

Udział czynników zapalnych i zakaźnych w patogenezie miażdżycy tętnic szyjnych

Radosław Kaźmierski

Klinika Neurologii i Chorób Naczyniowych Układu Nerwowego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

STRESZCZENIE

Zmiany miażdżycowe tętnic szyjnych i śródczaszkowych są jedną z najistotniejszych przyczyn udarów niedokrwiennych mózgu. W pracy omówiono ewolucję poglądów na etiopatogenezę miażdżycy w ciągu ostatnich 150 lat oraz przedstawiono współczesne poglądy na etiopatogenezę miażdżycy. Szczególną uwagę poświęcono znaczeniu procesów immunologicznych i zakażeń w rozwoju miażdżycy. Omówiono znaczenie zmian struktury i funkcji śródbłonna. Śródbłonek, będąc interaktywną strukturą na granicy krwi-ściana naczynia, odgrywa kluczową rolę w etiopatogenezie miażdżycy.

Osobny podrozdział poświęcono omówieniu znaczenia sił ścinania, które występują między strumieniem płynącej krwi a śródbłonkiem. Odgrywają one bardzo istotną rolę w rozwoju miażdżycy i w dużym stopniu tłumaczą nierównomierne rozmieszczenie zmian w układzie krążenia. Kończącą część pracy poświęcono mechanizmom, w jakich homocysteina i jej toksyczny metabolit — tiolakton homocysteiny uczestniczą w patogenezie miażdżycy, oddziałując na naczynia.

Polski Przegląd Neurologiczny 2009; 5 (4): 166–176

Słowa kluczowe: zapalenie, zakażenie, miażdżycy, tętnice szyjne, udar

Wprowadzenie

W ciągu ostatnich 150 lat nastąpiły istotne zmiany w rozumieniu procesów sprzyjających rozwojowi chorób naczyniowych mózgu. Obecnie coraz większe zainteresowanie budzą zagadnienia związane z udziałem procesów zapalnych i czynników zakaźnych, zarówno w powstawaniu zmian miażdżycowych prowadzących do wystąpienia udaru niedokrwiennego mózgu, jak i w modulowaniu przebiegu samego udaru mózgu.

W niniejszym przeglądzie omówiono wpływ procesów zapalnych i zakaźnych na rozwój miażdżycy tętnic szyjnych i mózgowych.

Czy poglądy na etiopatogenezę miażdżycy uległy zmianie od XIX wieku?

Wbrew pozorom odpowiedź na to pytanie jest dość złożona.

Poglądy na etiopatogenezę miażdżycy ulegały ewolucji w czasie ostatnich dwóch wieków. W końcu XIX wieku sir William Osler, w pierwszym wydaniu swojego podręcznika medycyny ogólnej, ujmował miażdżycę jako proces o charakterze zwyrodnieniowym i nieodwracalnym.

Na tym tle budzi szacunek wybitny niemiecki lekarz i naukowiec Rudolf Virchow (1821–1902), który w 1845 roku przedstawił koncepcję występowania zmian zapalnych w obrębie błony wewnętrznej ściany naczyniowej, które są istotnym czynnikiem w patogenezie miażdżycy. Virchow rozumiał proces zapalny w sposób nieco różny od poglądów współczesnych, co jednak nie umniejsza jego pionierskiej roli w tym zakresie [1, 2].

Adres do korespondencji: dr hab. n. med. Radosław Kaźmierski
Klinika Neurologii i Chorób Naczyniowych Układu Nerwowego
Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego
ZOZ MSWiA im. prof. L. Bierkowskiego
ul. Dojazd 34, 60-631 Poznań
tel.: 61 8464 586, faks: 61 8464 585
e-mail: rkazmierski@ump.edu.pl
Polski Przegląd Neurologiczny 2009, tom 5, 4, 166–176
Wydawca: „Via Medica sp. z o.o.” sp.k.
Copyright © 2009 Via Medica

W 1850 roku Virchow wysunął tezę zakładającą udział poszczególnych komórek w procesach patologicznych. Zakładał, że płytki krwi i monocyty przylegają do ściany naczyniowej w miejscach uszkodzenia śródbłonka. Virchow uważał również, że w rozwoju miażdżycy istotną rolę odgrywa proces proliferacji komórek (Virchow R. *Cellular Pathology*. John Churchill, London 1858). Był także twórcą pojęcia *endarteritis deformans*.

Późniejsi adwersarze Rudolfa Virchowa wskazywali na pewną niespójność jego teorii, polegającą na tym, że wczesne zmiany miażdżycowe wielokrotnie stwierdzano w ścianach naczyń, w których nie obserwowano uszkodzenia śródbłonka.

Wiele lat później, kiedy dowiedziono, że na wczesnych etapach rozwoju miażdżycy zmiany strukturalne w obrębie śródbłonka są poprzedzone zaburzeniami jego funkcji, okazało się, że teoria ta była ogólnie słuszna. Poglądy Virchowa, który uwzględniał znaczenie różnego typu komórek w procesach zapalnych, widział istotną rolę ściany naczyniowej oraz doceniał znaczenie lokalnych zaburzeń przepływu krwi w rozwoju procesów miażdżycowych i zakrzepowych, okazały się zgodne ze współczesną nauką [2–6].

Także poglądy Rokitanskiego, który uważał, że miażdżycę może być skutkiem występowania i następnie resorpcji skrzeplin przyściennych, znalazły potwierdzenie w późniejszych badaniach nad ewolucją rozwoju zaawansowanej blaszki miażdżycowej.

W świetle współczesnych poglądów część pozornie wykluczających się zjawisk, opisywanych przez wymienionych badaczy, zachodzi na różnych etapach rozwoju miażdżycy [5, 6]. Należy też brać pod uwagę złożony, wielokierunkowy mechanizm rozwoju tego procesu.

W popularnym ujęciu miażdżycę bardziej zwykło się kojarzyć z procesem akumulacji lipidów w ścianie naczyniowej niż z procesami zapalnymi. Niewątpliwie na takie pojmowanie procesu miażdżycowego wpływały wyniki badań przeprowadzonych na początku XX wieku w Petersburgu. W 1908 roku Ignatowski zauważył, że u królików karmionych dietą wysokobiałkową szybciej rozwijają się zmiany miażdżycowe. Jednak przełomowe i szerzej znane były badania Aniczkowa i Chalatowa. Tych dwóch rosyjskich naukowców przeprowadziło w 1913 roku badania eksperymentalne nad wpływem diety na rozwój miażdżycy. Stwierdzili, że dieta bogatocholesterolowa wpływa istotnie na przyspieszenie rozwoju miażdżycy u zwierząt doświadczalnych [7, 8]. Z jednej strony, wyniki ba-

dań tych uczonych były przełomowe dla zrozumienia niektórych elementów patologii miażdżycy, jednak — z drugiej strony — na wiele lat zdominowały poglądy na etiopatogenezę tego schorzenia.

Opinia o dominującym znaczeniu metabolizmu lipoprotein w patogenezie miażdżycy przeważała w poglądach badaczy tego zagadnienia do siódmej dekady XX wieku. Oczywiście później w wielu badaniach epidemiologicznych potwierdzono znaczenie diety jako czynnika wpływającego na rozwój miażdżycy, jednak nie jest to jedyny czynnik niezbędny do zapoczątkowania złożonych procesów prowadzących do miażdżycy naczyń [9–12].

Postęp w zakresie interwencyjnych metod leczenia miażdżycy, takich jak endarterektomia i angioplastyka, skierował uwagę badaczy na problemy związane z wtórnym zwężeniem tętnic po tego typu zabiegach. Zwiększyło to, w latach 80. ubiegłego stulecia, zainteresowanie zagadnieniami związanymi z proliferacją mięśni gładkich ściany naczyniowej w przebiegu miażdżycy.

Opublikowana w 1973 roku teoria Benditt zakładała nawet, że proliferacja komórek mięśni gładkich ściany naczyniowej jest konsekwencją podziałów klonu komórkowego pochodzącego od jednej komórki prekursorowej — na podobieństwo rozrostu zmian nowotworowych [13]. Jednak teoria ta nie znalazła do dziś dostatecznego potwierdzenia w badaniach eksperymentalnych.

Połączenie koncepcji uwzględniających wpływ lipidów oraz proliferacji komórek ściany naczyniowej spowodowało, że miażdżycę zaczęto postrzegać jako proces polegający na gromadzeniu lipidów wśród proliferujących mięśni gładkich, makrofagów oraz w macierzy międzykomórkowej [2, 6, 9].

Koniec XX wieku i początek wieku XXI to okres zwiększonego zainteresowania znaczeniem procesów zapalnych w rozwoju miażdżycy [5, 6, 14, 15]. Wiele uwagi poświęca się także złożonej roli śródbłonka w jej patogenezie [5, 6, 9, 16, 17].

