

Rola szlaku CD40/CD40L w biologicznej aktywności płytek krwi. Część II

The role of CD40/CD40L pathway in biological activity of blood platelets: part II

Joanna Saluk-Juszczak, Karolina Królewska

Katedra Biochemii Ogólnej Uniwersytetu Łódzkiego;
kierownik Katedry: prof. dr hab. n. przyrodn. Barbara Wachowicz

Przeгляд Menopauzalny 2010; 6: 371–375

Streszczenie

Podstawową funkcją płytek krwi jest ich udział w utrzymywaniu prawidłowej hemostazy, jednak istotny również jest ich udział w rozwoju reakcji zapalnych. Odkrycie ekspresji cząsteczek CD40 i CD40L na powierzchni płytek krwi oraz udział szlaku CD40/CD40L w ich aktywacji potwierdziło rolę płytek w procesach odpornościowych i stanach zapalnych. Dotyczy to m.in. udziału płytek krwi w tworzeniu złożeń miażdżycowych na skutek przewlekłego procesu zapalnego ściany tętnicy, powstającego w wyniku utrzymującej się aktywacji komórek śródbłonna i jego interakcji z płytkami krwi oraz leukocytami. W wielu stanach patologicznych dotyczących zaburzeń w układzie krążenia, m.in. w zmianach związanych z okresem menopauzy, w miażdżycy, cukrzycy, chorobach nowotworowych obserwuje się wzmożoną aktywację płytek krwi, w którą zaangażowany jest prozapalny i prozakrzepowy szlak CD40/CD40L. Funkcjonowanie przekaźnikowego układu CD40/CD40L jest niezwykle ważne w inicjowaniu swoistej odpowiedzi odpornościowej, ponieważ odgrywa istotną rolę komunikacyjną i sygnałową pomiędzy komórkami uczestniczącymi w rozwoju reakcji zapalnych. Transdukcja sygnału pobudza syntezę cząstek adhezyjnych, chemokin, cytokin, czynników tkankowych, reaktywnych form tlenu, metaloproteaz, czynników wzrostu i innych mediatorów stanu zapalnego. Zahamowanie szlaku CD40/CD40L może stwarzać nowe możliwości interwencji terapeutycznej.

Słowa kluczowe: aktywacja płytek krwi, szlak CD40/CD40L, zapalenie, zakrzep.

Summary

The main function of blood platelets is their haemostatic role, but recent evidence shows that processes of platelet activation may be sometimes a critical link between haemostasis and development of inflammation. The discovery of expression of CD40 and its ligand – CD40L on platelet surface revealed the participation of these cells in immune responses and inflammation. In many pathological processes related to cardiovascular disorders, e.g. changes connected with menopause, enhanced platelet activation is observed in atherosclerosis, diabetes and cancer, in which proinflammatory and prothrombotic CD40/CD40L pathway is involved. Signals that drive inflammatory events and are transmitted through CD40/CD40L pathway cause the inflammatory cell interactions leading to induction of innate immune response. This signal transduction is associated with the release of adhesion molecules, chemokines, cytokines, tissue factors, reactive oxygen species, growth factors and other proinflammatory mediators from activated cells. Hyperactivity of platelets associated with signal transduction by CD40/CD40L pathway is observed in many pathogenic processes, including thrombosis, diabetes, inflammation and cancers. The inhibition of CD40/CD40L pathway may provide alternative treatment for various diseases in the future.

Key words: platelet activation, pathway of CD40/CD40L, inflammatory, thrombus.

Udział szlaku CD40/CD40L w aktywacji płytek krwi

W wyniku działania na płytki krwi pojawiających się w krwiobiegu specyficznych czynników stymulujących

dochodzi do złożonego, wieloetapowego procesu ich aktywacji, który wyraża się uruchomieniem przemian w wielu szlakach metabolicznych, zwiększeniem stężenia wewnątrzkomórkowego wapnia oraz fosforylacją białek katalizowaną przez kinazy białkowe [1, 2]. Do fizjologicz-

Adres do korespondencji:

Joanna Saluk-Juszczak, Katedra Biochemii Ogólnej Uniwersytetu Łódzkiego, ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź, e-mail: juszczak@biol.uni.lodz.pl

nych agonistów płytek, indukujących sygnał dla przemian wewnątrzkomórkowych, powodujących aktywację tych komórek poprzez oddziaływanie ze swoistymi receptorami powierzchniowymi, należą: trombina, kolagen, adenosynodifosforan (ADP), czynnik aktywujący płytki krwi (*platelet-activating factor* – PAF), tromboksan A_2 (TXA₂), serotonina, adrenalina, a także wazopresyna [1].

