

KAROLINA CIEŚLIK, ELŻBIETA KOŁACZKOWSKA

*Zakład Immunologii Ewolucyjnej
Instytut Zoologii, Uniwersytet Jagielloński
Gronostajowa 9, 30-387 Kraków
E-mail: ela.kolaczowska@uj.edu.pl*

UKŁAD KRZEPNIĘCIA A REAKCJA ZAPALNA

WSTĘP

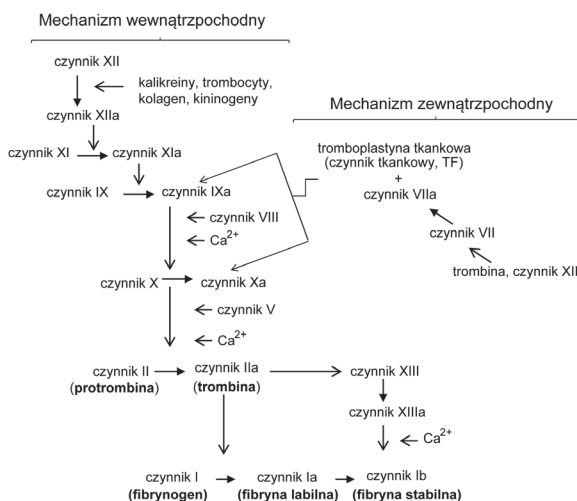
Odpowiedź zapalna jest reakcją organizmu na wtargnięcie patogenów chorobotwórczych (bakterii, wirusów, grzybów) i/lub uszkodzenie tkanek. Temu ostatniemu zjawisku często towarzyszy przerwanie ciągłości ścian naczyń krwionośnych oraz krwawienie. Powoduje to, że istotnym elementem procesu naprawy uszkodzonych tkanek w trakcie

odpowiedzi zapalnej jest proces krzepnięcia krwi (MAJNO i JORIS 2004). Nie jest to jedyna zależność pomiędzy reakcją zapalną a procesem krzepnięcia, gdyż białka uczestniczące w każdym z tych zjawisk biorą także udział w regulacji wzajemnej aktywacji (CHENG i współaut. 2011, DAVALOS i AKASSOGLU 2011, VAN DER POLL i współaut. 2011).

UKŁAD KRZEPNIĘCIA KRWI

W warunkach fizjologicznych istnieje zespół mechanizmów zapobiegających wypływowi krwi z naczyń krwionośnych i zapewniających jej przepływ w układzie krwionośnym określany jako hemostaza. Proces ten dzieli się na kilka etapów (TRA-

CZYK 1989): (i) naczyniowy, w czasie którego dochodzi do skurczu uszkodzonych naczyń krwionośnych w wyniku podrażnienia zakończeń nerwowych i skurczu mięśni gładkich naczyń krwionośnych, (ii) plateletowy, polegający na aktywacji płytek krwi



Ryc. 1. Wewnątrzpochodny i zewnątrzpochodny mechanizm krzepnięcia krwi.

Mechanizm wewnątrzpochodny: aktywacja czynnika XII powoduje kaskadową aktywację kolejnych czynników prowadzącą do przemiany fibrynogenu w fibrynę. Proces ten jest możliwy dzięki wcześniejszemu powstaniu trombiny. Mechanizm zewnątrzpochodny: tromboplastyna w kompleksie z aktywnym czynnikiem VII aktywuje kaskadowo kolejne czynniki krzepnięcia, w wyniku czego, dochodzi do powstania trombiny, a następnie fibryny. → oznacza przejście danego czynnika w formę aktywną. → oznacza aktywność proteazy serynowej (w przypadku czynnika krzepnięcia) lub niezbędną obecność jonów wapnia (TRACZYK 1989; zmodyfikowana).

w pobliżu miejsca uszkodzenia naczynia krwionośnego i ich zmianach morfologicznych, (iii) koagulacji, czyli etap zasadniczy, w czasie którego dochodzi do tworzenia się skrzepu.