Podsumowując rys historyczny, można stwierdzić, że miażdżycę jest na tyle złożonym procesem patologicznym, że każdy z badaczy działających w XIX i na początku XX wieku miał po części rację.

Na obecnym etapie rozwoju nauk biomedycznych uważa się, że miażdżycę (*atherosclerosis*) jest chorobą dużych i średnich tętnic, która na pierwszych etapach rozwoju jest inicjowana wieloma złożonymi procesami patofizjologicznymi w obrębie błony wewnętrznej naczynia.

W dalszych fazach choroby obserwuje się zaburzenia funkcji, a następnie zmiany strukturalne we wszystkich warstwach ściany naczyniowej.

Dominujący mechanizm patofizjologiczny miażdżycy to proces zapalny. Dynamika rozwoju miażdżycy jest modulowana przez wiele czynników immunologicznych, biochemicznych i biofizycznych uwarunkowanych genetycznie i środowiskowo. Część z tych czynników może sprzyjać rozwojowi miażdżycy — tworząc grupę „czynników ryzyka”; inne mogą hamować jej rozwój — tworząc grupę „czynników ochronnych” [2].

Zmiany w ścianie naczyniowej są w głównej mierze uwarunkowane podśródbłonkowym gromadzeniem się zmodyfikowanych oksydacyjnie lipoprotein o małej gęstości (*oxLDL*, *oxidised low-density lipoprotein*) — proces ten jest w dużej mierze wynikiem reakcji zapalnych z następczym zwiększeniem przepuszczalności śródbłonka. Kolejnym elementem miażdżycotwórczym jest przebudowa macierzy zewnątrzkomórkowej, co z kolei jest wyrazem procesów naprawczych [17].

Udar niedokrwienny mózgu a miażdżycza

Udar niedokrwienny mózgu jest bardzo złożonym zespołem wzajemnie przenikających się patologii. Jednak zmiany miażdżycowe to jedna z jego najistotniejszych przyczyn.

Zmiany miażdżycowe tętnic szyjnych są najczęstszą przyczyną udaru niedokrwiennego mózgu. Szacuje się, że około 1/3 (a według niektórych źródeł — nawet do połowy) wszystkich przypadków udarów niedokrwiennych mózgu jest spowodowana zmianami miażdżycowo-zakrzepowymi w obrębie tętnicy szyjnej wspólnej oraz tętnicy szyjnej wewnętrznej i jej gałęzi [18–20]. Na pozostałe przyczyny składają się, w około 25%, zmiany niedokrwiennie spowodowane „chorobą małych naczyń”, w 20–25% — zatorowość sercowopochodna, a tylko w 5% — inna rzadka przyczyna wystąpienia udaru [18–20]. Poglądy na fenotypową klasyfikację udaru mózgu ulegają zresztą ciągłej ewolucji wraz z rozwojem wiedzy oraz nowoczesnych technik diagnostycznych [21, 22].

Zatorowość tętniczo-tętnicza to najczęstszy mechanizm udarów niedokrwiennych mózgu spowodowanych zamianami miażdżycowymi tętnic szyjnych. Materiał zatorowy może pochodzić z pękniętej, niestabilnej blaszki miażdżycowej; może go także tworzyć oderwana skrzeplina, jej fragment lub agregaty płytek krwi. Zatory występują najczęściej w węższych naczyniach śródczaszkowych, szczególnie w odgałęzieniach tętnicy mózgu środkowej czy też tętnicy ocznej [1–3, 20].

Blaszka miażdżycowa oraz tworząca się na jej powierzchni skrzeplina także mogą zamknąć świa-

tło naczynia. W przypadku zakrzepu zamykającego tętnicę szyjną wewnętrzną do udaru niedokrwiennego mózgu dochodzi, gdy niewydolne jest krążenie oboczne przez koło tętnicze mózgu. Jednak nawet przy zachowanym krążeniu obocznym materiał zatorowy o dużej objętości może ulegać defragmentacji i lizie oraz powodować liczne drobniejsze zatory w odgałęzieniach tętnic śródmózgowych, przyczyniając się tym samym do narastania objawów klinicznych udaru. Tworzeniu zakrzepów przyściennej sprzyja osłabienie zdolności antykoagulacyjnych śródbłonka, a także owrzodzenie lub pęknięcie blaszki miażdżycowej [1–3, 20]. Dlatego wciąż w centrum uwagi są czynniki mające znaczenie w rozwoju miażdżycy tętnic szyjnych i śródczaszkowych.

Zarys patofizjologii miażdżycy

W patogenezie miażdżycy można wyróżnić kilka nakładających się procesów patofizjologicznych i patomorfologicznych [2], które omówiono poniżej.

Jednym z kluczowych procesów jest niewątpliwie peroksydacja i podśródbłonkowa infiltracja lipoprotein o małej gęstości (LDL, *low-density lipoprotein*); ten zespół zaburzeń jest ściśle związany z indukowaniem reakcji zapalnych w ścianie naczyniowej i prowadzi do upośledzenia integralności czynnościowej śródbłonka [23–25]. W tej fazie istotnym mechanizmem tworzenia się zmian miażdżycowych jest pasywny transport LDL przez śródbłonek (odwrotnie proporcjonalny do wielkości cząsteczek, a wprost proporcjonalny do ich gęstości) oraz wiązanie się cząsteczek LDL z proteoglikanami macierzy międzykomórkowej i — co najważniejsze — ich modyfikacja oksydacyjna.

Modyfikacja oksydacyjna LDL jest jednym z kluczowych procesów w patogenezie miażdżycy. Stwierdzono, że cząsteczki *oxLDL*:

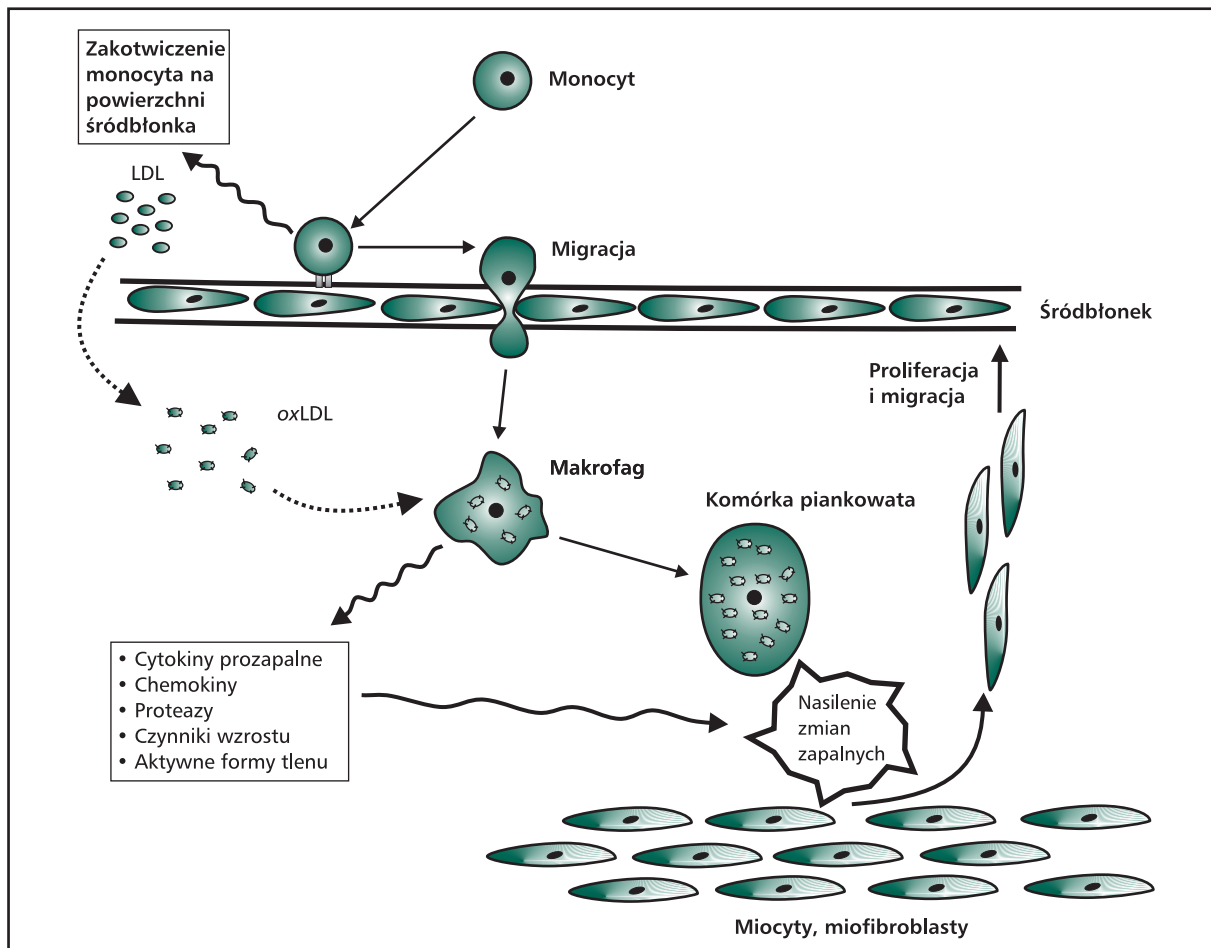
- mają właściwości chemotaktyczne dla monocytów, mogą stymulować wydzielanie przez komórki śródbłonka białka chemotaktycznego monocytów 1 (MPC-1, *monocyte chemoattractant protein 1*) i białka stymulującego kolonie makrofagów (M-CSF, *macrophage colony-stimulating factor*) [14, 25, 26];
- wykazują własności mitogenne dla makrofagów i komórek mięśni gładkich [14, 26, 27];
- mają zdolność hamowania wazodylatacji indukowanej przez tlenek azotu (NO, *nitric oxide*) [28];
- wykazują działanie cytotoksyczne w stosunku do komórek śródbłonka w hodowli [29];
- są internalizowane przez makrofagi, w głównej mierze drogą receptorów „zmiatających”