Szlaki prowadzące do aktywacji przez różne receptory integrynowe nie są nigdy jednakowe, ale są zbieżne. Niezależnie od różnic w budowie i właściwościach agonistów płytkowych fizjologiczna odpowiedź płytek krwi zawsze związana jest z reorganizacją cytoszkieletu prowadzącą do zmiany kształtu, adhezją do ściany naczynia krwionośnego, sekrecją związków zmagazynowanych w płytkowych ziarnistościach oraz tworzeniem agregatów płytkowych [3]. W procesie przekazywania sygnału bierze udział wiele różnych typów cząsteczek, w tym: białkowe kinazy tyrozynowe i serynowo-treoninowe, fosfatazy, białka G, fosfolipaza A_2 , fosfolipaza C, cyklaza adenylanowa i guanylanowa, a także wtórne przekaźniki sygnału – 3',5'-cykliczny adenosynomonofosforan (cAMP), 3',5'-cykliczny guanozynomonofosforan cGMP, diacyloglicerol (DAG), trifosfoinozytol (IP₃) [4].

W płytkach krwi wyróżnić można trzy główne szlaki przekazywania sygnału:

- szlak kwasu arachidonowego, w którym aktywacji ulega fosfolipaza A_2 (PLA₂) katalizująca odłączenie wolnego kwasu arachidonowego z fosfolipidów błon cytoplazmatycznych;
- szlak zachodzący z udziałem fosfolipazy C (PLC), katalizującej uwalnianie dwóch wtórnych przekaźników informacji – IP₃ oraz DAG;
- szlak, w którym zahamowana zostaje cyklaza adenylanowa.

Wszystkie te szlaki są ze sobą ściśle powiązane, prowadząc ostatecznie do zmiany konformacji głównej integryny płytkowej GPIIb/IIIa ($\alpha_{IIb}\beta_3$), co pozwala na wiązanie fibrynogenu i tworzenie agregatów płytkowych [1].

Aktywacja płytkowego szlaku CD40/CD40L wyrażająca się wzmożoną ekspresją receptorów CD40 oraz pojawieniem się liganda CD40L na powierzchni płytek prowadzi do zwiększenia pozakomórkowego stężenia rozpuszczalnej formy sCD40L [5]. Podczas aktywacji płytek krwi wywołanej działaniem fizjologicznych agonistów, w tym rozpuszczalnej formy sCD40, dochodzi do ekspozycji obecnych na powierzchni płytek cząsteczek CD40 oraz ekspresji zgromadzonego we wnętrzu komórek liganda CD40L. Stosując testy immunofluorescencyjne, wykazano, że znajdująca się w cytoplazmie spoczynkowych płytek krwi cząsteczka CD40L już po jednej minucie od czasu ich aktywacji ulega transportowi i natychmiastowej ekspresji na powierzchni, razem z innymi klasycznymi markerami aktywacji płytek, np. selektyną P. Ekspresja CD40L na powierzchni aktywowanych płytek krwi jest procesem, który charakteryzuje

się szybkim wzrostem. W krótkim czasie po zadziałaniu czynnika aktywującego obserwuje się maksymalne natężenie wydzielania cząsteczek CD40L, które jest związane z powierzchnią płytek. Po ok. godzinie dynamika procesu powraca do stanu wyjściowego. Po wyeksponowaniu liganda na powierzchnię płytek dochodzi do jego hydrolitycznego odszczepienia, a maksimum wydzielania rozpuszczalnej formy sCD40L następuje po ok. 1–2 godz. od zadziałania agonisty. Jest to stosunkowo długo w porównaniu z czasem sekrecji, po którym dochodzi do zewnątrzkomórkowego wydzielania substancji zmagazynowanych w płytkowych ziarnistościach [6]. Aktywacja płytek w stanach zapalnych prowadzi do natychmiastowej degranulacji α -ziarnistości i uwalniania szeregu aktywnych biologicznie czynników białkowych o działaniu prozapalnym, głównie chemokiny ulegającej ekspresji i sekrecji po aktywacji limfocytów T (*regulated upon activation normal T cell expressed and secreted* – RANTES), czynnika wzrostu beta (*transforming growth factor beta* – TGF- β), czynnika płytkowego 4 (*platelet factor 4* – PF4), interleukiny 1 (IL-1), β -tromboglobuliny (β TG) [2]. Z aktywowanych płytek uwolnione zostają także inne związki, które choć nie są uznawane za substancje prozapalne, odgrywają istotną rolę w przebiegu reakcji zapalnych z udziałem płytek. Są to m.in. płytkowy czynnik wzrostu (ang. *platelet derived growth factor* – PDGF), trombospondyna (TSP) oraz czynnik wzrostu śródbłotka naczyniowego (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) [7].

