

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

## *The role of CD40/CD40L pathway in the biological activity of blood platelets: part I*

Joanna Saluk-Juszczak, Karolina Królewska

Katedra Biochemii Ogólnej, Uniwersytet Łódzki  
kierownik Katedry: prof. dr hab. n. biol. Barbara Wachowicz

Przeгляд Menopauzalny 2010; 5: 305–308

### Streszczenie

Podstawową funkcją płytek krwi jest ich udział w utrzymywaniu prawidłowej hemostazy, jednak w świetle ostatnich badań, dotyczących ich biologicznej aktywności, płytki stanowią kluczowe ogniwo łączące procesy hemostazy z rozwojem reakcji zapalnych. 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. Dzięki obecności ogromnej ilości specyficznych receptorów błonowych płytki krwi łatwo ulegają aktywacji, gdyż są wrażliwe na działanie wielu fizjologicznych i nefizjologicznych agonistów. Uwalniane w procesie sekrecji z pobudzonych płytek krwi substancje biologicznie czynne uczestniczą w ich interakcji z komórkami układu immunologicznego, wzmagając rozwój reakcji zapalnych. Zahamowanie szlaku CD40/CD40L, uczestniczącego w aktywacji płytek krwi w procesach patologicznych lub stanach podwyższonego ryzyka zatorowo-zakrzepowego, 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. 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. Platelets are responding to a large number of physiologically important compounds because they possess a number of specific membrane receptors. The biological activity substances secreted from activated platelets are important factors of inflammatory reactions and increase platelet interaction with immunological cells. The inhibition of CD40/CD40L pathway, involved in blood platelet activation in many pathological processes, may provide an alternative treatment for various diseases in the future.

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

### Ogólna charakterystyka płytek krwi

Płytki krwi są najmniejszymi i beźjadrzastymi elementami morfotycznymi krwi o średnicy 2–4  $\mu\text{m}$  i objętości 5–7,5  $\mu\text{m}^3$ , powstającymi z rozpadu megakariocytu. W warunkach fizjologicznych ok. 2/3 z całkowitej liczby płytek krąży we krwi, pozostała część zlokalizowana jest w śledzionie. Jeśli płytki nie są zaangażowane w proces hemostazy, ich czas życia w krwiobiegu wynosi 9–12 dni; następnie są wychwytywane przez

komórki układu fagocytarnego obecne głównie w śledzionie. Pomimo braku jądra komórkowego płytki krwi wykazują aktywny metabolizm i mają typowe organelle komórkowe oraz charakterystyczny układ specyficznych ziarnistości cytoplazmatycznych [1]. Swoisty układ ziarnistości jest miejscem magazynowania wielu biologicznie czynnych substancji, co warunkuje uwalnianie z pobudzonych płytek krwi szeregu aktywnych związków, które indukują i/lub wzmagają procesy aktywacji. W ziarnistościach  $\alpha$  zgromadzone są liczne białka

Adres do korespondencji:

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

adhezyjne, białka biorące udział w procesach krzepnięcia i fibrynolizy, a także czynniki chemotaktyczne oraz czynniki wzrostu. Ziarnistości osmofilne są zaś głównie źródłem związków niskocząsteczkowych. W tabeli I zestawiono związki znajdujące się wewnątrz płytkowych ziarnistości [2]. W procesie aktywacji płytek, w wyniku reorganizacji cytoszkieletu, dochodzi do zmiany dyskooidalnego kształtu komórek na sferyczny, a następnie do wytwarzania filopodiów i lamellipodiów, których tworzenie jest uwarunkowane reorganizacją cytoszkieletu płytek. Aktywacja płytek krwi prowadzi następnie do adhezji i sekrecji związków zmagazynowanych w płytkowych ziarnistościach [3].

