

# Angiotensyna II: czynnik ryzyka zakrzepicy tętniczej

Angiotensin II: the risk factor for arterial thrombosis

Marta Kamińska<sup>1</sup>, Włodzimierz J. Musiał<sup>1</sup>, Ewa Chabińska<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinika Kardiologii, Uniwersytet Medyczny, Białystok

<sup>2</sup>Samodzielna Pracownia Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny, Białystok

## WSTĘP

Układ renina-angiotensyna-aldosteron (RAAS) jest pierwotnie znany jako jeden z najważniejszych mechanizmów homeostazy regulujący ciśnienie tętnicze krwi oraz gospodarkę wodno-elektrolitową organizmu. Jednocześnie uczestniczy on w patogenezie wielu chorób układu sercowo-naczyniowego, a leki wpływające na jego aktywność mają ugruntowaną pozycję w terapii nadciśnienia tętniczego, niewydolności serca, w profilaktyce pierwotnej i wtórnej choroby niedokrwiennej serca oraz udaru mózgu. Dotychczas najlepiej zbadanym peptydem RAAS jest angiotensyna II (Ang II). Jej udział w rozwoju nadciśnienia tętniczego i w przebudowie mięśnia sercowego potwierdzono w wielu badaniach eksperymentalnych i klinicznych. W ostatnich latach zwrócono również uwagę na Ang II jako istotny czynnik ryzyka zakrzepicy tętniczej, która jest wynikiem niekorzystnego wpływu tego oktapeptydu zarówno na proces aterogenezy, jak i na sam układ hemostazy.

## ANGIOTENSYNA II A STRES OKSYDACYJNY, STAN ZAPALNY I MIAŻDŻYCA

Klasycznie rozumiany stres oksydacyjny jest szeregiem reakcji prowadzących do nadprodukcji reaktywnych form tlenu przewyższających zdolności przeciwutleniające komórek. Stres oksydacyjny inicjuje i potęguje miażdżycę będącą procesem zapalnym toczącym się w ścianie naczynia tętniczego. Związek między stresem oksydacyjnym a procesem aterogenezy potwierdzono m.in. w pracach, w których wykazano zwiększoną ekspresję oksydazy NADPH w komórkach ściany naczyń wieńcowych zmienionych miażdżycowo w porównaniu z tętnicami zdrowymi [1], a aktywność wyżej wymienionego enzymu przez niektórych badaczy jest uważana za jeden z niezależnych czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca [2]. Angiotensyna II wpływa zarówno na stres oksydacyjny, jak i na proces aterogenezy [3]. Pierwsze dane dotyczące potencjalnie aterogenicznej roli Ang II pochodzą z badań *in vivo* na myszach transgenicznym pozbawionych apolipoproteiny E (ApoE<sup>-/-</sup>). Jednoczesne stosowanie diety

aterogenicznej i antagonisty receptora angiotensyny II (ARB — losartanu lub inhibitora konwertazy angiotensyny (ACE-I) — fosinoprilu, istotnie zahamowało rozwój miażdżycy i stopień oksydatywnej modyfikacji lipoprotein o niskiej gęstości (LDL) [4]. Wielotygodniowa infuzja Ang II u myszy ApoE<sup>-/-</sup> wyraźnie przyspieszyła rozwój miażdżycy w porównaniu ze zwierzętami otrzymującymi jako czynnik presyjny norepinefrynę [5]. To aterogenne działanie Ang II może wynikać z przynajmniej kilku mechanizmów. Angiotensyna II, indukując ekspresję molekuly adhezyjnej komórki naczyniowej 1 (VCAM-1), międzykomórkowej molekuly adhezyjnej 1 (ICAM-1), selektyny E i białka chemotaktycznego monocytów 1 (MCP-1), nasila ukierunkowaną migrację i chemotaksję komórek zapalnych, głównie monocytów w ścianie naczynia tętniczego. Oktapeptyd ten zwiększa również aktywność oksydazy NADPH w komórkach mięśni gładkich ściany naczynia, co z kolei przejawia się istotnym, zależnym od receptora AT<sub>1</sub>, wzrostem stężenia O<sup>2-</sup> oraz stopnia oksydacji cząsteczek LDL. Ponadto Ang II, zwiększając ekspresję receptora LOX-1 (*lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1*) na powierzchni komórek śródbłonna, wpływa również na stopień wychwytu zmodyfikowanych cząsteczek LDL oraz ich gromadzenie w blaszce miażdżycowej. Angiotensyna II zwiększa także syntezę interleukiny 6 i 8 (IL-6, IL-8) w komórkach śródbłonna, mięśni gładkich naczyń i makrofagach. Podwyższona aktywność IL-6 charakteryzuje niestabilną blaszkę miażdżycową. Potwierdzono występowanie dużego stężenia tej cytokiny prozapalnej w najbardziej ranliwych miejscach blaszek miażdżycowych u pacjentów z chorobą niedokrwinną serca [6].

Związek między Ang II a procesem aterogenezy zauważono również w fundamentalnych badaniach klinicznych, takich jak: CONSENSUS, SOLVD i SAVE, obejmujących chorych z niewydolnością serca, u których stosowanie ACE-I zredukowało ryzyko ostrego incydentu wieńcowego o ok. 25%. Ostatecznym potwierdzeniem tej tezy okazały się natomiast wyniki badania HOPE, w którym hamowanie RAAS istotnie

### Adres do korespondencji:

dr n. med. Marta Kamińska, Klinika Kardiologii, Uniwersytet Medyczny, ul. M. Skłodowskiej-Curie 24A, 15–276 Białystok, tel: +48 85 746 86 56,

e-mail: ap1le1@wp.pl

Praca wpłynęła: 13.07.2012 r.

