyniowego. Oznaczenie biodostępności tlenu azotu, stężenia czynnika von Willebranda lub cząstek adhezyjnych koreluje z występowaniem czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych. Wśród metod fizycznych uznana metodą oceny funkcji śródbłonna jest określenie stopnia rozszerzenia tętnicy ramiennej po uprzedniej okluzji mankietem manometru tętnic przedramienia lub proksymalnej części ramienia (FMD). Stosuje się również techniki oceniające sztywność naczyń (PWA, PWV). Pośrednią metodą oceny dysfunkcji śródbłonna jest określenie grubości błony środkowej i błony wewnętrznej tętnicy szyjnej (IMT). Zwiększenie grubości tego kompleksu koreluje z dysfunkcją endotelium. Duże nadzieje pokłada się w nowej metodzie oceniającej czynność śródbłonna w odpowiedzi na reaktywne przekrwienie (RH-PAT).

Metody fizyczne, zwłaszcza nieinwazyjne, są kluczowe dla wczesnej identyfikacji osób zagrożonych wystąpieniem zdarzeń sercowo-naczyniowych, dlatego konieczny jest dalszy ich rozwój. (Folia Cardiologica Excerpta 2010; 5, 5: 292–297)

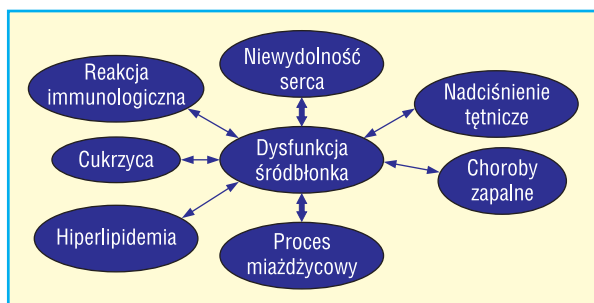
**Słowa kluczowe: dysfunkcja śródbłonna, miażdżycy, tlenek azotu, dylatacja tętnicy indukowana niedokrwieniem, RH-PAT**

## Wstęp

Śródbłonek wyściela pojedynczą warstwą komórek wewnętrzną ścianę naczyń krwionośnych. Komórki śródbłonna zebrane razem utworzyłyby organ o masie około 1 kg, zbudowany z  $1-6 \times 10^{13}$  komórek, dlatego określa się go największym narządem we-

wnątrzwydzielniczym człowieka [1]. Jego komórki wytwarzają liczne substancje działające auto- i parakrynnie i dzięki temu odgrywa on istotną rolę w utrzymaniu homeostazy naczyń [2, 3]. Dysfunkcja śródbłonna stanowi początkowy etap rozwoju miażdżycy, poprzedzający wystąpienie objawów klinicznych [4, 5]. Ocena jego funkcji jest zatem niezwykle istotna w pre-

**Adres do korespondencji:** Katedra i Klinika Kardiologii i Chorób Wewnętrznych, *Collegium Medicum* w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. M. Curie-Skłodowskiej 9, 85–094 Bydgoszcz



**Rycina 1.** Przyczyny i konsekwencje dysfunkcji śródbłonna

wencji, diagnostyce i leczeniu chorób układu sercowo-naczyniowego (ryc. 1). W celu badania czynności śródbłonna naczyniowego wykorzystuje się zarówno metody biochemiczne, jak i fizyczne.

Śródbłonek wydziela liczne substancje działające wazomotorycznie, wpływające na krzepnięcie i fibrylizację, biorące udział w regulacji procesów zapalnych, oddziaływaniu między ścianą naczyń a leukocytami i płytkami krwi oraz substancje wpływające na przepuszczalność ściany naczyń [6].