(*scavenger*) [14, 30]; ostatnio dużą rolę przypisuje się także receptorom Toll-podobnym (*Toll-like receptors*) [14, 31, 32].

Kolejne zagadnienie istotne w patogenezie miażdżycy to zmniejszenie integralności śródbłonna. Konsekwencją tego jest zespół procesów — mediuowanych przez cząsteczki przylegania i cytokiny — związany z adhezją, a następnie migracją przez śródbłonek monocytów/makrofagów oraz różnicowaniem się ich fenotypu. W inicjowaniu i podtrzymywaniu procesów zapalnych, występujących w przebiegu miażdżycy, uczestniczy jeden z głównych mechanizmów wewnątrzkomórkowych kontrolujących procesy zapalne, jakim jest szlak sygnałowy czynnika jądrowego κB (NF- κB , *nuclear factor κB*). Efektem działania NF- κB jest stymulacja syntezy całej gamy genów odpowiedzialnych za wczes-

ne reakcje zapalne, a szczególnie synteza: białek biorących udział w procesach immunologicznych, takich jak cytokiny zapalne (interleukina 1B [IL-1B, *interleukin 1B*], IL-2, IL-6), czynnika martwicy nowotworów α (TNF- α , *tumor necrosis factor α*), chemokin, cząsteczek adhezyjnych (cząsteczek przylegania międzykomórkowego 1 [ICAM-1, *intercellular adhesion molecule 1*], cząsteczek przylegania komórek naczyniowych 1 [VCAM-1, *vascular cell adhesion molecule 1*], E-selektyny) i wybranych receptorów (np. IL-2, *receptor T-cell*) [14, 33] (ryc. 1).

Istotne znaczenie w inicjowaniu tego etapu rozwoju miażdżycy przypisuje się także szlakowi sygnałowemu trimerycznego białka przezłonowego, z rodziny TNF, mianowicie CD40-CD40L [34–36].



Rycina 1. Udział monocytów/makrofagów oraz cząsteczek lipoprotein o małej gęstości (LDL, *low-density lipoprotein*) w powstawaniu zmian miażdżycowych. Aktywowane monocyty różnicują się do makrofagów. Cząsteczki LDL przechodzą do przestrzeni podśródbłonkowej, szczególnie w miejscach nielaminarnego przepływu krwi, i ulegają modyfikacji do oxLDL. W tej przestrzeni makrofagi internalizują cząsteczki oxLDL. Jednocześnie makrofagi uwalniają szereg mediatorów zapalenia przyczyniających się do nasilania procesów miażdżycowych. Czynniki zapalne oraz oxLDL indukują także proliferację, fenotypowe różnicowanie się i migrację do przestrzeni podśródbłonkowej miofibroblastów i miocytów błony środkowej i przydanki (szczegóły — *patrz tekst*)

Kolejne etapy rozwoju miażdżycy to:

- aktywacja i migracja limfocytów T zachodząca w późniejszych stadiach procesu miażdżycowego [3, 14, 15, 37, 38];
- zaburzenia dynamicznej równowagi między aktywacją i proliferacją komórek mięśni gładkich błony środkowej oraz proliferacją i fenotypowym różnicowaniem się fibroblastów przydanki a procesami apoptozy komórek ściany naczyniowej [3, 39, 40];
- migracja komórek mięśni gładkich i miofibroblastów do strefy podśródbłonkowej, zwiększona synteza macierzy międzykomórkowej, neowaskularyzacja w obrębie *vasa vasorum* przydanki i tworzących się blaszek miażdżycowych oraz dalsza indukcja procesów związanych z przewlekłą reakcją zapalną [3, 6, 37] (ryc. 1);
- aktywacja płytek krwi i związane z nią procesy — włączające się we wczesne fazy procesu miażdżycotwórczego [14, 41, 42] oraz przyczyniające się do indukowania zmian zakrzepowych w odcinkach naczyń wykazujących zaawansowaną miażdżycę [2, 3].

Śródbłonek — klucz do rozwoju procesów miażdżycowych

Jak widać z powyższego zestawienia, bardzo duże znaczenie przypisuje się obecnie ochronnej lub, w razie jego uszkodzenia, ułatwiającej rozwój miażdżycy funkcji śródbłonka naczyń.

Pojedyncza warstwa komórek śródbłonka, która od wewnątrz wyściela wszystkie naczynia krwionośne, stanowi metabolicznie interaktywną granicę między płynącą krwią a ścianą naczyniową oraz tkankami i narządami, w których znajdują się te naczynia [43]. Na śródbłonek oddziałują także cząsteczki aktywne biologicznie, wydzielane przez komórki otaczające lub takie, które wniknęły do błony wewnętrznej.

Śródbłonek, wykazując złożone właściwości endokrynne i parakrynne, kontroluje proces wybiórczej przepuszczalności dla komórek, w tym krwinek białych, a także dla cząsteczek białkowych. Wykazuje on także zdolność przeciwdziałania powstawaniu zakrzepów przyściennych [44, 45]. Śródbłonek odgrywa wiodącą rolę w modulowaniu napięcia mięśni gładkich ściany naczyniowej, warunkuje zmiany szerokości naczyń i parametry przepływu krwi [46].

W związku z powyższym wprowadzono termin „aktywacja komórek śródbłonka”, wiążąc go z szeregiem zjawisk patofizjologicznych włączających

komórki śródbłonka w procesy zapalne. Termin ten nie oznacza uszkodzenia struktury ani zaburzenia funkcji śródbłonka, natomiast stanowi zespół pięciu zasadniczych zmian zachodzących w trakcie jego aktywacji. Są to takie zjawiska, jak:

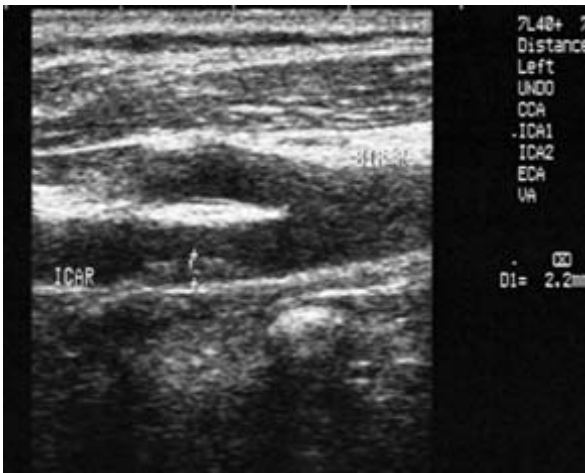
- utrata integralności naczyń (manifestująca się zwiększaniem przepuszczalności tkanki podśródbłonkowej dla płynów z przestrzeni wewnątrznaczyniowej);
- ekspresja cząsteczek adhezji leukocytów (głównie selektyn P i E), VCAM-1 oraz ICAM-1;
- zmiana fenotypu komórek z przeciwwakrzepowego na sprzyjający tworzeniu się zakrzepów;
- wytwarzanie cytokin;
- ekspresja antygenów leukocytów ludzkich (HLA, *human leukocyte antigen*) na powierzchni komórek [2, 44].