### Rola płytek w okołomenopauzalnych zaburzeniach w układzie krążenia

Okres menopauzy związany jest z ryzykiem zaburzeń w hemostazie organizmu kobiety, czego konsekwencją jest wzrost zachorowalności na schorzenia układu krążenia [4]. Prawidłowa (fizjologiczna) hemostaza to stan dynamicznej równowagi pomiędzy procesami pro- i antykoagulacyjnymi, w którym uczestniczy zespół mechanizmów zapobiegających wyływowi krwi z uszkodzonych naczyń krwionośnych oraz zapewniających jej płynność i przepływ w warunkach prawidłowych. W złożonym procesie hemostazy uczestniczy szereg elementów, w tym: ściana naczyń krwionośnych, płytki krwi, układ krzepnięcia i układ fibrynolizy oraz komórki fagocytarne (układ siateczkowo-śródbłonkowy). Jednym z podstawowych czynników ryzyka powikłań zakrzepowo-zatorowych jest nieprawidłowe funkcjonowanie płytek krwi [5]. Dodatkowe zagrożenie stanowi fakt, że

stosowanie terapii hormonalnej w okresie menopauzy może wykazywać istotny wpływ na właściwości i funkcjonowanie tych komórek [4]. Płytki krwi odgrywają istotną rolę nie tylko w hemostazie pierwotnej prowadzącej do wytworzenia płytkowego czopu hemostatycznego oraz w hemostazie wtórnej, uczestnicząc w aktywacji osoczowych czynników krzepnięcia, ale także biorą czynny udział w stanach zapalnych, zmianach miażdżycowych ściany naczynia, metastazie komórek nowotworowych czy gojeniu ran [5].

U kobiet w okresie okołomenopauzalnym rośnie ryzyko powikłań zakrzepowo-zatorowych związanych z deficytem hormonalnym na skutek wygaśnięcia czynności jajników [6] oraz zwiększa się prawdopodobieństwo zmian miażdżycowych nasilających się z wiekiem [5]. Istotne obniżenie całkowitego potencjału antyoksydacyjnego kobiet w okresie menopauzy, w porównaniu z kobietami w wieku rozrodczym, prowadzi do zmian degeneracyjnych w ścianie naczyń krwionośnych poprzez dysfunkcję śródbłonka, inaktywację tlenku azotu (NO) pełniącego ochronną funkcję wazodylatora i w konsekwencji rozwój reakcji zapalnych [7]. Do rozwoju zmian miażdżycowych dochodzi na skutek przewlekłego stanu zapalnego ścian tętnic, związanego z aktywacją komórek śródbłonka, która prowadzi do adhezji leukocytów i płytek krwi do pobudzonych komórek endotelialnych [8]. Udział płytek krwi zarówno w procesach fizjologicznych, jak i w stanach patologicznych zależy od ich aktywacji. Wiedza na temat aktywacji płytek krwi jest zatem niezwykle istotna w kontekście wdrażania i prowadzenia właściwej terapii w przebiegu wielu chorób, a jej stan, pomimo znacznego zaawansowania, wciąż jest na bieżąco aktualizowany. Stosunkowo dobrze opisany proces aktywacji płytek krwi obejmuje zarówno czynniki aktywujące udział receptorów błonowych, jak i szlaki przekazywania sygnału oraz konsekwencje pobudzenia płytek. Najnowsze doniesienia dotyczą roli szlaku CD40/CD40L w aktywacji płytek krwi oraz ich interakcji z pozostałymi elementami uczestniczącymi w procesach hemostazy.

### Płytki krwi jako komórki zapalne

Płytki krwi należą do komórek wysoce reaktywnych, które są wrażliwe na działanie wielu fizjologicznych i nefizjologicznych agonistów. Łatwość ich aktywacji jest uwarunkowana ogromną liczbą swoistych receptorów powierzchniowych, które są sprzężone z enzymatycznymi drogami przekazywania sygnałów. Dzięki obecności specyficznych receptorów błonowych zapoczątkowujących łańcuch przekazywania sygnału, płytki krwi zostają włączone w kaskadę złożonych mechanizmów molekularnych, uczestnicząc w procesach biochemicznych, mających na celu zahamowanie krwawienia [9]. Podstawową funkcją płytek krwi jest ich udział w utrzymywaniu prawidłowej hemostazy [5]. Jednak