Kluczowym mediatorem wydzielanym przez śródbłonek jest tlenek azotu (NO) [7] — substancja działająca wazodylatacyjnie, odkryta w 1980 roku przez Furchgotta i Zawadzkiego jako śródbłonkowy czynnik rozszerzający naczynia (EDRF, *endothelium-derived relaxing factor*) [8]. Tlenek azotu powstaje z L-argininy pod wpływem enzymu — izoformy śródbłonkowej syntazy tlenku azotu (eNOS, *endothelial nitric oxide synthase*), która jest produktem genu NOS3. Tlenek azotu jest uwalniany z komórek śródbłonna w odpowiedzi na siły ścinające działające na ścianę naczyń, powstające pod wpływem przepływającej krwi [9, 10]. Tlenek azotu działa poprzez zwiększenie stężenia 3',5'-cyklicznego guanozynomonofosforanu (cGMP, *cyclic guanosine monophosphate*) w komórce efektorowej. Poza działaniem wazodylatacyjnym pośredniczy on w innych procesach, między innymi hamuje ekspresję prozapalnych cytokin, chemokin oraz substancji adhezyjnych leukocytów. Ogranicza również proliferację komórek mięśni gładkich ściany naczyniowej oraz adhezję i agregację płytek krwi. Utrata biologicznej aktywności NO wiąże się ze wzrostem skłonności do wazokonstrykcji, gotowości zakrzepowo-zatorowej, zwiększeniem aktywności procesu zapalnego i proliferacji komórek błony mięśniowej naczyń [2, 3, 9].

Kolejną wydzielaną przez śródbłonek substancją wazoaktywną jest endotelina 1 (ET-1), wyodrębniona w 1988 roku przez Yanagisawa i wsp. [11]. Powstaje ona z pre-proendoteliny — nieaktyw-

nego prekursora, pod wpływem metaloproteinaz ECE-1 (*endothelin converting enzyme-1*) [9]. Endotelina 1 działa wazokonstrykcyjnie, mitogenicznie i proagregacyjnie poprzez pobudzenie receptorów ETA zlokalizowanych na komórkach mięśniówki gładkiej ściany naczyniowej [2, 9]. Z kolei oddziaływanie na receptory ETB znajdujące się na komórkach śródbłonna naczyniowego prowadzi do uwalniania NO i prostacykliny-2 (PGI-2, *prostacyclin-2*), równoważąc w ten sposób efekty stymulacji receptora ETA [9, 12]. Synteza ET-1 jest pobudzana przez angiotensynę II (AT II), hamowana natomiast przez NO [9, 13, 14].

Czynnik von Willebranda to glikoproteina syntetyzowana przez komórki śródbłonna oraz megakariocyty [15, 16]. W komórkach śródbłonna jest on gromadzony w ciałkach Weibela-Palade'a i wydzielany po stymulacji komórki przez substancje będące mediatorami w procesach krzepnięcia (m.in. trombina, plazmina) i zapalenia (leukotrieny, histamina, endotoksyny, czynnik martwicy nowotworu, interleukina 1) [16]. Czynnik von Willebranda pośredniczy w adhezji płytek krwi do śródbłonna oraz transportuje czynnik krzepnięcia VIII [9, 17]. Na osoczowe stężenie czynnika von Willebranda wpływają na przykład: choroby wątroby, podwyższony wskaźnik masy ciała (BMI, *body mass index*), podeszły wiek, nadciśnienie tętnicze. Wykazano wartość prognostyczną tego czynnika w chorobach układu sercowo-naczyniowego oraz chorobach tkanki łącznej [9]. Uważa się, że markerem o większej czułości wczesnego uszkodzenia śródbłonna jest pomiar osoczowego czynnika von Willebranda propeptydu [18].

Trombomodulina — kolejny marker uszkodzenia śródbłonna — to przezbłonowy proteoglikan zlokalizowany na powierzchni komórek endotelium. Kompleks trombina–trombomodulina hamuje tworzenie fibryny i aktywację płytek krwi, aktywuje natomiast krążące białko C [9, 19]. Osoczowe stężenia trombomoduliny wykraczają poza zakres prawidłowych wartości w przebiegu wielu schorzeń, jak na przykład: zespół rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC, *disseminated intravascular coagulation*), posocznica, przewlekła choroba nerek, choroba Gravesa, choroby wątroby, nowotworowe czy choroby tkanki łącznej [9].