Wykładniki zapalenia a zaawansowanie miażdżycy

Dobrym modelem do badań nad rozwojem miażdżycy są tętnice szyjne. Wykazano, że u ludzi rozwój miażdżycy tętnic szyjnych i wieńcowych przebiega w dużym stopniu równolegle. W ostatnich latach coraz szerzej do badań tętnic szyjnych wykorzystuje się technikę ultrasonografii wysokiej rozdzielczości. Badanie ultrasonograficzne wykazuje dość dużą zgodność z badaniami histopatologicznymi w zakresie oceny zwapnień, obecności elementów łącznotkankowych oraz złogów lipidowych w blaszkach miażdżycowych [47–49]. Dodatkowymi zaletami tej techniki są: jej nieinwazyjny charakter, powtarzalność wyników, możliwość standaryzacji oraz relatywnie niski koszt pojedynczego badania.

W badaniach własnych i innych autorów wykazano, że wykładniki zapalenia silnie korelują z zaawansowaniem miażdżycy, grubością błony środkowej i wewnętrznej naczyń (kompleks *intima-media*) oraz obecnością i wielkością blaszek miażdżycowych (ryc. 2).

Szczególnie liczba krwinek białych oraz stężenia białka C-reaktywnego (CRP, *C-reactive protein*) i fibrynogenu korelowały dodatnio z grubością wszystkich badanych metodą ultrasonografii struktur ściany naczyniowej tętnic szyjnych. Natomiast stężenie lipoprotein o dużej gęstości (HDL, *high-density lipoprotein*), mających właściwości przeciwzapalne, wykazywało ujemną korelację z zaawansowaniem miażdżycy [2, 50, 51]. W modelu regresji wieloczynnikowej wykładniki zapalenia w największym stopniu tłumaczyły zmienność takich wykładników miażdżycy, jak grubość kompleksu



Rycina 2. Ultrasonografia wysokiej rozdzielczości rozwidlenia tętnicy szyjnej wspólnej (BIF R), wewnętrznej (ICAR) i zewnętrznej; widać hipoechogeniczną (+1+) blaszkę miażdżycową w początkowym odcinku tętnicy szyjnej wewnętrznej

intima-media i powierzchnia przekroju poprzecznego blaszek miażdżycowych. Korelacja ta nie zależała od faktu przebycia udaru niedokrwiennego mózgu, wieku i płci [2, 50].

Podobne wyniki uzyskali inni autorzy [52, 53].

Zależność między czynnikami mechanicznymi działającymi na ścianę naczyniową a przeciwzapalnymi funkcjami śródbłonka

W przypadku miażdżycy występuje unikalne połączenie procesów immunologicznych i biofizycznych. Wiadomo, że funkcje śródbłonka regulują między innymi siły biomechaniczne generowane przez przepływającą krew [46, 54–56].

Między płynącą krwią a ścianą naczynia wytwarzają się różne siły wpływające na metabolizm naczynia. Najistotniejsze siły oddziałujące na ścianę naczynia to:

- ciśnienie hydrostatyczne krwi znajdującej się w naczyniu; wektor tych sił jest skierowany prostopadłe do powierzchni śródbłonka;
- siły rozciągające lub okrężne (*circumferential stretch tension*), które oddziałują na połączenia między komórkami śródbłonka; siły takie zwiększają się podczas rozszerzania się światła naczynia;
- siły ścinania (*shear stress*) o wektorze zbliżonym do równoległego w stosunku do osi długiej naczynia; są one wynikiem oddziaływania przepływającej krwi z powierzchnią śródbłonka [56, 57] (ryc. 3).

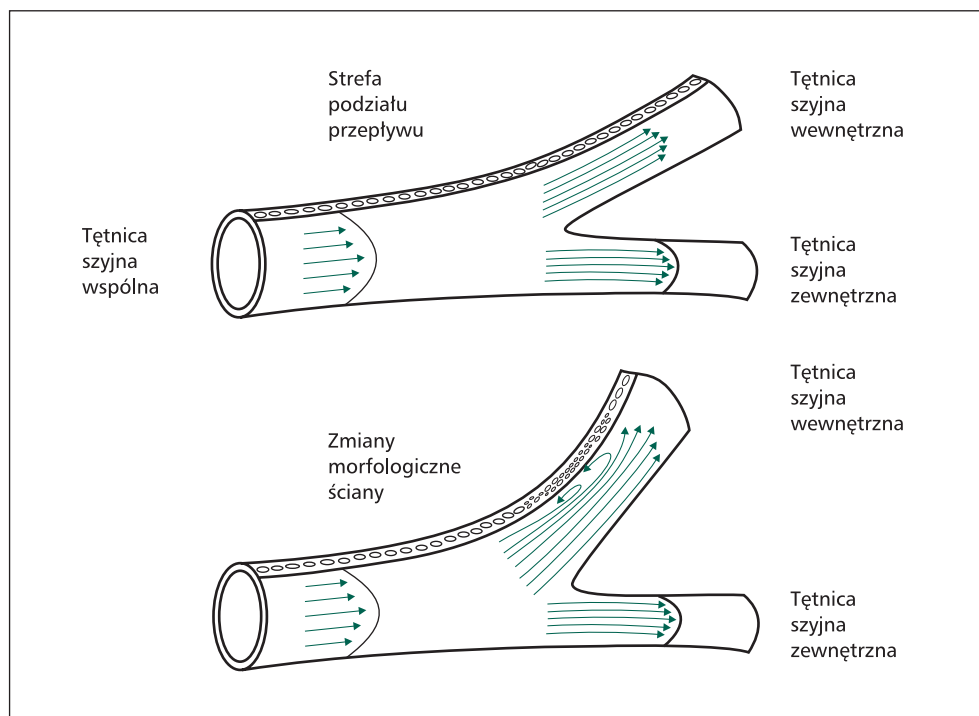
Komórki śródbłonka są poddawane zróżnicowanym w czasie i przestrzeni gradientom tych sił. Najistotniejsze w procesie rozwoju miażdżycy są

siły ścinania. W przypadku oddziaływania sił ścinania w granicach wartości fizjologicznych (10–70 dyn/cm²), kiedy przepływ krwi jest laminarny, komórki śródbłonka zachowują zdolność do utrzymania integralności strukturalnej i czynnościowej ściany naczyniowej. Siły ścinania generowane przez laminarny przepływ krwi wpływają na fenotyp komórek śródbłonka poprzez modulację ekspresji genów warunkujących syntezę substancji biologicznie aktywnych, które chronią przed rozwojem miażdżycy.

Szczególne znaczenie ma stwierdzenie faktu, że przepływ krwi warunkujący utrzymywanie sił ścinania w zakresie wartości fizjologicznych może modulować w komórkach śródbłonka transkrypcję genów odpowiedzialnych za syntezę NO, mianowicie śródbłonkowej syntazy NO (eNOS, *endothelial nitric oxide synthase*) oraz transformującego czynnika wzrostu $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$, *transforming growth factor $\beta 1$*) [58–61]. Tlenek azotu w stężeniach fizjologicznych ma właściwości wazodylatoryjne, zmniejsza agregację płytek krwi, hamuje adhezję leukocytów do powierzchni śródbłonka, zmniejsza zdolność proliferacji mięśni gładkich ściany naczyniowej, a także korzystnie wpływa na metabolizm lipoprotein [62, 63].

Natomiast w przypadku oddziaływania na naczynie nadmiernych sił ścinania (> 70 dyn/cm²) komórki śródbłonka tracą zdolność ochrony naczynia. Duże siły ścinania mogą aktywować płytki krwi oraz być czynnikiem inicjującym tworzenie się mikrocząstek (*mikroparticle*) [64–66]. Zarówno wzmożona agregacja i niszczenie lub zużycie płytek, jak i wzrost frakcji mikrocząstek prowadzą do tworzenia się skrzepliny w zwężonym przez blaszkę miażdżycową odcinku naczynia [65]. W miejscach uszkodzenia naczynia zarówno ekspresja trombiny, jak i odsłonięty kolagen dodatkowo oddziałują jako agoniści reakcji prozakrzepowych [66]. Duże siły ścinania mogą także uszkadzać śródbłonek lub przyczynić się do pęknięcia blaszki miażdżycowej [67, 68].

Z kolei w przypadku występowania zbyt małych wartości sił ścinania (≤ 10 dyn/cm²) wzrasta synteza czynników mitogennych, takich jak płytkowopochodny czynnik wzrostu β (PDGF- β , *platelet-derived growth factor β*) czy angiotensyna II [69]. Niskie wartości sił ścinania nasilają stres oksydacyjny, między innymi za pośrednictwem zmniejszenia syntezy dysmutaz nadtlenkowych (SOD, *super oxide dismutase*) — Mn SOD i Cu/Zn SOD — przez komórki śródbłonka [59, 70, 71]. Istotnym jest, że zmniejszenie wartości



Rycina 3. Siły ścinania w tętnicy szyjnej wspólnej, w bifurkacji tętnic szyjnych i w początkowych odcinkach tętnic szyjnych wewnętrznych. Profile przepływu różnią się w zależności od kształtu rozwidlenia. Nielaminarny przepływ w strefie podziału przepływu (dolna część ryc.) zależy od budowy anatomicznej rozwidlenia i warunkuje zmiany morfologiczne ściany naczyniowej

sił ścinania zwiększa adhezję monocytów do śródbłonna, a szczególnie przyczynia się do aktywacji, wspomnianego wyżej, szlaku sygnałowego NF- κ B [59].