Zaakceptowana do druku: 26.07.2012 r.

Copyright © Polskie Towarzystwo Kardiologiczne

Tabela 1. Prozakrzepowy efekt angiotensyny II (Ang II) w zwierzęcych modelach eksperymentalnych

Model zakrzepicy	Effekt działania Ang II	Piśmiennictwo
Zakrzepica żylna wywołana podwiązaniem żyły głównej dolnej u szczura 2K-1C	Ang II istotnie zwiększyła masę zakrzepu żylnego — rola receptora AT <sub>1</sub> Ang II zwiększyła tworzenie fibryny i osoczone stężenie PAI-1	[7]
Zakrzepica tętnicza wywołana prądem stałym w tętnicy szyjnej wspólnej u szczura 2K-1C	Ang II istotnie zwiększyła masę zakrzepu tętniczego — rola receptora AT <sub>1</sub> Wykazano korelację między masą zakrzepu tętniczego a CAF	[8]
Zakrzepica małych tętnic wywołana światłem u myszy szczepu dzikiego i szczepu transgenicznego pozbawionego receptora AT <sub>1</sub>	Ang II skróciła czas do początku tworzenia skrzepliny i całkowitej okluzji naczynia Prozakrzepowe działanie Ang II było niezależne od receptora AT <sub>1</sub> Prozakrzepowe działanie Ang II było zależne od receptora AT <sub>2</sub> , AT <sub>4</sub> oraz od receptora endoteliny (ET <sub>1</sub> ) i bradykininy (BK <sub>1</sub> )	[9]

2K-1C — naczyniowo-nerkowe nadciśnienie tętnicze wywołane wg metody Goldblata; CAF — całkowita aktywność fibrynolityczna osocza; PAI-1 — inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1

zmniejszyło częstość zgonów, zawałów serca i udarów mózgu u chorych z potwierdzoną miażdżycą naczyń tętniczych.

#### ANGIOTENSYNA II JAKO NOWY CZYNNIK RYZYKA ZAKRZEPICY TĘTNICZEJ

Bezpośrednich dowodów na to, że Ang II może być ważnym czynnikiem modyfikującym proces formowania zakrzepu dostarczają badania eksperymentalne *in vivo*, przeprowadzone na zwierzęcych modelach zakrzepicy żylną i tętniczej, dotyczące małych oraz dużych naczyń krwionośnych (tab. 1) [7–9]. Proponowany mechanizm prozakrzepowego działania Ang II prawdopodobnie jest złożony. Peptyd ten może bowiem wpływać bezpośrednio (receptory AT<sub>1</sub> i AT<sub>4</sub>) oraz pośrednio, m.in. za pośrednictwem receptorów bradykininowych (BK<sub>1</sub>) i endotelinowych (ET<sub>1</sub>), na poszczególne elementy hemostazy (tab. 2).

#### PŁYTKI KRWI

Zarówno efekt działania Ang II na płytki krwi, jak i mechanizm pozostają nadal tematem otwartym. W badaniach *in vitro* wielokrotnie wykazano, że Ang II uwrażliwia ludzkie płytki krwi na działanie aktywatorów agregacji, takich jak adrenalina, kolagen, adenylozynydofosforan, serotonina, trombina i analog trombosanu A2-U44069 [10–13]. Natomiast wyniki prac badających bezpośrednie działanie Ang II na agregację trombocytów nie są już tak jednoznaczne. Ponadto wykazano, że Ang II zwiększa stężenie wapnia zjonizowanego (Ca<sup>2+</sup>), podwyższa pH w płytkach [12] i wpływa na bardzo wczesną fazę aktywacji płytek krwi, jakim jest zmiana ich kształtu [14]. Oktapeptyd ten zwiększa również syntezę czynnika aktywującego płytki krwi [15]. W błonie komórkowej ludzkich trombocytów potwierdzono obecność receptorów dla Ang II AT<sub>1</sub> i AT<sub>2</sub>, jednak ich rola nie została ostatecznie wyjaśniona [11]. Wyniki badań oceniających wpływ Ang II na płytki krwi poprzez aktywację receptora AT<sub>1</sub> są bowiem niejednoznaczne. W jednej z prac Ang II zwiększyła zarówno spontaniczną,