Tab. I. Związki znajdujące się wewnątrz płytkowych ziarnistości

Typ ziarnistości	Magazynowane związki
ziarnistości α	<b>białka adhezyjne:</b> trombospondyna (TSP), czynnik von Willebranda (vWF), witronektyna, fibronektyna (Fn) <b>białka układu hemostazy:</b> fibrynogen, czynniki V, VII, XI, XII, kininogen, PAI-1, plazminogen, białko S <b>czynniki chemotaktyczne:</b> RANTES, NAP-2, onkogen Groα, białko nabłonka ENA78, czynnik płytkowy 4 (PF4) <b>czynniki wzrostu:</b> TGF-α, TGF-β, EGF, PDGF, bFGF, T-LIGHT <b>cytokiny:</b> interleukina 1β, CD40L, β-tromboglobulina <b>inne:</b> albumina, inhibitory proteaz, transferyna <b>w błonie ziarnistości:</b> selektyna P (CD62)
ziarnistości osmofilne	ADP, ATP, GDP, GTP, serotonina, histamina, fosfoinozotole, jony wapnia i magnezu
lizosomy	kwaśne hydrolazy
peroksosomy	katalaza

w świetle wielu przeprowadzonych w ostatnich latach badań, dotyczących ich biologicznej aktywności, płytki krwi stanowią kluczowe ogniwo łączące procesy hemostazy z rozwojem reakcji zapalnych [10, 11].

Odkrycie płytkowej ekspresji cząsteczki CD40 oraz jej liganda – cząsteczki CD40L – stanowi potwierdzenie zdolności płytek krwi do udziału w procesach odpornościowych i stanach zapalnych poza dotychczas znaną ich zasadniczą rolę w utrzymywaniu prawidłowej hemostazy [12]. Płytki zostały uznane za komórki zapalne ze względu na fakt, iż mają zdolność do uwalniania (pochodzących z megakariocytów) cytokin, chemokin, białek adhezyjnych, czynników wzrostu, metaloproteaz, a także do wytwarzania wolnych rodników tlenowych oraz innych mediatorów odczynu zapalnego [13]. Uwalniane z płytek czynniki chemotaktyczne i czynniki wzrostu odgrywają główną rolę w ich integracji z innymi komórkami, głównie takimi, jak granulocyty obojętne, monocyty, makrofagi czy fibroblasty. Ważną rolę płytek krwi jest także ich udział w szybkim przekazywaniu sygnału do wnętrza podstawowych komórek układu immunologicznego. Przy zmniejszonej liczbie limfocytów T i B płytki krwi, przejmując ich funkcje, odpowiedzialne są za wzbudzenie silnej odpowiedzi humoralnej poprzez szybkie przekazywanie sygnału do wnętrza komórki [1, 11, 14].

Zapalenie jest złożonym procesem, rozwijającym się w tkance unaczynionej pod wpływem czynnika uszkodzającego. Podstawowym celem reakcji zapalnych jest szybkie i selektywne zgromadzenie komórek zdolnych do usunięcia danego czynnika szkodliwego i rozpoczęcie naprawy powstałego uszkodzenia [10].

Płytki krwi stanowią jeden z głównych czynników zapalenia, w związku z czym narażone są na działanie wielu związków znajdujących się w krążeniu, powodujących zmiany w naczyniach krwionośnych. Czynniki niefizjologiczne, takie jak bakterie, wirusy, komórki nowotworowe czy toksyny, odpowiedzialne są za aktywację płytek krwi w stanach zapalnych, kiedy dochodzi do adhezji, sekrecji i agregacji pobudzonych komórek [11, 15]. W wyniku działania tych czynników następuje sekrecja cytokin zapalnych znajdujących się w ziarnistościach płytkowych, m.in. takich, jak: RANTES (*regulated upon activation normal T cell expressed and secreted* – chemokina ulegająca ekspresji i sekrecji po aktywacji limfocytów T), interleukina 1 (*interleukin-1* – IL-1), płytkowy czynnik 4 (*platelet factor-4* – PF-4), czynników wzrostu: PDGF (*platelet derived growth factor*) i TGF- $\beta$  (*transforming growth factor  $\beta$* ) oraz  $\beta$ TG ( *$\beta$  thromboglobulin* –  $\beta$ -tromboglobulina), a także biologicznie czynnych amin (histaminy i serotoniny) powodujących skurcz naczyń krwionośnych oraz czynnika aktywującego płytki krwi – PAF (*platelet activating factor*) [2, 16]. Uwalniana przez płytki krwi chemokina RANTES może wiązać się ze zmienionymi w wyniku zapalenia komórkami śródbłonna, powodując ich aktywację, w wyniku czego