Najważniejszym etapem hemostazy jest faza tworzenia się skrzepu, podczas której dochodzi do enzymatycznej przemiany fibrynogenu (czynnika I) w fibrynę (czynnik Ia). Enzymem odpowiedzialnym za przebieg tej przemiany jest trombina (czynnik IIa), która we krwi występuje w postaci nieaktywnej protrombiny (czynnik II) (TRACZYK 1989, CHENG i współaut. 2011). Do aktywacji protrombiny może dojść dwoma sposobami, wewnątrzpochodnym lub zewnątrzpochodnym, które zostały szczegółowo przedstawione na Ryc. 1. Zewnątrzpochodny

mechanizm aktywacji krzepnięcia krwi jest zapoczątkowany przez tromboplastynę tkankową (czynnik tkankowy, ang. tissue factor, TF), wydzielaną do krwi przez komórki uszkodzonych tkanek (TRACZYK 1989, CHENG i współaut. 2011), a szlak wewnątrzpochodny rozpoczyna się w momencie zetknięcia się krwi z powierzchniami o ładunku ujemnym (np. z odsłoniętym kolagenem lub *in vitro* ze szkłem probówki). W warunkach *in vivo* płytki krwi łączą się wówczas z odsłoniętym po uszkodzeniu ściany naczynia kolagenem, a on sam wraz z czynnikami płytkowymi, kalikreinami i kininogenami, powoduje aktywację czynnika XIIa (CHAO i CHAO 2004, MOREAU i współaut. 2005) (Ryc. 1).

UKŁAD PLAZMINOGENU

Celem procesu krzepnięcia jest wytworzenie skrzepu, jednak jego nadmierne formowanie może powodować blokowanie drożności naczyń krwionośnych. Aby temu zapobiec fibryna stabilna ulega enzymatycznemu rozpadowi pod wpływem plazminy należącej do układu plazminogenu (ESMON i współaut. 2004, 2005). Proces ten nazywa się fibrynolizą i rozpoczyna się w momencie przekształcenia się plazminogenu (zymogenu plazminy) w formę aktywną, plazminę, pod wpływem enzymów proteolitycznych, kalikrein oraz niektórych czynników krzepnięcia (TKACHUK i współaut. 2009) (Ryc. 2). Plazminogen jest stale obecny zarówno we krwi, jak i w tkankach organizmu, a jego aktywność proteolityczna jest regulowana przez system

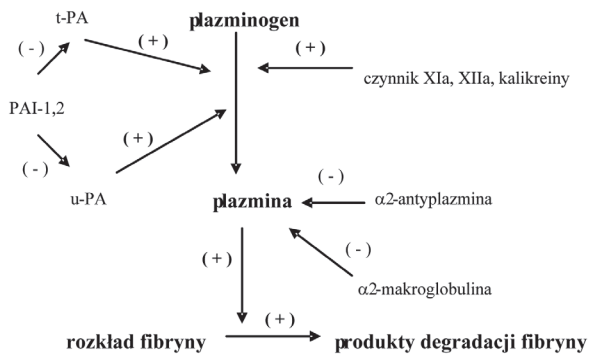
aktywatorów i inhibitorów (ESMON i współaut. 2005, CHENG i współaut. 2011). Jednym z nich jest urokinazowy aktywator plazminogenu (ang. urokinase-type plasminogen activator, u-PA), podlegający z kolei aktywacji m.in. przez kalikreiny (STOPPELLI i współaut. 2009). Drugim czynnikiem mogącym rozpocząć proces fibrynolizy jest tkankowy aktywator plazminogenu. W przeciwieństwie do u-PA, tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA) jest proteolitycznie aktywny zaraz po powstaniu (TKACHUK i współaut. 2009). Co ciekawe, aktywność tego czynnika jest regulowana m.in. przez samą fibrynę, która łączy się z odpowiednimi domenami cząsteczki t-PA stymulując jej działanie proteolityczne (STOPPELLI i współaut. 2009) (Ryc. 2).

HAMOWANIE AKTYWNOŚCI UKŁADU PLAZMINOGENU

Za regulację i równowagę procesu fibrynolizy odpowiedzialne są z kolei inhibitory aktywatorów plazminogenu (ang. plasminogen activator inhibitors, PAIs). Należą one do dużej rodziny inhibitorów proteaz serynowych tzw. serpin (STOPPELLI i współaut. 2009) (Ryc. 2). Inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1 (ang. plasminogen activator inhibitor type-1, PAI-1) jest podstawowym inhibitorem systemu aktywacji plazminogenu, który tworzy kompleksy z u-PA oraz t-PA hamując ich aktywność i zatrzymując proces fibrynolizy (KRUIHOF 2008) (Ryc. 2). Pro-

dukcja PAI-1 zachodzi m.in. w komórkach śródbłonna naczyniowego, komórkach mięśni gładkich, fibroblastach, monocytach, adipocytach (komórkach tłuszczowych). W formie stabilnej PAI-1 występuje w kompleksie z witronektyną (białkiem S układu koagulacyjnego) (KRUIHOF 2008).