jak i wywołaną agonistami agregację płytek krwi. Działanie to było zależne od dawki, a wysokie stężenia Ang II paradoksalnie zahamowało oceniany parametr [11]. W innym badaniu infuzja Ang II u zdrowych ochotników zwiększyła osoczone stężenie beta-tromboglobuliny i ekspresję płytkowej P-selektyny, jednak bez wpływu na samą agregację płytek krwi [16]. Sprzeczność tych wyników wyjaśnia się głównie zmienną, niekiedy zbyt małą gęstością receptorów dla Ang II na powierzchni płytek krwi. Ekspresja komórkowa receptorów AT<sub>1</sub> jest bowiem procesem dynamicznym i może zależeć od chorób współistniejących oraz zaburzeń metabolicznych. Na przykład pozawałowej niewydolności serca, ciężki powikłanej stanem przedzucawkowym, hipercholesterolemii i cukrzycy typu 2 towarzyszy wzrost gęstości receptora AT<sub>1</sub> na powierzchni płytek krwi. Może to zwiększać wrażliwość płytek na działanie Ang II u tych pacjentów. Interesującym i jak dotąd niewyjaśnionym zjawiskiem jest opisane w niektórych pracach paradoksalne przeciwplatekcyjne działanie wysokich dawek Ang II. W naszym badaniu w warunkach *ex vivo* u szczurów z naczyniowo-nerkowym nadciśnieniem tętniczym (2K-1C, *two-kidney one-clip*) Ang II w dawce małej i średniej nie wpłynęła na agregację szczurzych płytek krwi indukowaną kolagenem, a infuzja Ang II w dawce najwyższej istotnie zmniejszyła stopień agregacji płytek krwi w porównaniu z grupą kontrolną [8]. Podobną zależność wykazano u myszy [9]. Duża dawka Ang II może bowiem aktywować poza receptorami AT<sub>1</sub> również AT<sub>2</sub>, których błonowa gęstość jest znacznie mniejsza, a działanie przeciwstawne do receptora AT<sub>1</sub> [11]. Ponadto obserwowany paradoksalny antyagregacyjny efekt wysokich dawek Ang II może wynikać z działania już nie samej Ang II, lecz jej aktywnych metabolitów, których wpływ na płytki krwi jest jeszcze słabo poznany. Dotychczas wykazano, że Ang-(1–7) wywiera działanie przeciwplatekcyjne, zwiększając uwalnianie tlenu azotu i prostacykliny (PGI<sub>2</sub>) z komórek śródbłonna [17] oraz z samych trombocytów [18], Ang-(1–9) zwiększa agregację szczurzych płytek krwi [19],

Tabela 2. Wpływ angiotensyny II (Ang II) na wybrane elementy hemostazy

	Działanie Ang II	Mechanizm działania Ang II	Piśmiennictwo
<b>PŁYTKI KRWI</b>			
<b>Badania <i>in vitro</i></b>			
Szczurze płytki krwi	Brak wpływu na agregację płytek krwi indukowaną kolagenem		[7]
Mysie płytki krwi	Ang II w małym stężeniu [pmol]: ↑ spontanicznej agregacji płytek krwi Ang II w dużym stężeniu [nmol, μmol]: brak wpływu na spontaniczną agregację płytek krwi	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>  Wysokie stężenie agonisty zmniejsza wrażliwość receptora AT <sub>1</sub>	[9]
Ludzkie płytki krwi	↑ agregacji płytek krwi indukowanej trombiną Brak wpływu na spontaniczną agregację płytek krwi Ang II w stężeniu 10 <sup>-11</sup> M: ↑ agregacji płytek krwi indukowanej adrenaliną i analogiem TXA2 (U46619) Ang II w dużym stężeniu (10 <sup>-7</sup> M): ↓ agregacji płytek krwi indukowanej adrenaliną	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>	[10]
Ludzkie płytki krwi pacjentów z AH i zdrowych ochotników	↑ Ca <sup>2+</sup> oraz pH w płytkach krwi ↑ agregacji płytek krwi indukowanej trombiną		[12]
Ludzkie płytki krwi zdrowych ochotników	↑ objętości płytek krwi ↑ objętości płytek krwi indukowanej ADP i serotoniną	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>	[14]
Ludzkie płytki krwi zdrowych ochotników	Ang II w stężeniu ≤ 10 nM: ↑ spontanicznej agregacji płytek krwi Ang II w stężeniu ≤ 10 nM: ↑ agregacji płytek krwi indukowanej ADP i kolagenem	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>	[11]
Ludzkie płytki krwi zdrowych ochotników	Ang II w stężeniu 100 nM: paradoksalny ↓ agregacji płytek krwi spontanicznej i indukowanej ADP oraz kolagenem Brak wpływu na spontaniczną agregację płytek krwi ↑ agregacji płytek krwi indukowanej analogiem TXA2 (U46619)	Poprzez receptor AT <sub>2</sub>	[13]
<b>Badania <i>in vivo</i></b>			
Szczury 2K-1C	Brak wpływu na agregację płytek krwi indukowaną kolagenem		[7]
Szczury 2K-1C	Brak wpływu na agregację płytek krwi indukowaną kolagenem przy infuzji Ang II w dawce małej i średniej (100 i 200 pmol/kg/min) ↓ agregacji płytek krwi indukowanej kolagenem przy infuzji Ang II w dużej dawce (400 pmol/kg/min)		[8]
Zdrowi ochotnicy	Brak wpływu na agregację płytek krwi ↑ osoczowego stężenia beta-tromboglobuliny ↑ ekspresji P-selektyny		[16]
<b>OSOCZOWY UKŁAD KRZEPNIĘCIA</b>			
<b>Badania <i>in vitro</i></b>			
<b>Zwierzęce hodowle komórkowe</b>			
Śródbłonek szczurzej aorty	↑ ekspresji mRNA i aktywności TF Brak wpływu na TFPI	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>	[24]
Mięśnie gładkie szczurzej aorty	↑ ekspresji mRNA receptora dla trombiny	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>	[28]
<b>Ludzkie hodowle komórkowe</b>			
Monocyty	↑ ekspresji mRNA, stężenia antygeny i aktywności TF	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>	[26]
Śródbłonek kłębuszków nerkowych	↑ ekspresji mRNA i aktywności TF	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>	[25]
Krew żylna zdrowych ochotników	Skrócenie czasu rekalcynacji		[22]



Tabela 2. Wpływ angiotensyny II (Ang II) na wybrane elementy hemostazy (cd.)