Mechanizmy wydzielania sCD40L oparte są głównie na funkcjonowaniu podstawowego receptora integrynowego płytek krwi GPIIb/IIIa oraz zachodzą z udziałem licznych metaloproteaz macierzy (*matrix degrading metalloproteinases* – MMPs) [6]. Wykazano, że substancje działające antagonistycznie w stosunku do GPIIb/IIIa w znacznym stopniu (nawet do 85%) hamują wydzielanie sCD40L podczas aktywacji płytek [8]. Uwalnianie rozpuszczalnego sCD40L za pośrednictwem metaloproteaz macierzy MMP-3 i MMP-9 potwierdza natomiast ich zwiększone stężenie w osoczu skorelowane ze wzmożoną ekspresją powierzchniową cząsteczki CD40L oraz zwiększeniem pozakomórkowego stężenia sCD40L [9]. Zastosowanie inhibitora dla MMP, jakim jest GM6001, hamuje odszczepianie i uwalnianie formy sCD40L [6].

Pobudzenie płytek krwi może być inicjowane na drodze zależnej od aktywacji kinaz p38 i p42, w wyniku której dochodzi do reorganizacji cytoszkieletu płytek, co prowadzi do ekspresji receptorów powierzchniowych, w tym także do translokacji i ekspozycji cząsteczek CD40L i selektyny P. Jeśli płytki krwi poddane działaniu trombiny, tromboksanu A_2 czy ADP są ekspozowane na działanie inhibitorów: PEG₁ – zwiększającego stężenie cAMP lub nitroprusydku sodu – zwiększającego stężenie cGMP, hamowana jest fosforylacja kinaz białkowych (p38 – zależnej od cAMP i p48 – zależnej od cGMP), co prowadzi do zahamowania aktywacji płytek

i blokowania ekspresji CD40L. Stąd wniosek, że kinazy białkowe zależne od cAMP i cGMP mają zdolność regulowania ekspresji cząsteczki CD40L na powierzchni aktywowanych płytek krwi i zapobiegają zarówno inicjacji, jak i rozwojowi procesów zapalnych związanych z interakcją płytkowego liganda CD40L z leukocytami i komórkami śródbłonna [6, 10].

Wykazano także, że ekspresja płytkowego CD40L podlega regulacji zależnej od mobilizowania wewnętrznych zasobów Ca^{2+} i aktywacji białkowej kinazy C [6].

Ostatnie doniesienia Pignatelli i wsp. [11] wskazują natomiast na bezpośrednie powiązanie aktywacji szlaku kwasu arachidonowego i płytkowego szlaku CD40/CD40L. Kaskada kwasu arachidonowego, uruchamiana podczas aktywacji płytek wywołanej silnym agonistą (trombina, kolagen), jest ważnym szlakiem metabolicznym, któremu towarzyszy powstawanie wolnych rodników, w tym anionorodnika ponadtlenkowego (O_2^-) mogącego odgrywać kluczową rolę w mobilizowaniu cząsteczek CD40L na powierzchni płytek. Wykazano bowiem, że inhibitor fosfolipazy A_2 (PLA_2), która razem z lipazą DAG uwalnia kwas arachidonowy z fosfolipidów błony płytkowej, silnie hamuje uwalnianie cząsteczek CD40L z cytoplazmy i ich ekspresję na powierzchni płytek krwi aktywowanych trombiną lub kolagenem [1, 6].