Z kolei inhibitor aktywatora plazminogenu typu 2 (ang. plasminogen activator inhibitor type-2, PAI-2) blokuje u-PA, a także, mniej wydajnie, t-PA, ale jego właściwości hamujące są słabsze niż PAI-1 (KRUIHOF 2008) (Ryc. 2). Kompleksy PAI-2 z u-PA są natych-



Ryc. 2. Regulacja układu plazminogenu.

Przejscie plazminogenu w aktywną plazminę jest indukowane przez urokinazowy aktywator plazminogenu (u-PA) lub tkankowy aktywator plazminogenu (t-PA). Aktywatory te podlegają kontroli przez inhibitory aktywatorów plazminogenu (PAI-1 i PAI-2). Z kolei aktywność plazminy jest hamowana przez 2-antyplazminę oraz α 2-makroglobulinę (TKACHUK i współaut. 2009; zmodyfikowana).

miastowo rozkładane do dwóch fragmentów, z których jeden podlega endocytozie lub uwolnieniu, natomiast drugi pozostaje związany z powierzchnią komórki zapobiegając przyłączeniu się wolnej formy u-PA (STOPPELLI i współaut. 2009).

Ważną rolę w przebiegu całego procesu aktywacji plazminogenu mają receptory znajdujące się na powierzchni komórek. Receptory uPAR (ang. urokinase-type plasmi-

nogen activator receptors) oraz tPAR (ang. tissue-type plasminogen activator receptor) zwiększają aktywność katalityczną przyłączonych do nich aktywatorów u-PA i t-PA (STOPPELLI i współaut. 2009). Przyłączanie się plazminogenu do receptorów powoduje zwiększenie efektywności jego aktywacji, a także chroni go przed hamującym działaniem α 2-antyplazminy oraz α 2-makroglobuliny (TKACHUK i współaut. 2009). Te ostatnie cząsteczki są inhibitorami procesu fibrynolizy działającymi na plazminę w taki sposób, że powodują jej dezaktywację i zablokowanie rozpadu fibryny (CARPENTER i MATHEW 2008). Ponadto α 2-makroglobulina to jedno z białek fazy ostrej i niespecyficzny inhibitor metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. matrix metalloproteinases, MMP) (Porównaj z dalszymi rozdziałami) (OPDENAKKER i współaut. 2001a, b).

Do rozpoczęcia procesu fibrynolizy dochodzi w kilka dni po utworzeniu się skrzepu. Powolne uwalnianie t-PA przez komórki uszkodzonego śródbłonka powoduje aktywację plazminogenu (STOPPELLI i współaut. 2009). Aktywna plazmina wzmacnia działanie t-PA oraz u-PA, co drogą sprzężenia zwrotnego dodatkowo powoduje rozpoczęcie rozkładu skrzepu utworzonego z fibryny. Dodatkowo aktywna plazmina powoduje również inaktywację czynnika V oraz VIII biorących udział w kaskadzie krzepnięcia, hamując także bezpośrednio ten proces (TKACHUK i współaut. 2009).

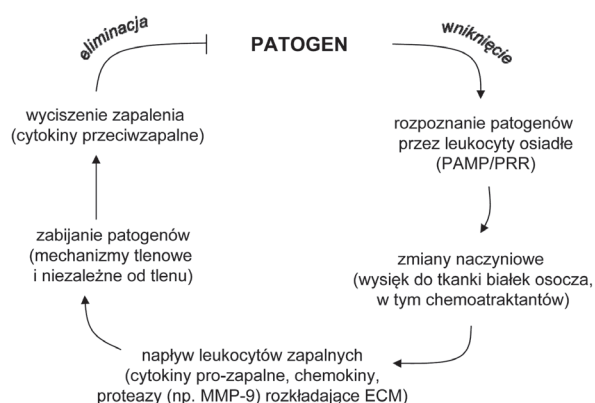
REAKCJA ZAPALNA JAKO ODPOWIEDŹ ORGANIZMU NA ZAGROŻENIE

Tak jak wspomniano układ krzepnięcia, a następnie plazminogenu są aktywowane w czasie reakcji organizmu na uszkodzenie tkanek lub infekcję wywołaną przez patogeny, którą określamy jako zapalenie. Reakcja zapalna rozwija się niezależnie od tego, czy podczas uszkodzenia doszło do zakażenia patogenami czy nie, a jej celem jest doprowadzenie płynu, osocza i jego białek oraz leukocytów, komórek układu odpornościowego, do miejsca uszkodzenia (MAJNO i JORIS 2004). Z tego też powodu zapalenie może się rozwinąć tylko w tkankach ukrwionych lub znajdujących się w pobliżu naczyń krwionośnych (SCOTT i współaut. 2004).