Cząsteczki adhezyjne to liczna grupa molekuł wykazujących ekspresję na powierzchni różnych komórek. Uwaga badaczy skupia się głównie na naczyniowej cząsteczce adhezyjnej (VCAM-1, *vascular cell adhesion molecule-1*), E-selektynie (*endothelial-leukocyte adhesion molecule-1*) oraz międzykomórkowej cząsteczce adhezyjnej (ICAM-1, *intercellular adhesion molecule-1*). E-selektyna jest

specyficzna dla komórek śródbłonna, podczas gdy VCAM-1 i ICAM-1 wykazują ekspresję zarówno na komórkach śródbłonna, jak i na limfocytach czy fibroblastach [9, 20]. Wykazano, że stężenie rozpuszczalnych cząsteczek adhezyjnych koreluje z występowaniem czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, a jego wyjściowa wartość zmniejsza się po terapii statynami [21].

### Biochemiczna ocena funkcji śródbłonna

Tlenek azotu, najbardziej specyficzny marker funkcji śródbłonna, jest substancją niezwykle nietrwałą i wszelkie próby oznaczania jego stężenia są mało wiarygodne. Syntezę NO ocenia się zazwyczaj pośrednio. Wyjątkiem są warunki eksperymentalne, kiedy to można wykorzystać specjalne mikroelektrody w metodzie bezpośredniej. W warunkach klinicznych syntezę NO ocenia się na podstawie stężenia produktów jego przemian: L-cytruliny, azotanów i azotynów oraz przekaźnika tlenu azotu — cGMP [3, 9, 22].

Inne substancje biochemiczne wydzielane przez śródbłonek naczyniowy, do których zalicza się wyżej wymieniony czynnik von Willebranda, trombomodulinę, ICAM-1, VCAM-1, E-selektynę oraz tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA, *tissue plasminogen activator*), inhibitor aktywatora plazminogenu-1 (PAI-1, *plasminogen activator inhibitor-1*), P-selektynę i naczyniowy endotelialny czynnik wzrostu (VEGF, *vascular endothelial growth factor*), stanowią markery aktywności endotelium. Substancje te można oznaczać ilościowo immunoenzymatycznie metodą ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*). W chorobach układu sercowo-naczyniowego stwierdzono zwiększone stężenia wymienionych markerów [9, 22–28].

Wśród metod fizycznych oceny śródbłonna naczyniowego można wyróżnić metody inwazyjne i nieinwazyjne (tab. 1).

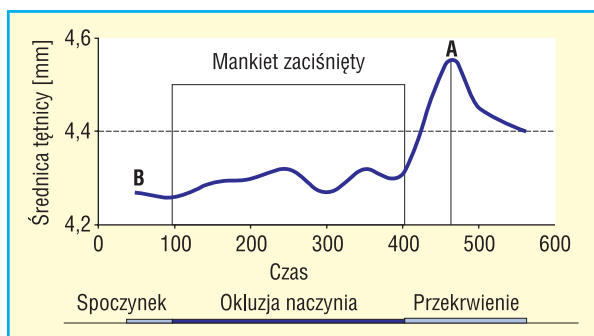
W metodach inwazyjnych wykorzystuje się techniki angiograficzne oraz dopplerowskie pomiaru przepływu krwi w naczyniach wieńcowych (lub obwodowych — głównie przedramienia) w odpowiedzi na podanie agonistów zależnych od endotelium (acetylocholina, bradykinina), bądź niezależnych od endotelium (nitroprusydek) [6, 9]. Inwazyjna natura tych metod czyni je mało przydatnymi w codziennej praktyce, zwłaszcza w ocenie dysfunkcji śródbłonna u osób, u których nie występują objawy.

Naturalną konsekwencją było poszukiwanie i opracowanie metod nieinwazyjnych. Powszechnie uznaną i stosowaną techniką jest ultrasonograficzna ocena dylatacji tętnicy w odpowiedzi na niedokrwienie (FMD, *flow-mediated dilatation*) [3, 6, 9, 29].