	Działanie Ang II	Mechanizm działania Ang II	Piśmiennictwo
<b>Badania <i>in vivo</i></b>			
Szczury 2K-1C	↑ tworzenia fibryny		[7]
Zdrowi ochotnicy	↑ stężenia kompleksu trombina–antytrombina ↑ fragmentów protrombiny F1+F2		[16]
Zdrowi ochotnicy	Brak wpływu na stężenie kompleksu trombina–antytrombina		[27]
Pacjenci z rodzinną hiperlipidemią	Brak wpływu na stężenie fragmentów protrombiny F1+F2		
<b>UKŁAD FIBRYNOLITYCZNY</b>			
<b>Badania <i>in vitro</i></b>			
<b>Zwierzęce hodowle komórkowe</b>			
Mięśnie gładkie szczyrej aorty	↑ ekspresji mRNA oraz aktywności PAI-1 i t-PA w sposób zależny od dawki Ang II		[30]
Śródbłonek aorty bydłowej	↑ ekspresji mRNA i stężenia antygeny PAI-1 w sposób zależny od dawki Ang II	Niezależny od receptorów Ang II	[29]
Śródbłonek aorty szczyrej	↑ ekspresji mRNA PAI-1 Brak wpływu na t-PA	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>	[24]
Mięśnie gładkie szczyrej aorty	↑ aktywności, stężenia antygeny i ekspresji mRNA PAI-1 w sposób zależny od dawki Ang II	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>	[32]
<b>Ludzkie hodowle komórkowe</b>			
Adipocyty	↑ stężenia antygeny i ekspresji mRNA PAI-1 w sposób zależny od dawki Ang II	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>	[31]
Mięśnie gładkie tętnicy pępkowej i promieniowej	↑ stężenia antygeny PAI-1	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>	[32]
Mięśnie gładkie tętnicy płucnej	↑ ekspresji DNA i stężenia antygeny PAI-1 ↓ stężenia antygeny t-PA	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>	[40]
Śródbłonek naczyń wieńcowych	↑ stężenia antygeny i ekspresji mRNA PAI-1	Poprzez receptor AT <sub>1</sub>	[41]
<b>Badania <i>in vivo</i></b>			
Szczury 2K-1C	↑ osoczonego stężenia PAI-1 Brak wpływu na t-PA ↓ CAF		[7]
Szczury normotensyjne	↓ ekspresji mRNA t-PA w sercu ↑ ekspresji mRNA PAI-1 w sercu	Poprzez receptor AT <sub>1</sub> Pobudzenie układu współczulnego	[33]
Szczury normotensyjne	↑ stężenia PAI-1 w nerce		[39]
Pacjenci z AH	↑ stężenia antygeny PAI-1 w sposób zależny od dawki Ang II		[34]
Zdrowi ochotnicy	Brak zmian stężenia t-PA		
Zdrowi ochotnicy	↓ aktywności PAI-1 w osoczu ↑ aktywności i stężenia antygeny t-PA w osoczu		[35]
Zdrowi ochotnicy	Brak wpływu na stężenie antygeny PAI-1 i t-PA w osoczu		[36]
Zdrowi ochotnicy	Brak wpływu na aktywność i stężenie antygeny PAI-1 w osoczu		[37]
Zdrowi ochotnicy	↓ stężenia kompleksu t-PA/PAI-1 w osoczu		[27]
Pacjenci z rodzinną hiperlipidemią			

↑ — wzrost; ↓ — spadek; 2K-1C — naczyniowo-nerkowe nadciśnienie tętnicze wywołane wg metody Goldblata; ADP — adenylozydodifosforan; AH — nadciśnienie tętnicze; CAF — całkowita aktywność fibrynolityczna osocza; PAF — czynnik aktywujący płytki; PAI-1 — inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1; TF — czynnik tkankowy; TFPI — inhibitor zależnej od czynnika tkankowego drogi krzepnięcia; t-PA — tkankowy aktywator plazminogenu; TXA2 — tromboksan A<sub>2</sub>; U46619 — analog tromboksanu A<sub>2</sub>

a Ang IV nie wpływa na agregację płytek krwi [20]. Z kolei inni badacze brak proagregacyjnego działania wysokich dawek Ang II tłumaczą obniżoną wrażliwością receptorów  $AT_1$ , jaką obserwuje się przy dużym stężeniu agonisty [9, 21].

### UKŁAD KRZEPNIĘCIA

Angiotensyna II może aktywować osoczowy układ krzepnięcia, co w badaniach laboratoryjnych przejawia się m.in. skróceniem czasu rekalcynacji [22]. Najlepiej poznanym mechanizmem, poprzez który Ang II wpływa na osoczowy układ krzepnięcia, jest bezpośrednia i pośrednia, zależna od bradykininy, indukcja syntezy czynnika tkankowego (TF) [23]. W badaniach *in vitro* w hodowlach komórkowych śródbłonna [24, 25] i ludzkich monocytów [26] Ang II, prawdopodobnie na drodze aktywacji receptora  $AT_1$ , zwiększa ekspresję mRNA, stężenie antygeny oraz aktywność TF. Obserwowanemu wzrostowi stężenia TF nie towarzyszy zmiana syntezy jego inhibitora zależnej od TF drogi krzepnięcia. W warunkach eksperymentalnych infuzja Ang II zwiększyła tworzenie fibryny, co korelowało z masą zakrzepu żylnego [7]. Natomiast wpływ Ang II na produkcję trombiny pozostaje nadal dyskusyjny. Infuzja Ang II u zdrowym ochotnikom istotnie zwiększyła osoczowe stężenie kompleksu trombina–antytrombina i fragmentów protrombiny F1 + F2 [16]. Wyniki te nie zostały jednak potwierdzone w następnym badaniu w grupie osób zdrowych [27]. Wykazano natomiast, że Ang II może zwiększać ekspresję mRNA receptora dla trombiny w komórkach mięśni gładkich szczerzej aorty [28].