Pierwszym etapem reakcji zapalnej jest rozpoznanie patogenów, które wniknęły do organizmu, przez makrofagi i mastocyty, czyli tzw. leukocyty osiadłe obecne w licznych

tkankach zlokalizowanych w miejscach najbardziej narażonych na infekcję (np. w skórze) (MAJNO i JORIS 2004). Możliwe jest to dzięki obecności na powierzchni mikroorganizmów „wzorców molekularnych związanych z patogenami” (ang. pathogen associated molecular patterns, PAMP) (SAITO i GALE 2007). Do PAMP zaliczane są m.in. takie substancje jak bakteryjne DNA, dwuniciowe RNA wirusów, LPS – lipopolisacharyd ściany komórkowej bakterii gramujemnych (GOŁĄB i współaut. 2002). Wzorce te rozpoznawane są przez wyspecjalizowane receptory PRR (ang. pattern recognition receptor), zarówno zewnątrz- jak i wewnątrzkomórkowe, obecne na i w leukocytach (Ryc. 3).

Kolejnym etapem reakcji zapalnej jest zwiększenie przepuszczalności lokalnych naczyń krwionośnych prowadzące do wycieku



Ryc. 3. Najważniejsze etapy reakcji zapalnej.

Po wnuknięciu do organizmu patogeny są rozpoznawane przez leukocyty osiadłe, które rozpoczynają produkcję czynników zwiększających przepuszczalność lokalnych naczyń krwionośnych w miejscu infekcji. Umożliwia to wydostanie się wraz z osoczem krwi, białek chemotaktycznych, które wraz z chemokinami umożliwiają napływ leukocytów zapalnych do miejsca zapalenia. Leukocyty zabijają patogeny poprzez mechanizmy zależne od tlenu (wybuch tlenowy) i niezależne od tlenu (np. enzymy lityczne), a po ich eliminacji zapalenie jest wygaszane dzięki aktywności cytokin przeciwzapalnych. PAMP – wzorce molekularne związane z patogenami (ang. pathogen associated molecular pattern), PRR – receptory rozpoznające wzorce PAMP (ang. pattern recognition receptor), MMP – metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. matrix metalloproteinase), ECM – macierz zewnątrzkomórkowa (ang. extracellular matrix).

osocza wraz z białkami poza naczynie krwionośne (KOŁACZKOWSKA 2002, 2007). Spośród białek biorących udział w odpowiedzi zapalnej, w osoczu znajdują się białka dopełniacza, opsoniny i chemoatraktanty. Opsoniny przylaczają się do patogenu oznaczając go w ten sposób jako cel do fagocytozy. Z kolei chemoatraktanty umożliwiają rozwój kolejnego etapu zapalenia, jakim jest diapedeza (wynaczynienie leukocytów), a następnie naprowadzają te komórki do ogniska zapalnego (GOŁĄB i współaut. 2002). Również leukocy-