dochodzi do przylegania leukocytów, przez co powstaje połączenie pomiędzy ścianą naczynia a komórkami krwi obwodowej [8, 17]. Zaktywowane płytki krwi produkują ponadto interleukinę 1 $\beta$ , która łącznie z RANTES stymuluje komórki śródbłonna do syntezy selektyny E i IL-8, umożliwiających adhezję neutrofilów do tych komórek. Pod wpływem RANTES i selektyny P indukowana jest także synteza białek prozapalnych w monocytach, głównie MCP-1 (*monocyte chemotactic protein* – monocytowe białko chemotaktyczne), IL-8, MIP-1 $\alpha$  (*macrophage inflammatory protein* – makrofagowe białko zapalne 1 $\alpha$ ) oraz TNF- $\alpha$  (*tumor necrosis factor- $\alpha$*  – czynnik martwicy nowotworu) [13, 16].

Znacząca rola pobudzonych płytek krwi w procesie zapalnym wiąże się bezpośrednio z ich zdolnościami adhezyjnymi do zmienionych zapalnie komórek śródbłonna lub białkowych składników warstwy podśródbłonkowej naczyń krwionośnych oraz z tendencją do tworzenia agregatów płytek z leukocytami, w czym uczestniczą białka uwalniane w wyniku degranulacji zaktywowanych płytek krwi [18, 19]. Liczba agregatów w krwi obwodowej zdrowych osób jest niewielka, natomiast do jej znaczącego wzrostu dochodzi w stanach patologicznych, m.in. reumatoidalnym zapaleniu stawów, ostrych zespołach wieńcowych, w toczniu rumieniowatym oraz w sepsie, a także u palaczy, u osób po zabiegach kardiochirurgicznych oraz podczas wzmożonego wysiłku fizycznego [20, 21]. Płytki krwi w pierwszej fazie zapalenia, w wyniku stymulacji poprzez odkładanie się kompleksów immunologicznych antygen–przeciwciało i składników dopełniacza (ulegających aktywacji w następnej fazie zapalenia), powodują wydzielanie mediatorów zapalnych nasilających proces gromadzenia się kompleksów immunologicznych w tkankach, prowadzący w efekcie do ich uszkodzenia i dysfunkcji [11, 22, 23].

### Charakterystyka cząsteczek CD40 i CD40L

Istnieje szereg doniesień dotyczących biologicznego znaczenia szlaku CD40/CD40L i jego kluczowej roli w klinicznym i terapeutycznym przebiegu chorób [12, 24].

Cząsteczka CD40, będąca pierwszym komponentem szlaku CD40/CD40L, została funkcjonalnie rozpoznana na powierzchni limfocytów B (jej oryginalna nazwa to Bp50) jako antygen, którego poziom ekspresji zależy od stopnia aktywacji komórek. Obecnie glikoproteina określona jako CD40, o wielkości 45-50 kDa, zaliczona została do I typu transbłonowych białek należących do nadrodziny receptora TNF, wykazujących wysoki stopień homologii z sekwencją tego receptora [12]. Poza limfocytami B cząsteczka CD40 obecna jest również na powierzchni innych komórek immunologicznych, tj. monocytów, makrofagów, komórek dendrytycznych (DCs), a także na powierzchni komórek nieimmunologicznych, tj. komórek śródbłonna, nabłonkowych i mezenchymalnych (fibroblasty). Ekspresja cząsteczek CD40 została

również potwierdzona na powierzchni płytek krwi. Przy tym istotne znaczenie ma fakt, że konstytutywną obecność tego antygeny wykazano zarówno w błonie plazmatycznej płytek spoczynkowych, jak i pobudzonych w wyniku ich aktywacji [12, 25].