### UKŁAD FIBRYNOLIZY

W badaniach *in vitro*, w hodowlach komórkowych śródbłonna aorty bydłowej [29] i mięśni gładkich aorty [30], Ang II zwiększyła syntezę i uwalnianie inhibitora aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-1). Podobne wyniki uzyskano w hodowlach ludzkich adipocytów [31] i komórek mięśni gładkich tętnic [32]. Również w badaniach *in vivo* opartych na modelach zwierzęcych infuzja Ang II istotnie zwiększyła ekspresję i aktywność PAI-1 zarówno w osoczu [9, 26], jak i w narządach (nerki, serce) [33]. Ponadto w jednym z badań *in vivo* przeprowadzonych przez autorów niniejszej pracy, wykorzystujących model zakrzepicy tętniczej u szczura 2K-1C, wykazano, że Ang II istotnie zmniejszyła całkowitą aktywność fibrynolityczną osocza, co korelowało z masą powstałego zakrzepu tętniczego [8]. Mimo jednoznacznych wyników *in vitro* oraz *in vivo* w modelach zwierzęcych wpływ Ang II na osoczowe stężenie PAI-1, a tym samym na układ fibrynolityczny u ludzi, pozostaje nadal kwestią sporną. Wykazano, że 45-minutowa infuzja Ang II we wzrastających dawkach 1, 3 i 10 ng/kg/min spowodowała u zdrowych mężczyzn istotny wzrost stężenia antygeny PAI-1, bez wpływu na tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA), a u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym dożylnie podanie Ang II doprowadziło do jeszcze większego wzrostu osoczowego stężenia antygeny PAI-1 [34].

W późniejszym badaniu stwierdzono, że 15–20-minutowa infuzja Ang II w dawce 10 ng/kg/min u zdrowych ochotników znamienne zwiększyła aktywność i osoczowe stężenie antygeny t-PA, ale bez wpływu na aktywność PAI-1 [35]. Jeszcze inne wyniki otrzymano w badaniu, w którym podawano Ang II równolegle z nitroprusydkiem sodu, w celu zniesienia działania hipertensyjnego Ang II i wykluczenia jego wpływu na fibrynolizę. W tym badaniu 30-minutowa infuzja Ang II nie zmieniła aktywności osoczowego stężenia PAI-1 i t-PA u zdrowych ochotników [36]. Tak sprzeczne obserwacje mogą wynikać m.in. z niejednolitej metodyki badań: innego czasu infuzji, różnych dawek Ang II, odmiennej charakterystyki klinicznej badanych grup. Chcąc ostatecznie wyjaśnić zależność między Ang II a układem fibrynolitycznym u ludzi, Lottermoser i wsp. [37] w swojej pracy ujednolicił warunki badania (45-minutowa infuzja Ang II w dawkach 1, 3 i 10 ng/kg/min u zdrowych mężczyzn) i wykazali, że Ang II w zastosowanych dawkach nie wpływa u ludzi na aktywność i osoczowe stężenie antygeny PAI-1 oraz t-PA. Brak jednoznacznego potwierdzenia zgodnych wyników badań *in vitro* w obserwacjach prowadzonych w warunkach *in vivo* może wynikać z kilku powodów. Hodowle komórkowe najczęściej wywodzą się z linii komórek zdrowych, podczas gdy badania *ex vivo* były prowadzone na szczurach 2K-1C oraz wśród ludzi z rozpoznaniem nadciśnieniem tętniczym, czyli z czynnikiem prowadzącym do dysfunkcji śródbłonna. A jak wiadomo, śródbłonek jest ważnym źródłem PAI-1 i t-PA. Czas oddziaływania badanego czynnika, w tym przypadku Ang II, na komórki w warunkach *in vitro* jest dłuższy, a lokalne stężenie ocenianej substancji większe. Średni czas inkubacji komórek z Ang II wynosił 3–4 godziny, a uzyskane stężenie badanego oktapeptydu wahało się od 0,01 do 1000 nmol/l, przy czym najbardziej istotne efekty obserwowano po inkubacji z Ang II w najwyższym stężeniu. W badaniach *in vivo* u ludzi najdłuższa infuzja Ang II trwała zaledwie 45 minut i prowadziła do dużo mniejszych stężeń tego oktapeptydu w surowicy krwi. Ponadto wyniki badań przeprowadzonych na hodowlach komórkowych dotyczą jedynie relacji między Ang II a pojedynczą linią komórkową, podczas gdy obserwacje w warunkach *in vivo* są wypadkową działania Ang II jednocześnie na różne komórki, z których uwalniane są zarówno aktywatory, jak i inhibitory osoczowego układu krzepnięcia i fibrynolizy. Dlatego też zagadnienie wpływu Ang II na układ fibrynolizy w warunkach *in vivo* pozostaje nadal tematem otwartym.