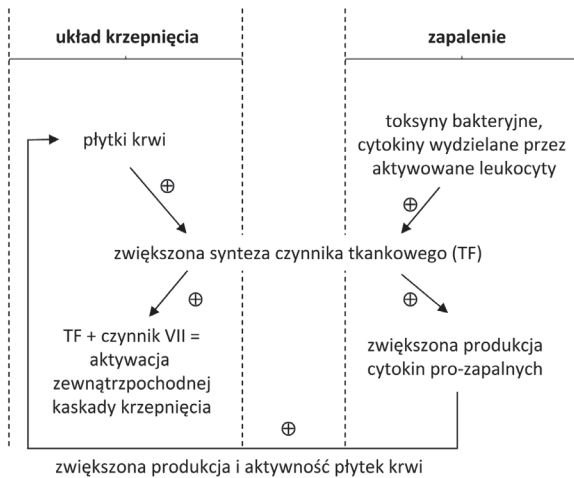
ty osiadłe rozpoczynają wytwarzanie cytokin prozapalnych takich jak TNF- α (czynnik martwicy nowotworów, ang. tumor necrosis factor α), interleukina 1 β (IL-1 β), IL-6, oraz chemokin (np. IL-8/CXCL8) (CHARO i RANSOHOFF 2006). Chemokiny oddziałują z przepływającymi we krwi leukocytami dzięki spowolnieniu ich przepływu przez selektywny, cząsteczki adhezyjne występujące zarówno na leukocytach, jak i na powierzchni śródbłónki (TEDDER i współaut. 1995). Zjawisko diapedezy leukocytów możliwe jest między innymi dzięki enzymom niszczącym fragmenty błony podstawnej śródbłónki, metaloproteinazom macierzy zewnątrzkomórkowej, w tym MMP-9 (OPDENAKKER i współaut. 2001a, b; KOŁACZKOWSKA i współaut. 2006) (Ryc. 3). Leukocyty napływające do miejsca zapalenia fagocytują obce komórki, które następnie są zabijane w trakcie tzw. wybuchu tlenowego, który jest procesem zależnym od tlenu, generującym liczne reaktywne formy tlenu (NAGATA 2005). Drugim, równoległym, bądź alternatywnym, sposobem zabijania patogenów jest proces niezależny od tlenu, związany głównie z aktywnością enzymatyczną (MAJNO i JORIS 2004). Następujące po wyeliminowaniu przyczyny zapalenia, kontrolowane zakończenie reakcji zapalnej polega na zahamowaniu powstawania niebezpiecznych wolnych rodników tlenowych oraz innych mediatorów zapalenia (np. cytokin prozapalnych), które mogą niszczyć tkanki własne gospodarza (Ryc. 3). Za wygaszenie odczynu zapalnego odpowiedzialne są mediatory przeciwzapalne, np. interleukina 10 (IL-10), TGF- β (transformujący czynnik wzrostu β , ang. transforming growth factor β), które hamują produkcję cytokin prozapalnych oraz aktywność MMP (FERNANDEZ-BOTRAN 2000). Leukocyty, zwłaszcza neutrofile, biorące udział w reakcji zapalnej giną w ognisku zapalnym śmiercią apoptyczną po wykonaniu swojego zadania (SAVILL 1997). Szczegółowo proces zapalenia został opisany w artykule opublikowanym na łamach Kosmosu w 2007 r. (KOŁACZKOWSKA 2007).

REAKCJA ZAPALNA A UKŁAD KRZEPNIĘCIA I PLAZMINOGENU

POWIĄZANIA POMIĘDZY UKŁADEM KRZEPNIĘCIA A ZAPALENIEM

Układ krzepnięcia wpływa na rozwój reakcji zapalnej, a jego elementy mogą zarówno wzmacniać, jak i hamować ten proces

(VERHAMME i HOYLAERTS 2009). Z kolei zapalenie aktywuje kaskadę krzepnięcia krwi, np. endotoksyny patogenu i wytwarzane podczas zapalenia cytokiny wpływają na syntezę czynnika tkankowego (ang. tissue factor, TF) w



Ryc. 4. Układ krzepnięcia a zapalenie.

Przykładowe interakcje pomiędzy elementami kaskady krzepnięcia a reakcją zapalną, w których czynnik tkankowy (ang. tissue factor, TF) spełnia centralną rolę. Zwiększona produkcja/wydzielanie TF jest indukowane zarówno przez elementy układu krzepnięcia jak i zapalenia. Powstały TF aktywuje zewnątrzprzochodną kaskadę krzepnięcia, a także zwiększa produkcję cytokin pro-zapalnych intensyfikując reakcję zapalną. Z kolei wyższy poziom cytokin zwiększa wytwarzanie i/lub aktywuje płytki krwi.

leukocytach i komórkach śródbłonna (ESMON 2004) (Ryc. 4). Ponadto zapalenie może powodować wzmocnienie kaskady krzepnięcia w odpowiedzi na działanie TF, co doprowadza do sytuacji, w której produkowane jest 100 razy więcej trombiny niż jest potrzebne do wytworzenia skrzepu (ESMON 2004).

Aktywacja jednego lub obu procesów (krzepnięcia i/lub zapalenia) łączy się z aktywacją czynnika XII (GEBBINK i współaut. 2009). Rolę tego czynnika w aktywacji mechanizmu wewnątrzprzochodnego opisano już powyżej, ale okazało się, że bierze on także udział w aktywacji uczestniczącego w zapaleniu systemu, kalikrein i kinin. Czynnik XII powoduje bowiem przejście prokalikrein w kalikreiny, które umożliwiają powstawanie bradykininy z kininogenu (MOREAU i współaut. 2005). Bradykinina jest mediatorem odpowiedzialnym za powstawanie objawów zapalenia, w tym bólu, oraz stymuluje powstawanie i wydzielanie tPA przez komórki śródbłonna, a także bierze udział w aktywacji proteaz, w tym MMP, niezbędnych w przekształcaniu macierzy zewnątrzkomórkowej (GEBBINK i współaut. 2009).