Ligand cząsteczki CD40 to białko CD40L o masie 39 kDa, należące do II typu transbłonowych białek z nadrodziny białek TNF-podobnych. W przeciwieństwie do cząsteczki CD40 jej ligand – CD40L (CD154) – nie jest obecny na powierzchni niepobudzonych płytek krwi, gdyż znajduje się we wnętrzu komórek, ulegając ekspresji powierzchniowej dopiero w momencie ich aktywacji. Obecna w ziarnistościach  $\alpha$  spoczynkowych płytek krwi cząsteczka CD40L ulega translokacji na powierzchnię komórek w wyniku działania fizjologicznych agonistów, takich jak: ADP, trombina lub kolagen. Po wyeksponowaniu cząsteczki CD40L dochodzi do proteolitycznego odszczepienia liganda od powierzchni komórki. Cząsteczka CD40L zostaje rozprowadzana w krwiobiegu w biologicznie aktywnej formie rozpuszczalnej jako sCD40L będąca homotrimerycznym białkiem o masie 18 kDa [12, 26].

Głównym źródłem liganda CD40L i jego rozpuszczalnej formy sCD40L są płytki krwi ( $1 \times 10^8$  płytek zawiera ok. 2,5 ng CD40L) [27]. Cząsteczka sCD40L, podobnie jak płytkowa selektyna P, uznawana jest za typowy marker aktywacji płytek [27, 28]. Płytkowa sCD40L stanowi ok. 95% całej puli cząsteczek sCD40L obecnej we krwi obwodowej zarówno w stanach fizjologicznych, jak i chorobowych. Pozostałe 5% występuje na powierzchni aktywowanych limfocytów T (CD4+), komórek tucznych, a także limfocytów B, monocytów, komórek NK (*natural killer*) oraz limfocytów T (CD 8+) i bazofilii [12, 26].

Obie cząsteczki szlaku CD40/CD40L należą do jednych z najważniejszych par tzw. cząsteczek kostymulujących. Oznacza to, iż samodzielnie nie pełnią określonej funkcji biologicznej, ale wchodząc w skład synapsy immunologicznej, umożliwiają połączenie między komórkami zaangażowanymi w tworzenie stanu zapalnego [27]. Funkcjonowanie przekaźnikowego układu CD40/CD40L polega na interakcji pomiędzy płytkowym receptorem CD40 i jego ligandem CD40L, która wymaga ich bezpośredniego związania na powierzchni płytki. Połączenie cząsteczek CD40 i CD40L jest niezwykle ważne w inicjowaniu swoistej odpowiedzi odpornościowej, ponieważ pełni istotną funkcję komunikacyjną i sygnałową pomiędzy komórkami. Wiązanie to pobudza syntezę cząstek adhezyjnych, chemokin, cytokin, czynników tkankowych, reaktywnych form tlenu, licznych metaloproteaz, czynników wzrostu i innych mediatorów stanu zapalnego [12, 29].