Mechanizm, poprzez który Ang II mogłaby wpływać na układ fibrynolizy, był również przedmiotem licznych badań. Działanie tego peptydu na PAI-1 wydaje się niezależne od jego aktywności presyjnej. Istnieją bowiem prace, których wyniki wykazały, że infuzja innych substancji podwyższających ciśnienie tętnicze, takich jak adrenaliny i noradrenaliny, zwiększa stężenie t-PA, nie wpływając, a wręcz obniżając aktywność PAI-1 w warunkach *in vivo* oraz *in vitro*. Większość badaczy wskazuje na udział w tym procesie receptorów

AT<sub>1</sub> i AT<sub>4</sub>. Angiotensyna II na drodze aktywacji receptora AT<sub>1</sub> zwiększyła ekspresję mRNA PAI-1 w nerkach, sercu, aorcie i wątrobie [38, 39], natomiast w hodowlach ludzkich komórek mięśni gładkich naczyń tętniczych [40], komórek śródbłonna tętnic wieńcowych [41] oraz adipocytów podanie antagonisty receptora AT<sub>1</sub> istotnie zredukowało ekspresję PAI-1. Istnieją jednak pojedyncze prace, w których nie potwierdzono udziału tych receptorów w oddziaływaniu Ang II na układ fibrynolizy. Wykazano również wzrost ekspresji mRNA PAI-1 w mysich komórkach śródbłonna po podaniu Ang IV, peptydu powstającego m.in. z Ang II i działającego selektywnie na drodze aktywacji receptora AT<sub>4</sub>. Ponadto delecja receptora AT<sub>4</sub> w modelu eksperymentalnym *in vivo* u myszy transgenicznych doprowadziła do redukcji stężenia PAI-1 i do ograniczenia procesu zakrzepicy tętniczej [42].

O istnieniu zależności między RAAS a układem fibrynolizy można też wnioskować pośrednio na podstawie badań z udziałem leków wpływających na RAAS. Podkreśla się dobroczynny wpływ głównie ACE-I na układ fibrynolizy, które nie tylko zmniejszają stężenie Ang II, ale również hamują degradację bradykininy, która jest głównym induktorem syntezy t-PA. Oceniano wpływ imidaprilu i kandesartanu na proces zakrzepicy tętniczej u szczura z nadciśnieniem tętniczym. Inhibitor ACE, ale nie sartan, zmniejszył masę zakrzepu tętniczego, jednocześnie redukując we krwi stężenie ACE i PAI-1 [43]. Obserwacje te potwierdzono też w badaniach klinicznych, których wyniki wykazały istotny wpływ ACE-I na redukcję stężenia PAI-1 u chorych z nadciśnieniem tętniczym [44–46] i z niewydolnością serca [47]. W podgrupie wielośrodkowego randomizowanego badania HEART terapia ramipilem u pacjentów z ostrym zawałem serca w porównaniu z grupą kontrolną zmniejszyła stężenie PAI-1 o 44%, a aktywność PAI-1 o 22% [48], co w efekcie może zwiększyć skuteczność leczenia trombolitycznego i inwazyjnego oraz zredukować częstość incydentów niedokrwienia mięśnia sercowego we wczesnym okresie po zawale serca [49, 50].

### INNE POTENCJALNE MECHANIZMY PROZAKRZEPOWEGO DZIAŁANIA ANGIOTENSYNY II

Ostatnio potwierdzono udział limfocytów T CD4+, oraz w mniejszym stopniu CD8+, w prozakrzepowym działaniu Ang II w modelu zakrzepicy tętniczej u myszy *in vivo* [51]. W kontekście omawianego działania Ang II nie bez znaczenia jest także silny związek między peptydem a stresem oksydacyjnym. Wykazano bowiem, że infuzja Ang II u myszy transgenicznych pozbawionych oksydazy NADPH, w przeciwieństwie do zwierząt szczepu dzikiego, nie wywołuje zakrzepicy tętniczej [51].

### PODSUMOWANIE

Przedstawiony powyżej przegląd prac eksperymentalnych i klinicznych dowodzi wielokierunkowego wpływu Ang II

na układ hemostazy. Zakres biologicznych funkcji Ang II poszerzony o efekty prozakrzepowe i antyfibrynolityczne może stanowić przesłankę do uznania jej za nowy czynnik ryzyka zakrzepicy tętniczej. Przedstawione dane wyjaśniają również mechanizm korzystnego plejotropowego działania leków blokujących układ renina–angiotensyna–aldosteron.