Słabe siły ścinania zależą od kształtu naczynia i najczęściej występują w rozwidleniu tętnic szyjnych, a także w miejscu odejścia odgałęzień tętnic. W takich sytuacjach obserwuje się przepływ turbulentny — powodujący zmniejszenie tych sił (ryc. 3). Natomiast zbyt duże siły ścinania występują w zwężeniach tętnic (stenozach), najczęściej pochodzenia miażdżycowego, choć czasem również w rozwarstwieniach naczyń czy w przypadku zmian zwyrodnieniowych, takich jak dysplazja włóknisto-mięśniowa i inne.

Naturalne mechanizmy przeciwzapalne ograniczające rozwój miażdżycy

Miażdżycy jest procesem dynamicznym. Wiadomo, że może się nasilać w sposób skokowy, a w przypadku spełnienia pewnych warunków — stabilizować się, a nawet nieco cofać [72].

Rozwój miażdżycy mogą w sposób naturalny hamować mechanizmy apoptozy i onkozy, zmniejszając proliferacyjne zdolności komórek ściany naczyniowej. Natomiast prawidłowo funkcjonujący śródbłonek wykazuje, wspomniane wyżej, natural-

ne mechanizmy przeciwzapalne, które mogą do pewnego stopnia hamować rozwój miażdżycy, jak choćby zdolność do syntezy NO.

Kolejnym dowodem na występowanie naturalnych procesów hamujących rozwój miażdżycy jest fakt, że subpopulacje limfocytów T CD4⁺ — Th2 i nowo odkryta subpopulacja Th3 wykazują działanie przeciwzapalne. Komórki Th2 wydzielają cytokiny przeciwzapalne, takie jak IL-4 i IL-10. Natomiast limfocyty Th3 są odpowiedzialne za syntezę transformującego czynnika wzrostu (TGF- β , *transforming growth factor β*) — czynnika o działaniu przeciwzapalnym, który może odgrywać rolę w procesie stabilizacji blaszki miażdżycowej [38, 59].

Zespół naszej katedry wykazał niedawno, że stężenie w surowicy cytokiny przeciwzapalnej, jaką jest IL-10, jest ujemnie skorelowane z zaawansowaniem miażdżycy ściany naczyniowej ocenianej za pomocą ultrasonografii wysokiej rozdzielczości, natomiast wykładniki zapalenia, takie jak CRP, IL-6 czy liczba krwinek białych, korelowały dodatnio z zaawansowaniem miażdżycy tętnic szyjnych [73].

W tym aspekcie należy zwrócić uwagę na plejotropowe działanie inhibitorów 3-hydroksy-3-metylo-glutarylokoenzymu A (HMG-CoA, *3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A*) (statyn), z których większość nie tylko zmniejsza stężenie LDL i pod-

wyższe stężenie HDL, ale także wpływa hamująco na rozwój reakcji zapalnych, czego wyrazem jest choćby obniżenie stężenia CRP.

Zakażenia a rozwój miażdżycy

W ostatnim 10-leciu uzyskano wiele dowodów na to, że przewlekłe zakażenia bakteryjne i wirusowe mogą indukować lub przyspieszać rozwój miażdżycy. Szczególne zainteresowanie budzi zakażenie, między innymi takimi drobnoustrojami, jak *C. pneumoniae* [74, 75], *Helicobacter pylori* — *Cag*⁺ [76], *Cytomegalovirus* [77], oraz — prawdopodobnie — także inne przewlekłe zakażenia [78, 79], na przykład choroby bakteryjne przyzębia [2, 80].

Obecnie dominuje pogląd, że na rozwój miażdżycy może wpływać skumulowane oddziaływanie wielu różnych czynników zakaźnych, tak zwane całkowite narażenie na czynniki zakaźne (*total pathogen burden*) [81, 82]. Sugerowane mechanizmy tego zjawiska są ciągle tematem badań. Bierz się pod uwagę możliwość nasilania reakcji zapalnych przez zakażenia, z ekspozycją antygenów indukujących te reakcje przy udziale drobnoustrojów osiadłych w obrębie blaszek miażdżycowych.

Wykazano istnienie homologicznych białek w błonie komórkowej bakterii z rodzaju *Chlamydia* (w tym *C. pneumoniae*) z białkami łańcuchów ciężkich α miozyny mięśnia sercowego myszy (α hmc[614–629]) [83]. W badaniach eksperymentalnych udało się wywołać autoimmunologiczne zapalenie mięśnia sercowego oraz zmiany zapalne w obrębie naczyń wieńcowych u zwierząt doświadczalnych zakażonych *C. pneumoniae*. Odpowiedzialna za taką reakcję była krzyżowa zgodność antygenów prezentowanych przez *C. pneumoniae* oraz antygenów obecnych w mięśniu sercowym i w mięśniach gładkich ścian naczyniowych. Wiele wskazuje na to, że podobne zjawisko mimikry antygenowej może także występować u ludzi [83].

W jednym z badań autora udało się także wykazać związek między mianem przeciwciał dla łańcuchów ciężkich miozyny a rozwojem miażdżycy tętnic szyjnych mierzonej metodą ultrasonografii wysokiej rozdzielczości [76].

Czynniki mikrobiologiczne mogą wywoływać reakcje zapalne o niewielkim nasileniu poprzez aktywację, wspomnianego wyżej, NF- κ B [33]. Z kolei czynniki, które mogą aktywizować NF- β B, to między innymi: cytokiny (TNF- α , IL-1 β , IL-6), aktywatory kinazy proteinowej, oksydanty, lipopolisacharydy i wirusy. Zdolność taką wykazują także bakterie *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*)

[84] oraz *Rickettsia rickettsii* [85]. Warto zauważyć istniejący tutaj mechanizm dodatniego sprzężenia zwrotnego, polegający na aktywowaniu NF- κ B przez IL-1 β i TNF- α , co zarazem wtórnie stymuluje syntezę cytokin zapalnych [2].

W badaniach Vinka i wsp. [86] obecność bakterii *C. pneumoniae* w makrofagach osiadłych w przydanie korelowała z jej grubością. Nie można wykluczyć, że przydanka stanowi rodzaj rezerwuaru dla osiadłych zakażonych chlamydią makrofagów. Może to generować przewlekłe reakcje zapalne o małym nasileniu, przyczyniające się do fenotypowej modyfikacji fibroblastów przydanki do miofibroblastów oraz ich namnażania i migracji w kierunku podśródbłonkowym. Jest to jeden z istotnych mechanizmów pogrubienia ściany naczyniowej. W sprzyjających okolicznościach bakterie mogą także wędrować drogą *vasa vasorum* do przestrzeni podśródbłonkowych [86]. Potwierdzają to — jednak tylko pośrednio — badania własne autora, w których niedawno wykazano, że u osób z wysokim mianem przeciwciał przeciw *C. pneumoniae* w surowicy przydanka tętnic szyjnych jest grubsza [87].

Trzeba jednak zaznaczyć, że zakażenia stanowią jeden z wielu potencjalnych czynników ryzyka i w badaniach wielu autorów wykazują umiarkowany wpływ na rozwój miażdżycy. Należy też pamiętać o trudnościach metodologicznych związanych z oznaczaniem obecności patogenów bakteryjnych i wirusowych u pacjentów z miażdżycą [50, 88, 89].

Wyniki prób leczenia przewlekłych zakażeń *C. pneumoniae* antybiotykami nie były jednoznaczne. W randomizowanym, przeprowadzonym metodą podwójnie ślepej próby, badaniu z użyciem placebo wykazano, że 30-dniowa doustna terapia antybiotykami makrolidowymi (roksitromycyną w dawce 2 razy dziennie po 150 mg) istotnie spowalniała progresję przyrostu kompleksu *intima-media* tętnic szyjnych, ale wyłącznie u pacjentów seropozytywnych. W nowszym doniesieniu Sander i wsp. [88] stwierdzają, że zmniejszenie progresji poszerzania kompleksu *intima-media* po leczeniu roksitromycyną utrzymywało się do 2 lat, następnie w trzecim i czwartym roku po terapii dynamika wzrostu grubości kompleksu *intima-media* w tętnicach szyjnych osiągnęła taki sam poziom, jak u osób seropozytywnych, których nie leczono antybiotykami (otrzymujących placebo).