Oddziaływania międzykomórkowe poprzez płytkowe białka CD40/CD40L

Dzięki obecności cząsteczek CD40L na powierzchni pobudzonych płytek krwi płytki wchodzi w interakcję z leukocytami oraz komórkami śródbłonna, uczestnicząc w rozwoju reakcji zapalnych [12].

Związany z błoną płytkową ligand CD40L wywiera prozapalny wpływ na komórki śródbłonna (w przeciwieństwie do jego formy rozpuszczalnej sCD40L), prowadząc do wydzielania ze śródbłonna monocytowego białka chemotaktycznego (*monocyte chemotactic protein* – MCP-1) i IL-8 – działających chemotaktycznie na neutrofile i monocyty. Aktywacji komórek śródbłonna towarzyszy adhezja płytek krwi oraz diapedeza i gromadzenie się w błonie wewnętrznej naczynia monocytów, makrofagów i limfocytów T [12, 13]. Ponadto związana z błoną płytkową cząsteczka CD40L powoduje sekrecję chemokin z leukocytów: IL-8, RANTES, MCP-1 i MIP-1 α [14]. Pobudzenie w warunkach *in vitro* szlaku CD40/CD40L w komórkach śródbłonna, monocytach oraz komórkach mięśni gładkich powoduje nasilenie syntezy cytokin aterogennych, takich jak: IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α , oraz czynników wzrostu [15].

Podczas przyłączania płytkowego liganda CD40L do śródbłonna naczyń krwionośnych dochodzi do ekspresji cząsteczek adhezyjnych, takich jak: selektyna E, cząsteczka adhezyjna naczyń krwionośnych (*vascular cell adhesion molecule* – VCAM-1) oraz cząsteczka międzykomórkowego białka adhezyjnego (*intercellular adhesion molecule-1* – ICAM-1). Zwiększona zostaje również

ich aktywność proteolityczna, w wyniku której wzmagają się wydzielanie metaloproteinaz (MMPs: 1, 2 i 9), tj. enzymów degradujących białka macierzy [16].

W przypadku oddziaływania z limfocytami powierzchniowa ekspresja cząsteczek CD40 oraz interakcja pomiędzy CD40 i CD40L odgrywają istotną rolę w promowaniu wytwarzania przeciwciał przez limfocyty B oraz regulują interakcję pomiędzy komórką prezentującą antygen (*antigen presenting cell* – APC) i limfocytym T, a ponadto uczestniczy w szeregu kolejnych etapów rozwijającego się zapalenia. Jest niezwykle istotna w szlakach transdukcji sygnału towarzyszących proliferacji i różnicowaniu limfocytów B zależnych od T [17].

Istotną rolę cząsteczek CD40 jest ich udział w przekazywaniu sygnałów apoptotycznych oraz w wygaszaniu odpowiedzi odpornościowej i unieczynnianiu komórek autoreaktywnych, co zapewnia kontrolę odpowiedzi odpornościowej [18].

Płytki krwi poprzez cząsteczkę CD40L powodują dojrzewanie komórek dendrytycznych, będących komórkami prezentującymi antygen, podobnie jak limfocyty B i makrofagi, indukując w ten sposób produkcję IL-12 [19].

Obecność cząsteczki CD40L na powierzchni płytek umożliwia także przełączanie klasy wytwarzanych przeciwciał z IgM/IgD na przeciwciała IgG, powodując znaczny wzrost ich produkcji w przypadku zmniejszenia liczby limfocytów T CD4+ [17].

W zaburzeniu interakcji CD40/CD40L upatruje się czynnik patogenetyczny rozwoju wielu schorzeń, np. reumatoidalnego zapalenia stawów, cukrzycy, miażdżycy, tocznia trzewnego [20].

Rola płytkowego szlaku CD40/CD40L w patogenezie chorób

W wielu stanach patologicznych, m.in. w miażdżycy, cukrzycy, chorobach nowotworowych, a także w stanach zapalnych obserwuje się wzmożoną aktywację płytek krwi, w którą zaangażowany jest prozapalny i prozakrzepowy szlak CD40/CD40L. Płytkowy szlak CD40/CD40L, warunkujący funkcje zapalne i immunoregulacyjne tych komórek, pozwolił zaliczyć płytki krwi do grona kluczowych mediatorów biorących udział w wielu procesach chorobowych [6].