Praca finansowana z projektu N N405 627938 Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

**Konflikt interesów:** nie zgłoszono

### Piśmiennictwo

1. Azumi H, Inoue N, Ohashi Y et al. Superoxide generation in directional coronary atherectomy specimens of patients with angina pectoris: important role of NAD(P)H oxidase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002; 22: 1838–1844.
2. Guzik TJ, West NE, Black E et al. Vascular superoxide production by NAD(P)H oxidase: association with endothelial dysfunction and clinical risk factors. *Circ Res*, 2000; 86: E85–90.
3. Montecucco F, Pende A, Mach F. The renin-angiotensin system modulates inflammatory processes in atherosclerosis: evidence from basic research and clinical studies. *Mediators Inflamm*, 2009; 2009: 752406.
4. Keidar S, Attias J, Smith J et al. The angiotensin-II receptor antagonist, losartan, inhibits LDL lipid peroxidation and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997; 236: 622–625.
5. Weiss D, Kools JJ, Taylor WR. Angiotensin II-induced hypertension accelerates the development of atherosclerosis in apoE-deficient mice. *Circulation*, 2001; 103: 448–454.
6. Schieffer B, Schieffer E, Hilfiker-Kleiner D et al. Expression of angiotensin II and interleukin 6 in human coronary atherosclerotic plaques: potential implications for inflammation and plaque instability. *Circulation*, 2000; 101: 1372–1378.
7. Mogielnicki A, Chabielska E, Pawlak R et al. Angiotensin II enhances thrombosis development in renovascular hypertensive rats. *Thromb Haemost*, 2005; 93: 1069–1076. Kamińska M, Mogielnicki A, Stankiewicz A et al. Angiotensin II via AT1 receptor accelerates arterial thrombosis in renovascular hypertensive rats. *J Physiol Pharmacol*, 2005; 56: 571–585.
8. Kamińska M, Mogielnicki A, Stankiewicz A et al. Angiotensin II via AT1 receptor accelerates arterial thrombosis in renovascular hypertensive rats. *J Physiol Pharmacol*, 2005; 56: 571–585.
9. Senchenkova EY, Russell J, Almeida-Paula LL.D et al. Angiotensin II-mediated microvascular thrombosis. *Hypertension*, 2010; 56: 1089–1095.
10. Ding YA, MacIntyre DE, Kenyon CJ et al. Potentiation of adrenaline-induced platelet aggregation by angiotensin II. *Thromb Haemost*, 1985; 54: 717–720.
11. Utsugisawa K, Kizawa H, Nagane Y et al. Biphasic effects of angiotensin II and receptor antagonism on aggregability and protein kinase C phosphorylation in human platelets. *Thromb Haemost*, 2005; 94: 1012–1018.
12. Touyz RM, Schiffrin EL. Effects of angiotensin II and endothelin-1 on platelet aggregation and cytosolic pH and free Ca<sup>2+</sup> concentrations in essential hypertension. *Hypertension*, 1993; 22: 853–862.
13. Rajendran S, Chirkov YY, Campbell DJ et al. Angiotensin-(1-7) enhances anti-aggregatory effects of the nitric oxide donor sodium nitroprusside. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2005; 46: 459–463.
14. Jagroop IA, Mikhailidis DP. Angiotensin II can induce and potentiate shape change in human platelets: effect of losartan. *J Hum Hypertens*, 2000; 14: 581–585.