## Piśmiennictwo

- Sikora J, Kostka B. Struktura i aktywacja płytek krwi oraz ich zastosowanie jako komórek modelowych. *Post Biol Kom* 2005; 232: 561-70.
- Zieliński T, Wachowicz B. Proces sekrecji w płytkach krwi. *Post Biochem* 2003; 49: 175-84.
- Varga-Szabo D, Pleines I, Nieswandt B. Cell adhesion mechanisms in platelets. *Arter Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 403-12.
- Stachowiak G, Zając A, Pertyński T. Hemostaza płytkowa w okresie menopauzy. *Przeł Menopauz* 2008; 4: 205-9.
- Nowak P, Olas B, Wachowicz B. Stres oksydacyjny w przebiegu hemostazy. *Post Biochem* 2010; praca przyjęta do druku.
- Stetkiewicz T, Potać I, Jędrzejczyk S i wsp. Antyoksydacyjne działanie estrogenów. *Przeł Menopauz* 2003; 2: 19-22.
- Stetkiewicz T, Stachowiak G, Pakalski A i wsp. Kontrowersje wokół antyoksydacyjnego działania estrogenów. *Przeł Menopauz* 2006; 6: 343-6.
- Kralisz U. Oddziaływanie płytek krwi z komórkami śródbłonna w stanach zapalnych – część I. Receptory adhezyjne płytek krwi, komórek śródbłonna i mikropecherzyków w hemostazie i stanach zapalnych. *Post Biol Kom* 2008; 35: 45-60.
- Ma YQ, Qin J, Plow EF. Platelet integrin  $\alpha_{IIb}\beta_3$ : activation mechanisms. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1345-52.
- Matthias HS, Klinger W. Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Inter Cyt Res* 2002; 22: 913-22.
- Saluk-Juszczak J. Znaczenie lipopolisachrydu bakteryjnego w procesie aktywacji płytek krwi. *Post Biol Kom* 2007; 34: 159-72.
- Denese S, Fiocchi C. Platelet activation and the CD40/CD40 ligand pathway: mechanisms and implications for human disease. *Critic Rev Immunol* 2005; 25: 103-21.
- Śliwińska-Stańczyk P. Rola płytek krwi w procesach zapalnych. *Reumatologia* 2005; 43: 85-8.
- Ważna E. Platelet-mediated regulation of immunity. *Post Hig Med Dośw* 2006; 60: 265-77.
- Van Gorp ECM, Sucharki C, Dolmans WM. Review: infectious diseases and coagulation disorders. *J Infectious Diseases* 1999; 180: 176-86.
- Weyrich AS, Lindemann S, Zimmerman GA. The evolving role of platelets in inflammation. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1897-905.
- Schober A, Mana D. Deposition of platelet RANTES triggering monocyte recruitment requires P selection and is involved in neointima formation after arterial injury. *Circulation* 2002; 106: 1523-9.
- Klinger MHF, Klüter H. Blood platelets are circulating stores for adhesive proteins, inflammatory mediators, and immunoglobulins – role in nonhemolytic transfusion reactions. *Infusion Therapy and Transfusion Medicine* 2001; 26: 20-5.
- Saluk-Juszczak J, Królewska K, Wachowicz B. Response of blond platelets to  $\beta$ -glucan from *Saccharomyces cerevisiae*. *Platelets* 2010; 1: 37-43.
- Silvio MD, Fiocchi MD. Platelets in inflammatory bowel disease: clinical, pathogenic, and therapeutic implications. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 938-45.
- Remick MD. Pathophysiology of Sepsis. *Am J Pathol* 2007; 170: 1435-44.
- Nagata M. Inflammatory cells and oxygenradicals. *Allergy* 2005; 4: 503-4.
- Kończakowska E. Zapalenie (ostre), jako reakcja korzystna dla organizmu – historia badań a najnowsze osiągnięcia. *Kosmos* 2007; 56: 27-38.
- Wasilewski J, Poloński L. Rola układu CD40/CD40L w patogenezie procesu miażdżycowego. *Folia Cardiolog Exc* 2006; 1: 10-19.
- Schonbeck U, Libby P. CD40 signaling and plaque instability. *Critical Rev Immunol* 2001; 89: 1092-03.
- Herman A, Rauch BH, Braun M. Platelet CD40L ligand (CD40L): subcellular localization, regulation of expression and inhibition by clopidogrel. *Platelets* 2001; 12: 74-82.
- Schonbeck U, Libby P. The CD40/CD154 receptor/ligand dyad. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58: 4-43.
- Viillard JF, Solanilla A, Gauthier B. Increased soluble and platelet-associated CD40 ligand in essential thrombocythemia and reactive thrombocytosis. *Blood* 2002; 99: 2612-4.
- Mach F, Schonbeck U, Bonnefoy JY. 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.