Jego pobudzenie prowadzi do wytwarzania cytokin, chemokin, białek adhezyjnych, czynników wzrostu, metaloproteaz, wolnych rodników tlenowych i innych mediatorów odczynu zapalnego [18]. Ekspresja cząsteczek CD40L amplifikuje odpowiedź immunologiczną poprzez aktywację komórek ekspozujących na powierzchni cząsteczkę CD40, takich jak: monocyty, limfocyty B i T oraz płytki krwi [6]. Wielofunkcyjna cząsteczka CD40L jest uznana za kluczowy płytkowy mediator stanu zapalnego, który uczestniczy w przekazywaniu sygnałów zarówno inicjujących, jak i wzmagających przebieg procesu miażdżycowego [14]. Henn i wsp. [6] dostarczyli

dowodów na funkcjonalny udział cząsteczki CD40L w stanach zapalnych naczyń krwionośnych. Pierwszym etapem rozwoju miażdżycy jest dysfunkcja komórek śródbłonna, zachodząca pod wpływem chemokin i cząstek adhezyjnych wytwarzanych podczas pobudzenia szlaku CD40/CD40L. Płytkowy szlak CD40/CD40L uczestniczy w powikłaniach zakrzepowych na różnych etapach procesu miażdżycowego, a w wyniku aktywacji metaloproteaz prowadzi do zmian stabilizacyjnych blaszek miażdżycowych [21]. Działanie prozapalne płytkowej cząsteczki CD40L zostało wykazane także przez Urbicha i wsp., którzy donieśli, że podczas pobudzenia przez ten ligand śródbłonkowych receptorów CD40 dochodzi do wzrostu wolnych rodników tlenowych, co powoduje zahamowanie migracji komórek śródbłonna i utrudnia uruchomienie procesów naprawy zmian miażdżycowych [22]. Badania *in vitro* przeprowadzone przez May i wsp. symulujące interakcję płytek krwi ze śródbłonkiem w warunkach *in vivo* wykazały, iż adhezja płytek z udziałem receptora integrynowego $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GPIIb/IIIa) reguluje stężenie antygeny CD40L [6].

CD40L jest ligandem dla receptorów $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GP IIb/IIIa), przez co ułatwia stabilizację czopu płytkowego. W wyniku stabilnej adhezji płytek krwi do śródbłonna, zachodzącej przy udziale receptora $\alpha_{IIb}\beta_3$, dochodzi do uwalniania z powierzchni płytek rozpuszczalnej formy sCD40L, która autokrynnie wzmacnia aktywację płytek, powoduje wiązanie fibrynogenu do zmienionego konformacyjnie aktywnego receptora $\alpha_{IIb}\beta_3$ oraz uwalnianie płytkowych mikropecherzyków. Interakcja cząsteczki sCD40L z glikoproteiną $\alpha_{IIb}\beta_3$ sprzyja zatem stabilizacji utworzonego skrzepu oraz powstających złogów miażdżycowych [9]. Wysoka pobudliwość towarzysząca funkcjonowaniu płytek krwi jest skorelowana z działaniem ogromnej liczby receptorów powierzchniowych sprzężonych z enzymatycznymi łańcuchami przekazywania sygnałów, wśród których kluczową rolę odgrywa płytkowa integryna $\alpha_{IIb}\beta_3$ [23, 24]. Agregacja płytek krwi uwarunkowana jest zmianą konformacji tego receptora, która jest efektem przekazywania sygnału z wnętrza komórki na jej powierzchnię [1, 7]. Dochodzi wówczas do rozpoznania przez integrynę $\alpha_{IIb}\beta_3$ specyficznych sekwencji aminokwasowych obecnych w cząsteczce fibrynogenu, który przyłączając się do receptorów $\alpha_{IIb}\beta_3$, łączy ze sobą sąsiadujące płytki krwi, tworząc usieciowane agregaty płytkowe [25]. Z receptorami integrynowymi łączy się nie tylko fibrynogen pochodzący z osocza, ale również endogenne fibrynogen płytkowy uwalniany w czasie sekrecji z α -ziarnistości [7]. Cząsteczka CD40 występująca w obrębie blaszki miażdżycowej na komórkach śródbłonna, komórkach prezentujących antygen (APC), komórkach mięśni gładkich naczyń i płytkach krwi, na skutek oddziaływania z ligandem CD40L, indukuje sygnał aktywacji dla licznych czynników transkrypcyjnych, m.in. NF- κ B, aktywatora białek 1 (*activator protein 1* – AP-1), przekaźnika sygnału i aktywatora transkrypcji (*signal transducer and activator of transcription* – STAT-1). W wyniku tego na powierzchni komórek śródbłonna dochodzi do eks-