W tej metodzie określa się stopień poszerzenia tętnicy ramiennej prowokowany wzmożonym przepływem krwi po uprzedniej okluzji tętnic proksymalnej części ramienia lub przedramienia. Obserwowane zwiększenie przepływu jest wynikiem zmniejszenia napięcia tętnicy, co prowadzi do wzrostu sił ścinających. Krótkotrwałe działanie sił ścinających wyzwała procesy na poziomie komórkowym prowadzące do aktywacji śródbłonnej eNOS, a tym samym do uwolnienia NO [3]. Tętnicę ramienną uwidacznia się w projekcji podłużnej 2D, 4–5 cm powyżej dołu łokciowego, przy użyciu głowicy dopplerowskiej 7–12 MHz. W początkowym etapie badania ocenia się średnicę tętnicy ramiennej i prędkość przepływu krwi. Następnie na 5 min napelnia się mankiety sfigmomanometru umieszczonego w proksymalnej części ramienia bądź dystalnej części przedramienia do wartości przekraczającej o 50 mm Hg wartość ciśnienia skurczowego osoby badanej. Umieszczenie mankiety na ramieniu wywołuje większy przepływ i większą dylatację naczynia po niedokrwieniu w porównaniu z umieszczeniem na przedramieniu [3, 30]. Maksymalny przepływ krwi jest wyznaczany w 15. s, a maksymalna średnica naczynia w 60. s po zwol-

**Tabela 1.** Fizyczne metody oceny śródbłonna naczyniowego

Rodzaj metody	Mierzony parametr
Inwazyjne	Średnica tętnicy Przepływ tętniczy
Nieinwazyjne	
FMD ( <i>flow mediated dilatation</i> )	Dylatacja tętnicy w odpowiedzi na niedokrwienie
IMT ( <i>intima-media thickness</i> )	Grubość kompleksu błony środkowej i wewnętrznej
PWA ( <i>pulse wave analysis</i> )	Sztwność naczyń
PWV ( <i>pulse wave velocity</i> )	
RH-PAT ( <i>reactive hyperemia peripheral arterial tonometry</i> )	Zmiany objętości palca wynikające z pulsacyjnego przepływu tętniczego



**Rycina 2.** Schemat zapisu FMD (*flow-mediated dilatation*) z tętnicy ramiennej (okluzja przedramienia). Parametry wykorzystywane do wyznaczania wskaźnika FMD: B — średnica naczyń w spoczynku; A — maksymalna średnica po deflacji mankieta

nieniu ucisku tętnicy (ryc. 2) [3, 31]. Dylatację tętnicy ramiennej po niedokrwieniu definiuje się jako procentową zmianę średnicy tętnicy ramiennej w czasie przekrwienia w stosunku do średnicy naczyń przed niedokrwieniem [3, 31]:

$$\text{FMD (\%)} = (A - B)/B \times 100\%$$

A — średnica w 60. s przekrwienia;  
B — średnica przed niedokrwieniem.

Wartości prawidłowe FMD dla osób zdrowych zawierają się w granicach 7–10%, natomiast u pacjentów z chorobą wieńcową są one mniejsze, w skrajnych przypadkach sięgają zera [3, 32]. Ocena funkcji śródbłonka przy wykorzystaniu FMD ma wartość prognostyczną w stosunku do przyszłych zdarzeń sercowo-naczyniowych [3, 33, 34]. *Flow-mediated dilatation* to badanie nieinwazyjne, bezpieczne i niewymagające dużego nakładu pracy, niemniej precyzyjność metody zależy w dużym stopniu od doświadczenia operatora [3, 9, 29], co powoduje, że metoda nie zawsze jest powtarzalna.

Kolejną nieinwazyjną metodą oceny funkcji śródbłonka jest pomiar grubości kompleksu błony środkowej i wewnętrznej (IMT, *intima-media thickness*). Typowym miejscem oceny IMT jest tętnica szyjna. Zwiększenie grubości tego kompleksu jest wczesną zmianą w przebiegu miażdżycy i koreluje z różnie ocenianą dysfunkcją endotelium. Ocena IMT jest metodą pośrednio oceniającą czynność śródbłonka naczyniowego, dając jedynie obraz ściany naczyń [3, 6]. Ponadto, podobnie jak FMD, wartość badania zależy od doświadczenia operatora.