Nadal nie jest jasne, czy świadczy to tylko o przejściowym efekcie takiej terapii, czy też należy ją powtarzać lub stosować dłużej u osób ze stwierdzonym zakażeniem i miażdżycą.

Zwraca się także uwagę na możliwość dość licznych błędów laboratoryjnych, szczególnie w zakresie techniki polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR, *polymerase chain reaction*), w której możliwe są wyniki fałszywie dodatnie [89]. Niewątpliwie temat ten wymaga dalszych badań.

Hiperhomocysteinemia jako czynnik ryzyka rozwoju miażdżycy

Kolejnym czynnikiem, na który w ostatnich latach zwraca się uwagę w aspekcie rozwoju miażdżycy naczyń mózgowych, jest podwyższone stężenie homocysteiny.

Stwierdzono dodatnią korelację grubości kompleksu *intima-media* tętnic szyjnych oraz obecności blaszek miażdżycowych ocenianą metodą ultrasonografii z pomiarem stężenia homocysteiny [2, 90, 91]. Wyniki badań z ostatnich lat wykazują, że czynnikiem silniej niż sama homocysteina zaburającym metabolizm komórek śródbłonna jest jej toksyczny metabolit — tiolakton homocysteiny.

Konwersja homocysteiny do jej tiolaktonu zachodzi we wszystkich komórkach organizmu, a powstający w wyniku tej reakcji cykliczny tioester może reagować między innymi z grupą ϵ -aminową lizyny wielu białek enzymatycznych, upośledzając ich funkcję biologiczną [92, 93].

W badaniach eksperymentalnych wykazano, że tiolakton może także indukować reakcje o charakterze zapalnym. W jednym z badań eksperymentalnych tiolakton homocysteiny wykazywał zdolność do wywoływania zmian morfologicznych w komórkach śródbłonna oraz indukowania apoptozy tych komórek [94].

Białkiem, które działa ochronnie w stosunku do niekorzystnej biologicznie reakcji konwersji homocysteiny w jej tiolakton, jest enzym tiolaktonaza homocysteiny. Zatem, stężenie tiolaktonu homocysteiny jest uwarunkowane w pewnej mierze aktywnością enzymu — tiolaktonazy homocysteiny. Tiolaktonaza homocysteiny jest odpowiedzialna za enzymatyczną hydrolizę tiolaktonu do homocysteiny. Stwierdzono, że tiolaktonaza homocysteiny zawiera identyczną sekwencję aminokwasów jak enzym antyoksydacyjny — paraoksonaza 1 (PON-1) [95].

Tiolakton homocysteiny podawany parenteralnie wywołuje przyspieszoną miażdżycę u zwierząt, których osocze nie wykazuje aktywności enzymu rozkładającego tiolakton homocysteiny — tiolaktonazy, natomiast nie powoduje on przyspieszonej miażdżycy u zwierząt z wysoką aktywnością tego enzymu [96, 97].

Niedawno ustalono, że białka modyfikowane poprzez przyłączenie tiolaktonu do grup ϵ -aminowej lizyny (*N ϵ -Hcy-Lys-protein*) mogą wyzwać reakcje immunologiczne, generując *de novo* syntezę autoprzeciwciał. Tego typu reakcje mogą nasilać procesy aterosogenezy u ludzi, podobnie jak to wykazano w przypadku syntezы autoprzeciwciał dla białek podlegających innym formom modyfikacji, takim jak oksydacja lub glikacja [2, 98]. To ostatnie ustalenie może istotnie ułatwić wgląd w patomechanizm złożonych mechanizmów promiażdżycowego oddziaływania homocysteiny i jej tiostroju.

Podwyższone stężenie homocysteiny może się ujawniać szczególnie w grupach osób podatnych genetycznie. Najczęstszy — uwarunkowany genetycznie — defekt enzymatyczny w procesie przemian homocysteiny, związany z umiarkowanym podwyższeniem jej stężenia w surowicy, jest wynikiem tranzycji C677T, w regionie kodującym genu *MTHFR* (reduktazy N⁵, N¹⁰-metylenotetrahydrofolianowej). Mutacja ta powoduje substytucję alaniny waliną i zmniejsza aktywność enzymu o połowę [99]. Ponadto transwersja A→C w pozycji 1298 genu *MTHFR*, skutkująca substytucją alaniny w miejscu glutaminianu w białku enzymatycznym, jest związana także z mniejszą aktywnością tego enzymu [46, 99]. W prawidłowo odżywiającej się populacji, u osób heterozygotycznych, defekty te nie ujawniają się fenotypowo lub ujawniają się w niewielkim, nieistotnym klinicznie, zakresie. Natomiast w przypadku niedoborów kwasu foliowego w pożywieniu mutacje te mogą być powodem podwyższonego stężenia homocysteiny w osoczu i wykazywać związek z wyższym ryzykiem rozwoju miażdżycy [100].

Obniżenie stężenia homocysteiny można dość łatwo uzyskać, podając kwas foliowy w dawkach wymaganych dla suplementacji — 0,4 mg na dobę (wyjątkiem są kobiety w ciąży poddane terapii lekami przeciwpadaczkowymi oraz te, które urodziły już dziecko z wadą cewy nerwowej — powinny one przyjmować większe dawki) oraz w razie potrzeby witaminy B₁₂ i B₆. W zaleceniach Komitetu Żywnościowego *American Heart Association* z 1999 roku, dotyczących postępowania w przypadku stwierdzenia hiperhomocysteinemii, wskazuje się na potrzebę suplementacji lub też zmiany diety i większego spożywania kwasu foliowego (0,4 mg/d.) oraz witamin B₆ (2 mg/d.) i B₁₂ (6 μ g/d.) [101].

Należy jednak pamiętać, że kwas foliowy w dużych dawkach działa mitogenicznie i może nasilać proliferację śródbłonna. W jednym z badań zjawisko to doprowadziło do większej liczby restenoz w stentach

tętnic wieńcowych niż w grupie kontrolnej u osób leczonych dużymi dawkami kwasu foliowego [102].

Podsumowanie

Podsumowując, patogeneza miażdżycy jest złożonym wieloczynnikowym zagadnieniem, ciągle jeszcze nie do końca poznanym. Niewątpliwie, sukcesem ostatnich lat jest dokładniejsze ustalenie znaczenia czynników zapalnych i zakaźnych w rozwoju miażdżycy. Należy jednak pamiętać, że czynniki dietetyczne oraz uwarunkowania genetyczne, które stanowią osobne zagadnienie i nie były szerzej poruszane w tym artykule (omówiono je w opracowaniu [103]), mają także niewątpliwie znaczenie w rozwoju miażdżycy.