presji cząstek adhezyjnych i czynnika tkankowego, dzięki czemu nabywają one nowych właściwości prozapalnych i promiażdżycowych. Spowolnienie procesu miażdżycowego można uzyskać, hamując oddziaływania komórkowe wywołane przez szlak CD40/CD40L [20]. Wyjaśnienie tego zjawiska wzajemnych interakcji komórkowych z udziałem szlaku CD40/CD40L pozwala przypuszczać, że zahamowanie tej drogi stwarza nowe możliwości interwencji terapeutycznej.

Zarówno w cukrzycy, jak i w hipercholesterolemii dochodzi do zwiększonej aktywacji płytek krwi oraz związanej z tym wzmożonej syntezy chemokin, cytokin i białek adhezyjnych. W przypadku hipercholesterolemii ekspresja płytkowych markerów aktywacji: P-selektyny i CD40L uzależniona jest od zawartości cholesterolu frakcji LDL, a zawartość sCD40L jest tym większa, im mniejsza jest zawartość cholesterolu frakcji HDL [5].

Harding i wsp. wykazali, że cukrzyca typu 1 jest związana ze wzrostem ekspresji płytkowego antygeny CD40L oraz z tworzeniem agregatów płytkowo-monocytnych, co przyczynia się do powstawania zmian prozapalnych i prozakrzepowych oraz prowadzi do przyspieszonego procesu miażdżycowego. Zarówno w cukrzycy typu 1, jak i w cukrzycy typu 2 obserwuje się znacznie zwiększony poziom ekspresji cząsteczek CD40L oraz cząsteczek CD40 na powierzchni płytek krwi, w porównaniu z osobami zdrowymi [6]. Ponadto w cukrzycy typu 2, w wyniku aktywacji płytek krwi, wyraźnie zwiększa się stężenie rozpuszczalnej frakcji sCD40L, które jest zależne od ilości osocznego czynnika inhibitora aktywatora plazminogenu 1 (*plasminogen activator inhibitor-1* – PAI-1) [5].

Zwiększoną ekspresję zarówno płytkowego receptora CD40, ligandu CD40L, jak i cząsteczki frakcji rozpuszczalnej sCD40L obserwuje się u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym [26].

Również wzrost ekspozycji receptorów CD40 na powierzchni monocytów i płytek krwi wywołany dymem tytoniowym nasila tworzenie agregatów płytkowo-monocytnych u palaczy, zwiększając u nich ryzyko zmian zapalno-zakrzepowych.

W zaburzeniu płytkowego szlaku CD40/CD40L upatruje się czynnika patogenego, uczestniczącego w rozwoju jeszcze wielu innych schorzeń, m.in. takich jak: choroba Leśniowskiego-Crohna, wrzodziejące zapalenie jelita grubego, zapalenie tętnic w chorobie Kawasaki, toczeń trzewny oraz reumatoidalne zapalenie stawów [20].

Monitorowanie nieprawidłowego funkcjonowania szlaku CD40/CD40L może stać się w przyszłości skutecznym markerem oceny ryzyka powikłań zatorowo-zakrzepowych w wielu stanach patologicznych oraz w warunkach zwiększonej podatności na zaburzenia hemostazy, np. w okresie menopauzy.

Piśmiennictwo

1. Sikora J, Kostka B. Struktura i aktywacja płytek krwi oraz ich zastosowanie jako komórek modelowych. *Post Biol Kom* 2005; 232: 561-70.