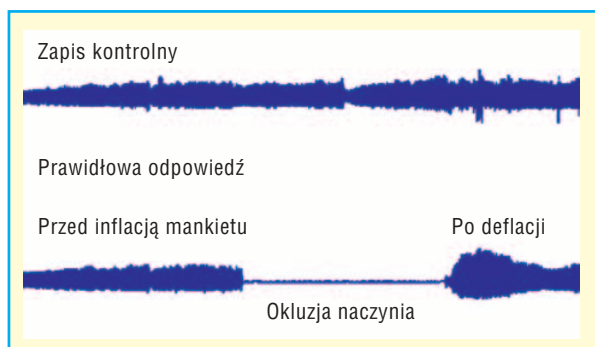
Następna metoda pośredniej oceny śródbłonka w sposób nieinwazyjny opiera się na ocenie fali tętna (PWA, *pulse wave analysis*), co umożliwia szacowanie wartości ciśnienia centralnego [6]. W tej metodzie wykorzystuje się rejestrację fali tętna na tętnicy promieniowej przy użyciu tonometru. Technika ta pozwala na ocenę sztywności naczyń [6].

Tonometria aplanacyjna umożliwia również ocenę propagacji fali tętna (PWV, *pulse wave velocity*). Rejestracja fali tętna odbywa się w dwóch różnych punktach, najczęściej na tętnicy szyjnej i udowej bądź szyjnej i promieniowej. Wartość wskaźnika PWV jest odwrotnie proporcjonalna do sztywności ściany tętnicy [3, 6].

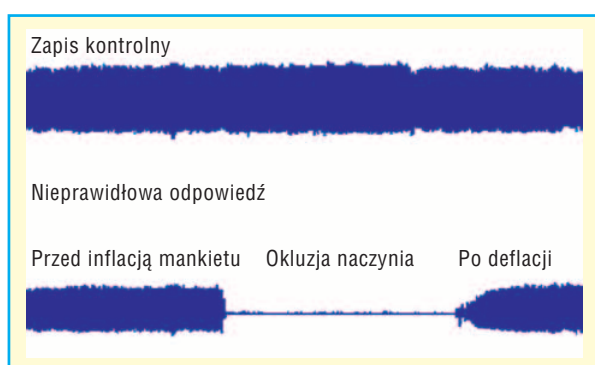
Kolejną metodą oceny czynności śródbłonka naczyniowego jest technika określana mianem *reactive hyperemia peripheral arterial tonometry* (RH-PAT). Jest to automatyczna i nieinwazyjna metoda, w której wykorzystuje się pletyzmograficzny czujnik zakładany na palec. Umożliwia to rejestrację zmian objętości palca w następstwie pulsacyjnego przepływu krwi. Badanie to przeprowadza się na obu kończynach górnych, umieszczonych na jednakowym poziomie. Mankiet sfigomanometru zakłada się na jedno ramię — ramię badane, podczas gdy drugie stanowi ramię kontrolne. Czujniki RH-PAT umieszcza się na symetrycznych palcach obu rąk. Palce oddziela się od siebie za pomocą miękkich, gąbkowych pierścieni. Następnie rozpoczyna się rejestrację pulsujących zmian objętości z obu palców. Po 10 min okresu koniecznego do uzyskania zrównoważonego zapisu mankieta ciśnieniomierza napełnia się do wartości przekraczającej o 60 mm Hg wartość ciśnienia skurczowego osoby badanej na okres 5 min. Następnie zwalnia się ucisk ciśnieniomierza w celu wywołania reaktywnego przekrwienia, jednocześnie rejestrując dane (ryc. 3, 4). Po 10 min pacjentowi podaje się pojedynczą dawkę nitrogliceryny (0,4 mg, podjęzykowo), aby ocenić śródbłonkowo-niezależną odpowiedź i po kolejnych 10 min następuje zakończenie rejestracji danych. Zgromadzone dane są analizowane przez komputer, dzięki czemu jest to niezależne od wykonującego badanie. Uzyskuje się wskaźnik RH-PAT, definiowany jako stosunek średniej amplitudy sygnału PAT z 1-minutowych okresów zaczynających się 1 min po deflacji mankieta (A — ramię kontrolne; C — ramię badane) do średniej amplitudy sygnału PAT podczas 3,5-minutowej rejestracji przed napełnieniem mankieta sfigomanometru (B — ramię kontrolne; D — ramię badane):

$$\text{RH-PAT} = (C/D)/(A/B) \times \text{współczynnik korekcji}$$





**Rycina 3.** Zapis RH-PAT (*reactive hyperemia peripheral arterial tonometry*) u osoby z prawidłową odpowiedzią na reaktywne przekrwienie



**Rycina 4.** Zapis RH-PAT (*reactive hyperemia peripheral arterial tonometry*) u osoby z upośledzoną odpowiedzią na reaktywne przekrwienie

Uzyskane wartości wskaźnika RH-PAT z ramienia badanego są normalizowane względem ramienia kontrolnego w celu kompensacji ewentualnych zmian ogólnoustrojowych.