PIŚMIENICTWO

- Hort W. History of cardiovascular pathology. *Z. Kardiol.* 2002; 91 (supl. 4): 20–24.
- Kaźmierski R. Zależności pomiędzy występowaniem czynników ryzyka miażdżycy a parametrami biometrycznymi tętnic szyjnych ocenionych metodą ultrasonografii. *Wyd. Naukowe Akademii Medycznej, Poznań* 2004: 1–8.
- Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362: 801–809.
- Ross R. Atherosclerosis — an inflammatory disease. *NEJM* 1999; 340: 115–126.
- Lusis A.J. Atherosclerosis. *Nature* 2000; 407: 233–241.
- Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868–874.
- Anitschkow N., Chalator S. On experimental cholesterol steatosis and its significance in the origin of some pathological processes (1913). *Arteriosclerosis* 1993; 3: 178–182 [przedruk].
- Finking G., Hanke H. Nikolaj Nikolajewitsch Anitschkow (1885–1964) established the cholesterol-fed rabbit as a model for atherosclerosis research. *Atherosclerosis* 1997; 135: 1–7.
- Ross R., Harker L. Hyperlipidemia and atherosclerosis. *Science* 1976; 193: 1094–1110.
- Steinberg D., Witztum J.L. Lipoproteins and atherogenesis: current concepts. *JAMA* 1990; 264: 3047–3052.
- Witztum J.L. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 1993; 344: 793–795.
- Witztum J.L., Berliner J.A. Oxidized phospholipids and isoprostanes in atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.* 1998; 9: 441–448.
- Benditt E.P., Benditt J.M. Evidence for a monoclonal origin of human atherosclerotic plaques. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1973; 70: 1753–1756.
- Galkina E., Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis. *Ann. Rev. Immunol.* 2009; 27: 165–197.
- Hansson G.K. Inflammatory mechanisms in atherosclerosis. *J. Thromb. Haemost.* 2009; 7 (supl. 1): 328–331.
- Cybalski M.I., Gimbrone Jr M.A. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science* 1991; 251: 788–791.
- Skoczyńska A. Patogeneza miażdżycy. *Urban i Partner, Wrocław* 2006: 1–6.
- Sandercock P., Warlow C., Joines L.N., Starkey I.R. Predisposing factors for cerebral infarction: the Oxfordshire Community Stroke Project. *BMJ* 1989; 298: 75–80.
- Bamford J., Sandercock P., Dennis M., Burn J., Warlow C. Classification and natural history of clinically identifiable subtypes of cerebral infarction. *Lancet* 1991; 337: 1521–1526.
- Warlow C.P., Dennis M.S., van Gijn J. i wsp. Stroke: a practical guide to management. *Blackwell Science, Oxford* 2001: 223–300.
- Amarenco P., Bogousslavsky J., Caplan L.R., Donnan G.A., Hennerici M.G. Classification of stroke subtypes. *Cerebrovasc. Dis.* 2009; 27: 493–501.
- Amarenco P., Bogousslavsky J., Caplan L.R., Donnan G.A., Hennerici M.G. New approach to stroke subtyping: the A-S-C-O (phenotypic) classification of stroke. *Cerebrovasc. Dis.* 2009; 27: 502–508.
- Witztum J.L. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 1993; 344: 793–795.
- Witztum J.L., Berliner J.A. Oxidized phospholipids and isoprostanes in atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.* 1998; 9: 441–448.
- Steinberg D. Low-density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J. Biol. Chem.* 1997; 272: 20 963–20 966.
- Quinn M.T., Parthasarathy S., Fong L.G., Steinberg D. Oxidatively modified low-density lipoproteins: a potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1987; 82: 2995–2998.
- Yui S., Sasaki T., Miyazaki A., Horiuchi S., Yamazaki M. Induction of murine macrophage growth by modified LDL. *Arterioscler. Thromb.* 1993; 13: 331–337.
- Kugiyama K., Kerns S.A., Morrisett J.D., Roberts R., Henry P.D. Impairment of endothelium-dependent arterial relaxation by lysolecithin in modified low-density lipoproteins. *Nature* 1990; 344: 160–162.
- Hessler J.R., Morel D.W., Lewis L.J., Chisolm G.M. Lipoprotein oxidation and lipoprotein-induced cytotoxicity. *Arteriosclerosis* 1983; 3: 215–222.
- Kodama T., Freeman M., Rohrer L., Zabrecky J., Matsudaira P., Krieger M. Type I macrophage scavenger receptor contains alpha-helical and collagen-like coiled coils. *Nature* 1990; 343: 531–535.
- Tokarz-Deptuła B., Niedźwiedzka P., Deptuła W. Receptory Toll-podobne — nowe znaczniki w immunologii. *Alergia Astma Immunologia* 2006; 11: 23–28.
- Frantz S., Ertl G., Bauersachs J. Mechanisms of disease: Toll-like receptors in cardiovascular disease. *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* 2007; 4: 444–454.
- Barnes P.J., Karin M. Nuclear factor κ B — a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N. Eng. J. Med.* 1997; 336: 1066–1071.
- Henn V., Slupsky J., Grafe M. i wsp. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature* 1998; 391: 591–594.
- Andre P., Nannizzi-Alaimo B.S., Prasad S.K., Phillips D.R. Platelet-derived CD40L the switch-hitting player of cardiovascular disease. *Circulation* 2002; 106: 869–899.
- Mach F., Schonbeck U., Sukhova G.K. i wsp. Functional CD40 ligand is expressed on human vascular endothelial cells, smooth muscle cells, and macrophages: implication for atherosclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997; 94: 1931–1936.
- Hansson G. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *NEJM* 2005; 352: 1685–1695.
- Hansson G. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2001; 21: 1876–1890.
- Geng J.Y., Libby P. Progression of atheroma. A struggle between death and procreation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002; 22: 1370–1380.
- Rey F.E., Pagano P.J. The reactive adventitia: fibroblast oxidase in vascular function. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002; 22: 1962–1971.
- Koyama H., Maeno T., Fukumoto S. i wsp. Platelet P-selectin expression is associated with atherosclerotic wall thickness in carotid artery in humans. *Circulation* 2003; 108: 524–529.
- Mikkelsen J., Perola M., Penttila A., Goldschmidt-Clermont P.J., Karhunen P.J. The GPIIb/IIIa (beta 3 integrin) P1A polymorphism in the early development of coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2001; 154: 721–727.
- Cinnes D.B., Pollak E.S., Buck C.A. i wsp. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998; 15: 3527–3561.
- Hunt B.J., Jurd K.M. Endothelial cell activation. A central pathophysiological process. *BMJ* 1998; 316: 1328–1329.
- Malek A.M., Jackman R., Rosenberg R.D., Izumo S. Endothelial expression of thrombomodulin is reversibly regulated by fluid shear stress. *Circ. Res.* 1994; 74: 852–860.
- Malek A.M., Alper S.L., Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *JAMA* 1999; 282: 2035–2042.
- Gronholdt M.L.M. B-mode ultrasound and spiral CT for the assessment of carotid atherosclerosis. *Neuroimaging Clin. North Am.* 2002; 12: 421–435.
- Wong M., Edelstein J., Wollman J., Bond M. Ultrasonic-pathological comparison of the human arterial wall. Verification of intima-media thickness. *Arterioscler. Thromb.* 1993; 13: 482–486.
- Perrson J., Formgren J., Israelsson B., Berglund G. Ultrasound-determined intima-media thickness and atherosclerosis: direct and indirect validation. *Arterioscler. Thromb.* 1994; 14: 261–264.
- Kaźmierski R., Podsiadły E., Tylewska-Wierzbanowska S., Kozubski W. Związek pomiędzy zaawansowaniem miażdżycy tętnic szyjnych a wykładnikami zapalenia i zakażenia bakteriami *Chlamydia pneumoniae*. *Neurol. Neurochir. Pol.* 2005; 39: 277–286.
- Mathiesen E.B., Bona K.H., Joakimsen O. Low levels of high-density lipoprotein cholesterol are associated with echolucent carotid artery plaques: the Tromsø Study. *Stroke* 2001; 32: 1960–1965.
- Magyar M.T., Szikszai Z., Balla J. i wsp. Early-onset carotid atherosclerosis is associated with increased intima-media thickness and elevated serum levels of inflammatory markers. *Stroke* 2003; 34: 58–63.
- Elkind M.S., Cheng J., Boden-Albala B., Paik M.C., Sacco R. Elevated white blood cell count and carotid plaque thickness: the Northern Manhattan Stroke Study. *Stroke* 2001; 32: 842–849.
- Liesch D. Principles and models of hemodynamics. W: Hennerici M.G., Meairs S.P. (red.). *Cerebrovascular ultrasound*. Cambridge University Press, Cambridge 2001: 25–62.