2. Saluk-Juszczak J. Znaczenie lipopolisacharydu bakteryjnego w procesie aktywacji płytek krwi. *Post Biol Kom* 2007; 34: 159-72.
3. Olas B, Wachowicz B. Rola reaktywnych form tlenu w płytkach krwi. *Post Biol Kom* 2003; 30: 325-37.
4. Lazarus AH, Song S, Crow AR. Understanding platelet function through signal transduction. *Transfus Med Rev* 2003; 17: 45-56.
5. Lim HS, Blann AD, Lip GY. Soluble CD40 ligand, soluble P-selectin, interleukin-6, and tissue factor in diabetes mellitus: relationships to cardiovascular disease and risk factor intervention. *Circulation* 2004; 109: 2524-8.
6. Danese S, Fiocchi C. Platelet activation and the CD40/CD40 ligand pathway: mechanisms and implications for human disease. *Crit Rev Immunol* 2005; 25: 103-21.
7. Zieliński T, Wachowicz B. Proces sekrecji w płytkach krwi. *Post Biochem* 2003; 49: 175-84.
8. Remick DG. Pathophysiology of sepsis. *Am J Pathol* 2007; 170: 1435-44.
9. Yan JC, Wu ZG, Kong XT, et al. Relation between upregulation of CD40 system and complex stenosis morphology in patients with acute coronary syndrome. *Acta Pharmacol Sin* 2004; 25: 251-6.
10. Schwarz UR, Kobsar AL, Kokschi M, et al. Inhibition of agonist-induced p42 and p38 mitogen-activated protein kinase phosphorylation and CD40 ligand/P-selectin expression by cyclic nucleotide-regulated pathways in human platelets. *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 1399-407.
11. Pignatelli P, Sanguigni V, Lenti L, et al. gp91phox-dependent expression of platelet CD40 ligand. *Circulation* 2004; 110: 1326-9.
12. Grewal IS, Flavell RA. CD40 and CD154 in cell-mediated immunity. *Annu Rev Immunol* 1998; 16: 111-35.
13. Kralisz U. Oddziaływania płytek krwi z komórkami śródbłonna w stanach zapalnych. Część I. Receptory adhezyjne płytek krwi, komórek śródbłonna i mikropęcherzyków w hemostazie i stanach zapalnych. *Post Biol Kom* 2008; 35: 3-13.
14. André P, Nannizzi-Alaimo L, Prasad SK, et al. Platelet-derived CD40L: the switch-hitting player of cardiovascular disease. *Circulation* 2002; 106: 896-9.
15. Wasilewski J, Poloński L. Rola układu CD40/CD40L w patogenezie procesu miażdżycowego. *Folia Cardiolog Exc* 2006; 1: 10-19.
16. Kralisz U. Oddziaływania płytek krwi z komórkami śródbłonna w stanach zapalnych. Część II. Substancje uwalniane z płytek krwi – szlaki regulujące przewodzenie sygnału w komórkach śródbłonna w stanach zapalnych. *Post Biol Kom* 2008; 35: 61-78.
17. Renshaw BR, Fanslow WC 3rd, Armitage RJ, et al. Humoral immune responses in CD40 ligand-deficient mice. *J Exp Med* 1994; 180: 1889-900.
18. Mach F, Schönbeck U, Bonnefoy JY, et al. Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atheroma complication by ligation of CD40: induction of collagenase, stromelysin, and tissue factor. *Circulation* 1997; 96: 396-9.
19. Ważna E. Płytki krwi jako regulatory procesów odpornościowych. *Post Hig Med Dośw* 2006; 60: 265-77.
20. Danese S, Katz JA, Saibeni S, et al. Activated platelets are the source of elevated levels of soluble CD40 ligand in the circulation of inflammatory bowel disease patients. *Gut* 2003; 52: 1435-41.
21. Slupsky JR, Kalbas M, Willuweit A, et al. Activated platelets induce tissue factor expression on human umbilical vein endothelial cells by ligation of CD40. *Thromb Haemost* 1998; 80: 1008-14.
22. Urbich C, Dernbach E, Aicher A, et al. CD40 ligand inhibits endothelial cell migration by increasing production of endothelial reactive oxygen species. *Circulation* 2002; 106: 981-6.
23. Ma YQ, Qin J, Plow EF. Platelet integrin alpha(IIb)beta(3): activation mechanisms. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1345-52.
24. Bennett JS. Structure and function of the platelet integrin alphaIIb beta3. *J Clin Invest* 2005; 115: 3363-9.
25. Czokoła-Plichta M. Patofizjologia. Maśliński S, Ryżewski J (red.). Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2007; 522-77.
26. Yan JC, Ma GS, Wu ZG, et al. Increased levels of CD40-CD40 ligand system in patients with essential hypertension. *Clin Chim Acta* 2005; 355: 191-6.