Reakcję przekrwienia po podaniu nitrogliceryny szacuje się w analogiczny sposób [35–37]. Nowa metoda jest całkowicie nieinwazyjna, łatwa do przeprowadzenia i w małym stopniu związana z błędem ludzkim, a tym samym powtarzalna [29]. Obecnie jej wadą jest stosunkowo wysoki koszt jednorazowych czujników pletyzmograficznych.

Bonetti i wsp. wykazali zależność między upośledzeniem właściwości wazomotorycznych śródbłonna a wartością wskaźnika RH-PAT [35, 37]. Podobne wyniki uzyskali Matsuzawa i wsp., którzy dowiedli ponadto, że obniżony wskaźnik RH-PAT koreluje z ryzykiem rozwoju choroby niedokrwiennej u kobiet. Wskaźnik ten może w przyszłości służyć do szacowania ryzyka wystąpienia zdarzeń sercowo-naczyniowych [29, 35].

Nieprawidłowa czynność śródbłonna naczyniowego leży u podłoża chorób sercowo-naczyniowych, a korekcja czynników ryzyka tych chorób poprawia/normalizuje funkcję śródbłonna. Zdiagnozowanie dysfunkcji śródbłonna, zwłaszcza przed wystąpieniem objawów chorobowych, dałoby możliwość szerszej profilaktyki. Z tego powodu doskonalenie już dostępnych metod i poszukiwanie nowych, jak najmniej inwazyjnych, a przez to pozbawionych powikłań, prostych do wykonania, mało kosztownych oraz powtarzalnych jest celem wymagającym wszelkich starań.

## Piśmiennictwo

1. Blann A.D. Assessment of endothelial dysfunction: focus on atherothrombotic disease. *Pathophysiol. Haemost. Thromb.* 2003/2004; 33: 256–261.
2. Januszewicz W., Sznajderman M. Modification of endothelial function — new method of antihypertensive treatment. *Arterial Hypertension* 2000; 4: 195–199.
3. Neubauer-Geryk J., Bieniaszewski L. Metody oceny funkcji śródbłonna. *Wazodylatacja tętnicy ramiennej po niedokrwieniu. Choroby Serca i Naczyń* 2007; 4: 190–196.
4. Grundy S.M. Obesity, metabolic syndrome, and coronary atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 2696–2698.
5. Grundy S.M. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; 89: 2595–2600.
6. Lane H.A., Smith J.C., Davies J.S. Noninvasive assessment of preclinical atherosclerosis. *Vasc. Health Risk Manag.* 2006; 2: 19–30.
7. Radomski M.W., Salas E. Nitric oxide — biological mediator, modular and factor of injury: its role in pathogenesis of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1995; 118 (supl.): 569–580.
8. Furchgott R.F., Zawadzki J.V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288: 373–376.
9. Nadar S., Blann A.D., Lip G.Y.H. Endothelial dysfunction: methods of assessment and application to hypertension. *Curr. Pharm. Des.* 2004; 10: 3591–3605.
10. Buga G.M., Gold M.E., Fukuto J.M., Ignarro L.J. Shear stress-induced release of nitric oxide from endothelial cells grown on beads. *Hypertension* 1991; 17: 187–193.
11. Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S. i wsp. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411–415.
12. Mak I.T., Boehme P, Weglicki W.B. Antioxidant effects of calcium channel blockers against free radical injury in endothelial cells. *Correlation of protection with preservation of glutathione levels. Circ. Res.* 1992; 70: 1099–1103.
13. Haynes W.G., Webb D.J. Endothelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease. *J. Hypertens.* 1998; 16: 1081–1098.
14. de Nucci G., Thomas R., D'Orleans-Juste P. i wsp. Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988; 85: 9797–9800.