15. Neuwirth R, Satriano JA, DeCandido S et al. Angiotensin II causes formation of platelet activating factor in cultured rat mesangial cells. *Circ Res*, 1989; 64: 1224–1229.
16. Larsson PT, Schwieler JH, Wallén NH. Platelet activation during angiotensin II infusion in healthy volunteers. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2000; 11: 61–69.
17. Kucharewicz I, Pawlak R, Matys T et al. Angiotensin-(1-7): an active member of the renin-angiotensin system. *J Physiol Pharmacol*, 2002; 53: 533–540.
18. Fraga-Silva RA, Pinheiro SV, Gonçalves AC et al. The antithrombotic effect of angiotensin-(1-7) involves mas-mediated NO release from platelets. *Mol Med*, 2008; 14: 28–35.
19. Kramkowski K, Mogielnicki A, Leszczyńska A et al. Angiotensin-(1-9), the product of angiotensin I conversion in platelets, enhances arterial thrombosis in rats. *J Physiol Pharmacol*, 2010; 61: 317–324.
20. Kramkowski K, Mogielnicki A, Buczek W. The physiological significance of the alternative pathways of angiotensin II production. *J Physiol Pharmacol*, 2006; 57: 529–539.
21. Thekkumkara TJ, Du J, Dostal DE et al. Stable expression of a functional rat angiotensin II (AT1A) receptor in CHO-K1 cells: rapid desensitization by angiotensin II. *Mol Cell Biochem*, 1995; 146: 79–89.
22. Spillert CR, Sun S, Miller MA. Hypertension-related coronary thrombosis: prothrombotic role of angiotensin II. *J Natl Med Assoc*, 1994; 86: 686–688.
23. Celi A, Cianchetti S, Dell’Omo G et al. Angiotensin II, tissue factor and the thrombotic paradox of hypertension. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2010; 8: 1723–1729.
24. Nishimura H, Tsuji H, Masuda H et al. Angiotensin II increases plasminogen activator inhibitor-1 and tissue factor mRNA expression without changing that of tissue type plasminogen activator or tissue factor pathway inhibitor in cultured rat aortic endothelial cells. *Thromb Haemost*, 1997; 77: 1189–1195.
25. Nestoridi E, Kushak RI, Tsukurov O et al. Role of the renin-angiotensin system in TNF-alpha and Shiga-toxin-induced tissue factor expression. *Pediatr Nephrol*, 2008; 23: 221–231.
26. He M, He Y, Xie O et al. Angiotensin II induces the expression of tissue factor and its mechanism in human monocytes. *Thromb Res*, 2006; 117: 579–590.
27. Ekholm M, Kahan T, Jörneskog G et al. Angiotensin II infusion in man is proinflammatory but has no short-term effects on thrombin generation *in vivo*. *Thromb Res*, 2009; 124: 110–115.
28. Capers Q 4th, Laursen JB, Fukui T et al. Vascular thrombin receptor regulation in hypertensive rats. *Circ Res*, 1997; 80: 838–844.
29. Vaughan DE, Lazos SA, Tong K. Angiotensin II regulates the expression of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells. A potential link between the renin-angiotensin system and thrombosis. *J Clin Invest*, 1995; 95: 995–1001.
30. van Leeuwen RT, Kol A, Andreotti F et al. Angiotensin II increases plasminogen activator inhibitor type 1 and tissue-type plasminogen activator messenger RNA in cultured rat aortic smooth muscle cells. *Circulation*, 1994; 90: 362–368.
31. Skurk T, Lee YM, Hauner H. Angiotensin II and its metabolites stimulate PAI-1 protein release from human adipocytes in primary culture. *Hypertension*, 2001; 37: 1336–1340.
32. Sironi L, Calvio AM, Arnaboldi L et al. Effect of valsartan on angiotensin II-induced plasminogen activator inhibitor-1 biosynthesis in arterial smooth muscle cells. *Hypertension*, 2001; 37: 961–966.
33. Dab H, Hachani R, Hodroj W et al. Differential control of MMP and t-PA/PAI-1 expressions by sympathetic and renin-angiotensin systems in rat left ventricle. *Auton Neurosci*, 2009; 150: 27–32.
34. Ridker PM, Gaboury CL, Conlin PR et al. Stimulation of plasminogen activator inhibitor *in vivo* by infusion of angiotensin II. Evidence of a potential interaction between the renin-angiotensin system and fibrinolytic function. *Circulation*, 1993; 87: 1969–1973.
35. Larsson PT, Schwieler JH, Wallén NH et al. Acute effects of angiotensin II on fibrinolysis in healthy volunteers. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 1999; 10: 19–24.
36. Labinjoh C, Newby DE, Dawson P et al. Fibrinolytic actions of intra-arterial angiotensin II and bradykinin *in vivo* in man. *Cardiovasc Res*, 2000; 47: 707–714.
37. Lottermoser K, Hertfelder HJ, Gohlke P et al. Short-term effects of exogenous angiotensin II on plasma fibrinolytic balance in normal subjects. *Clin Exp Hypertens*, 2004; 26: 13–26.
38. Brown NJ, Bradford J, Wang Z et al. Modulation of angiotensin II and norepinephrine-induced plasminogen activator inhibitor-1 expression by AT1a receptor deficiency. *Kidney Int*, 2007; 72: 72–81.
39. Doller A, Gauer S, Sobkowiak E et al. Angiotensin II induces renal plasminogen activator inhibitor-1 and cyclooxygenase-2 expression post-transcriptionally via activation of the mRNA-stabilizing factor human-antigen R. *Am J Pathol*, 2009; 174: 1252–1263.
40. Papakonstantinou E, Roth M, Kokkas B et al. Losartan inhibits the angiotensin II-induced modifications on fibrinolysis and matrix deposition by primary human vascular smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2001; 38: 715–728.
41. Mehta JL, Li DY, Yang H et al. Angiotensin II and IV stimulate expression and release of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured human coronary artery endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2002; 39: 789–794.
42. Numaguchi Y, Ishii M, Kubota R et al. Ablation of angiotensin IV receptor attenuates hypofibrinolysis via PAI-1 downregulation and reduces occlusive arterial thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009; 29: 2102–2108.
43. Mitsui T, Chishima S, Odawara A et al. Imidapril, an angiotensin-converting enzyme inhibitor, inhibits thrombosis via reduction in aortic plasminogen activator inhibitor type-1 levels in spontaneously hypertensive rats. *Biol Pharm Bull*, 1999; 22: 863–865.
44. Fogari R, Zoppi A. Antihypertensive drugs and fibrinolytic function. *Am J Hypertens*, 2006; 19: 1293–1299.
45. Tiryaki O, Usalan C, Buyukhatipoglu H et al. Effects of lisinopril, irbesartan, and amlodipine on the thrombotic variables in the early and late stages of the treatment in hypertensive patients. *Clin Exp Hypertens*, 2012; 34: 145–152.
46. Remková A, Remko M. The role of renin-angiotensin system in prothrombotic state in essential hypertension. *Physiol Res*, 2010; 59: 13–23.
47. Davie AP, Rumley A, Lowe GD et al. Effect of chronic angiotensin II type I receptor antagonism and angiotensin converting enzyme inhibition on plasma fibrinolytic variables in patients with heart failure. *Thromb Haemost*, 2001; 86: 1585–1586.
48. Vaughan DE, Rouleau JL, Ridker PM et al. Effects of ramipril on plasma fibrinolytic balance in patients with acute anterior myocardial infarction. HEART Study Investigators. *Circulation*, 1997; 96: 442–447.
49. Wagner A, Herkner H, Schreiber W et al. Ramipril prior to thrombolysis attenuates the early increase of PAI-1 in patients with acute myocardial infarction. *Thromb Haemost*, 2002; 88: 180–185.
50. Ishii H, Amano T, Matsubara T et al. Pharmacological prevention of peri-, and post-procedural myocardial injury in percutaneous coronary intervention. *Curr Cardiol Rev*, 2008; 4: 223–230.
51. Senchenkova EY, Russell J, Kurmaeva E et al. Role of T lymphocytes in angiotensin II-mediated microvascular thrombosis. *Hypertension*, 2011; 58: 959–965.