55. Glagov S., Bassiouny H.S., Zarins C.K., Slesers A. Morphogenesis of the atherosclerotic plaque. W: Hennerici M.G., Meairs S.P. (red.). *Cerebrovascular ultrasound*. Cambridge University Press, Cambridge 2001: 117–133.
56. Kaźmiński R. Biomechaniczne siły ścinania występujące w tętnicach szyjnych a rozwój miażdżycy. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2003; 57: 713–725.
57. Bergman H.L., Chesler N.C., Ku D.N., Wootton D.M. Hemodynamics and atherosclerosis. W: Hennerici M.G., Meairs S.P. (red.). *Cerebrovascular ultrasound*. Cambridge University Press, Cambridge 2001: 134–151.
58. Traub O., Berk B. Laminar shear stress: mechanisms by which endothelial cell transduce an atheroprotective force. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998; 18: 677–685.
59. Tedgui A., Mallat Z. Anti-inflammatory mechanisms in the vascular wall. *Circ. Res.* 2001; 88: 877–887.
60. Malek A.M., Izumo S. Physiological fluid shear stress causes downregulation of endothelin-1 mRNA in bovine aortic endothelium. *Am. J. Physiol.* 1992; 263: C389–C396.
61. Ohno M., Cooke J.P., Dzaou V.J., Gibbons G.H. Fluid shear stress induces endothelial transforming factor beta-1 transcription and production: modulation by potassium channel blockade. *J. Clin. Invest.* 1995; 95: 1363–1369.
62. Zarins C.K., Zatina M.A., Giddens D.P., Ku K.D., Glagov S. Shear stress regulation of artery lumen diameter in experimental atherogenesis. *J. Vasc. Surg.* 1987; 5: 413–420.
63. Irace C., Carallo C., Crescenzo A. i wsp. NIDDM is associated with lower wall shear stress of the common carotid artery. *Diabetes* 1999; 48: 193–197.
64. Dachary-Prigent J., Freyssinet J.M., Pasquet J.M., Carron J.C., Nurdan A.T. Annexin V as a probe of aminophospholipid exposure and platelet membrane vesiculation: a flow cytometry study showing a role for free sulfhydryl groups. *Blood* 1993; 81: 2554–2565.
65. Miyazaki Y., Nomura S., Miyake T. High shear stress can initiate both platelet aggregation and shedding of procoagulant containing microparticles. *Blood* 1996; 88: 3456–3464.
66. Holme P.A., Orvim U., Hamers M.J.A. i wsp. Shear-induced platelet activation and platelet microparticle formation at blood flow conditions as in arteries with a severe stenosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997; 17: 646–653.
67. Fry D.L. Acute vascular endothelial changes associated with increased blood velocity gradient. *Circ. Res.* 1986; 22: 165–197.
68. Wootton D.M., Ku D.N. Fluid mechanics of vascular system, diseases, and thrombosis. *Ann. Rev. Biomech. Eng.* 1999; 1: 299–329.
69. Gnasso A., Carallo C., Irace C. i wsp. Association between intima-media thickness and wall shear stress in common carotid arteries in healthy male subjects. *Circulation* 1996; 94: 3257–3262.
70. Topper J.N., Cai J., Falb D., Gimbrone Jr M.A. Identification of vascular endothelial genes differentially responsive to fluid mechanical stimuli: cyclooxygenase-2, manganese superoxide dismutase, and endothelial cell nitric oxide synthase are selectively upregulated by steady laminar shear stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996; 93: 10417–10422.
71. Inoue N., Ramasamy S., Fukai T., Nerem R.M., Harrison D.G. Shear stress modulates expression Cu/Zn superoxide dismutase in human aortic endothelial cells. *Circ. Res.* 1996; 79: 32–37.
72. Taylor A.J., Kent S.M., Flaherty P.J., Coyle L.C., Markwood T.T., Vemalis M.N. ARBITER: arterial biology for the investigation of the treatment effects of reducing cholesterol: a randomized trial comparing the effects of atorvastatin and pravastatin on carotid intima-media thickness. *Circulation* 2002; 106: 2055–2060.
73. Ambrosius W., Kaźmiński R., Michalak S., Kozubski W. Anti-inflammatory cytokines in subclinical atherosclerosis. *Neurology* 2006; 66: 1946–1948.
74. Sander D., Winbeck K., Klingelhöfer J., Etgen T., Conrad B. Enhanced progression of early carotid atherosclerosis is related to Chlamydia pneumoniae (Taiwan Acute Respiratory) seropositivity. *Circulation* 2001; 103: 1390–1395.
75. Wimmer M.L.J., Sandmann-Strupp R., Saikku P., Haber R.L. Association of Chlamydia infection with cerebrovascular disease. *Stroke* 1996; 27: 2207–2210.
76. Kaźmiński R., Baumann-Antczak A., Kozubski W. Zależność pomiędzy stężeniem przeciwciał dla łańcuchów ciężkich miozyny w surowicy krwi a objawową miażdżycą tętnic szyjnych. *Neurol. Neurochir. Pol.* 2002; 36: 235–243.
77. Nieto F.J., Adam E., Sortie P. i wsp. Cohort study of cytomegalovirus infection as a risk factor for carotid intimal-medial thickening, a measure of subclinical atherosclerosis. *Circulation* 1996; 94: 922–927.
78. Kiechl S., Egger G., Mayr M. i wsp. Chronic infections and the risk of carotid atherosclerosis: prospective results from a large population study. *Circulation* 2001; 103: 1064–1070.
79. Kiechl S., Werner P., Egger G. i wsp. Active and passive smoking, chronic infections, and the risk of carotid atherosclerosis: prospective results from the Bruneck Study. *Stroke* 2002; 33: 2170–2176.
80. Desvarieux M., Demmer R.T., Rundek T. i wsp. Relationship between periodontal disease, tooth loss, and carotid artery plaque. *Stroke* 2003; 34: 2120–2125.
81. Zhu J., Quyyumi A.A., Norman J.E. i wsp. Effects of total pathogen burden on coronary artery disease risk and C-reactive protein levels. *Am. J. Cardiol.* 2000; 85: 140–145.
82. Rupprecht H.J., Blackenbarg S., Bickel C. i wsp. AutoGene Investigators. Impact of viral and bacterial burden on long-term prognosis in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104: 25–31.
83. Bachmaier K., Neu N., de la Maza L.M., Pal S., Hessel A., Penninger J.M. Chlamydia infections and heart disease linked through antigenic mimicry. *Science* 1999; 283: 1335–1339.
84. Dechend R., Maass M., Gieffers J., Dietz R. Chlamydia pneumoniae infection of vascular smooth muscle cells activates NF- κ B and induces Tissue factor and PAI-1 expression. *Circulation* 1999; 100: 1369–1373.
85. Clifton D.R., Goss R.A., Sahni S.K., van Antwerp D. NF- κ B-dependent inhibition of apoptosis is essential for host cell survival during Rickettsia rickettsii infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998; 95: 4646–4651.
86. Vink A., Posterkamp G., Poppen M. i wsp. The adventitia of atherosclerotic coronary arteries frequently contains Chlamydia pneumoniae. *Atherosclerosis* 2001; 157: 117–122.
87. Kaźmiński R., Watala C., Podsiadły E., Dorszewska J., Kozubski W. Association of atherosclerotic risk factors with carotid adventitial thickness assessed by ultrasonography. *J. Clin. Ultrasound* 2009; 37: 333–341.
88. Sander D., Winbeck K., Klingelhöfer J., Etgen T., Conrad B. Progression of early carotid atherosclerosis is only temporarily reduced after antibiotic treatment of Chlamydia pneumoniae seropositivity. *Circulation* 2004; 109: 1010–1015.
89. Apfalter P., Barousch W., Nehr M. i wsp. No evidence of involvement of Chlamydia pneumoniae in severe cerebrovascular atherosclerosis by means of quantitative real-time polymerase chain reaction. *Stroke* 2004; 35: 2024–2028.
90. Spence J.D., Malinow M.R., Barnett P.A., Marian A.J., Freeman D., Hegele R. Plasma homocyst(e)ine concentration, but not MTHFR genotype, is associated with variation in carotid plaque area. *Stroke* 1999; 30: 969–973.
91. McQuillan B.M., Beilby J.P., Nidorf M., Thompson P.L., Hung J. Hyperhomocysteinemia but not the C667T mutation of methylenetetrahydrofolate reductase is an independent risk determinant of carotid wall thickening. *Circulation* 1999; 99: 2383–2388.
92. Jakubowski H., Zhang L., Bardiguez A., Aviv A. Homocysteine thiolactone and protein homocysteinylation in human endothelial cell: implications for atherosclerosis. *Circ. Res.* 2000; 87: 45–51.
93. Jakubowski H. Protein homocysteinylation: possible mechanism underlying pathological consequences of elevated homocysteine levels. *FASEB J.* 1999; 13: 2277–2283.
94. Rodgers G., Kane W. Activation of endogenous factor V by a homocysteine-induced vascular endothelial cell activator. *J. Clin. Invest.* 1986; 77: 731–741.
95. Jakubowski H. Calcium-dependent human serum homocysteine thiolactone hydrolase. *J. Biol. Chem.* 2000; 275: 3957–3962.
96. Donahue S., Sturman J.A., Gaul G. Arteriosclerosis due to homocyst(e)inemia. Failure to reproduce the model in weaning rabbits. *Am. J. Pathol.* 1974; 77: 167–174.
97. Harker L., Slichter S., Scott C., Ross R. Homocysteinemia. Vascular injury and arterial thrombosis. *NEJM* 1974; 291: 537–543.
98. Undas A., Perta J., Łaciński M., Trzeciak W., Kaźmiński R., Jakubowski H. Autoantibodies against N-homocysteinylated proteins in humans: implications for atherosclerosis. *Stroke* 2004; 35: 1299–1304.
99. Chango A., Boisson F., Barbe F. i wsp. The effect of 677 C-T and 1298 A-C mutations on plasma homocysteine and 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase activity in healthy subjects. *Br. J. Nutr.* 2000; 83: 593–596.
100. Hankey G.J., Eikelboom J.W. Homocysteine and vascular disease. *Lancet* 1999; 354: 407–413.
101. Malinow M.R., Bostom A.G., Krauss R.M. Homocyst(e)ine, diet, and cardiovascular diseases. A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee, American Heart Association. *Circulation* 1999; 99: 178–182.
102. Lange H., Suryapranata H., De Luca G. i wsp. Folate therapy and in-stent restenosis after coronary stenting. *NEJM* 2004; 350: 2673–2681.
103. Kaźmiński R., Łaciński M. Postępy w badaniach nad czynnikami genetycznymi wpływającymi na rozwój miażdżycy tętnic szyjnych i śródczaszkowych. *Aktualności Neurologiczne* 2002; 2: 8–16.