15. Mannucci P.M. von Willebrand factor: a marker of endothelial damage? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998; 18: 1359–1362.
16. Pearson J.D. Markers of endothelial cell perturbation and damage. *Br. J. Rheumatol.* 1993; 32: 651–652.
17. Wagner D.D. Cell biology of von Willebrand factor. *Annu. Rev. Cell Biol.* 1990, 6: 217–246.
18. Vischer U.M., Ingerslev J., Wollheim C.B. i wsp. Acute von Willebrand factor secretion from the endothelium in vivo: assessment through plasma propeptide (VWF:Ag II) levels. *Thromb. Haemost.* 1997; 77: 387–393.
19. Mitchell C.A., Hau L., Salem H.H. Control of thrombin mediated cleavage of protein S. *Thromb. Haemost.* 1986, 56: 151–154.
20. Gearing A.J., Newman W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol. Today* 1993, 14: 506–512.
21. Blankenberg S., Barbaux S., Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2003; 170: 191–203.
22. Pasiński T. Endothelial dysfunction and its treatment. *Postępy Nauk Med.* 2002; 1: 3–5.
23. Wiśniewska E., Wodyńska T., Kulwas A. i wsp. Thrombomodulin — endothelial thrombin receptor in blood of patients with unstable angina pectoris. *Med. Sci. Monit.* 2001; 7: 256–259.
24. Salomaa V., Matei C., Aleksic N. i wsp. Soluble thrombomodulin as a predictor of incident coronary heart disease and symptomless carotid artery atherosclerosis in the ARIC study: a case cohort study. *The Lancet* 1999; 353: 1729–1734.
25. Kotschy M., Połaszewska-Muszyńska M., Będowska-Gontarz W. i wsp. Osoczowa trombomodulina — błonowy receptor dla trombiny w cukrzycy typu 2. *Diabetol. Pol.* 2002; 9: 126–129.
26. Szczepańska-Kostro J., Urban M., Głowińska B. Biochemiczne wskaźniki dysfunkcji śródbłonka naczyniowego u dzieci i młodzieży z niedoborem hormonu wzrostu. *Diabetologia Pediatriczna* 2004; 3.
27. Wallen N.H., Held C., Rehnqvist N. i wsp. Elevated serum intercellular adhesion molecule-1 and vascular adhesion molecule-1 among patients with stable angina pectoris who suffer cardiovascular death or non-fatal myocardial infarction. *Eur. Heart J.* 1999; 20: 1039–1046.
28. Brevetti G., Schiano V., Chiariello M. Cellular adhesion molecules and peripheral arterial disease. *Vasc. Med.* 2006; 11: 39–47.
29. Lian B.Q., Keaney J.F. Predicting ischemic heart disease in women the value of endothelial function. *JACC* 2010, 55: 1697–1699.
30. Guthikonda S., Sinkey C.A., Haynes W.G. What is the most appropriate methodology for detection of conduit artery endothelial dysfunction? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; 27: 1172–1176.
31. Irace C., Fiaschi E., Cortese C., Gnass A. Flow-mediated vasodilatation of the brachial artery and intima-media thickness of carotid artery in newer-treated subject. *Int. Angiol.* 2006; 25: 27–279.
32. Clarkson P., Celermajer D.S., Powe A.J., Donald A.E., Henry R.M., Deanfield J.E. Endothelium-dependent dilatation is impaired in young healthy subjects with a family history of premature coronary disease. *Circulation* 1997, 96: 3378–3383.
33. Fathi R., Haluska B., Isbel N., Shorl L., Marwick T.H. The relative importance of vascular structure and function in predicting cardiovascular events. *JACC* 2004; 43: 616–623.
34. Gokce N., Keaney J.F., Hunter L.M., Walkins M.T., Menzoian J.O., Vila J.A. Risk stratification for postoperative cardiovascular event via noninvasive assessment of endothelial function: a prospective study. *Circulation* 2002; 105: 1567–1572.
35. Matsuzawa Y., Sugiyama S., Sugamura K. i wsp. Digital assessment of endothelial function and ischemic heart disease in women. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2010; 55: 1688–1696.
36. Bonetti P.O., Barsness G.W., Keelan P.C. i wsp. Enhanced external counterpulsation improves endothelial function in patients with symptomatic coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2003; 41: 1761–1768.
37. Bonetti P.O., Pumper G.M., Higano S.T. i wsp. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2004; 44: 2137–2141.