Również płytki krwi są elementem łączącym proces krzepnięcia krwi i odpowiedź zapalną. Mediatory zapalenia, takie jak IL-6, nie tylko wpływają na zwiększenie produkcji płytek krwi, ale także na ich aktywność. Z kolei aktywne płytki krwi uwalniają ligand receptora CD40 (CD40L), który powoduje zwiększenie syntezy czynnika tkankowego TF, a także wpływa na zwiększenie syntezy cytokin prozapalnych, w tym IL-6 oraz IL-8 (ESMON 2004) (Ryc. 4). Nowopowstałe płytki krwi aktywowane są przez niskie stężenie trombiny, a fibryna, powstająca w wyniku działania płytek krwi, wpływa z kolei na aktywność leukocytów, wzmacniając fagocytosę patogenów, produkcję chemokin i cytokin przez te komórki (VERHAMME i HOYLAERTS 2009, ESMON 2005). Poza tym, neutrofile ściśle przylaczają się do fibryny po ekspozycji na jej działanie, co spowalnia ich migrację (ESMON 2004).

DEZAKTYWACJA UKŁADU KRZEPNIĘCIA A ZAPALENIE

Układem zapobiegającym nadmiernej krzepliwości krwi jest układ antykoagulacyjny, a jego białka wykazują zdolność do hamowania odpowiedzi zapalnej. Z kolei czynniki zapalne powodują zahamowanie działania układu hamującego krzepnięcie (ESMON 2004). Antykoagulacyjny szlak białka C (ang. protein C anticoagulant pathway) jest uruchamiany po połączeniu się trombiny z trombomoduliną, znajdującą się na powierzchni śródbłonna naczyńowego. Kompleks ten działa na nieaktywne białko C połączone z śródbłonkowym receptorem EPCR (ang. endothelial-cell protein C receptor), powodując jego aktywację (OPAL i ESMON 2003). Zaktywowane białko C oddysocjuje od receptora i tworzy kompleks z białkiem S, co prowadzi do inaktywacji czynników krzepnięcia Va oraz VIIIa i dalszej kaskady krzepnięcia (DANESE i współaut. 2007).

Układ białka C wiąże się pośrednio z układem dopełniacza, który jest ważnym elementem odpowiedzi wrodzonej (zapalnej), prowadzącym do zabicia patogenów chorobotwórczych. Białko S szlaku antykoagulacyjnego występuje w kompleksie z białkiem wiążącym element układu dopełniacza C4b (ang. C4b-binding protein, C4BP), które reguluje ilość związanego i wolnego białka S, a tym samym jego aktywność w układzie antykoagulacyjnym. Z kolei białko wiążące C4b jest jednym z inhibitorów układu dopełniacza, który prowadzi do zahamowania klasycz-

nej drogi aktywacji tego układu (FERNANDEZ i GRIFFIN 1994). Kolejny mechanizm kontrolny zapewnia kompleks antytrombina-heparyna (gdzie antytrombina to naturalny inhibitor proteaz kaskady krzepnięcia), który neutralizuje czynnik Xa, trombinę oraz czynnik IXa, a także inaktywuje czynnik VIIa, ale tylko, gdy ten jest w kompleksie z czynnikiem tkankowym TF (ESMON 2004). Z kolei inhibitor szlaku czynnika tkankowego (ang. tissue factor pathway inhibitor, TFPI) inaktywuje czynnik VIIa połączony z czynnikiem tkankowym TF (DANESE i współaut. 2007).

Komórki śródbłonna naczyniowego integrują drogi pro- i antykoagulacyjne, a także bodźce pro- i przeciwzapalne. Komórki te są zaangażowane w proces hemostazy, hamując powstawanie skrzepu poza obszarem uszkodzenia, a także są odpowiedzialne za zlokalizowanie obszaru uszkodzenia i inicjację odpowiedzi zapalnej w tym miejscu (VERHAMME i HOYLAERTS 2009). Komórki śródbłonna rzadko ulegają apoptozie, ze względu na syntezę anty-apoptotycznych białek, ale rozpoznanie przez nie wzorców molekularnych związanych z patogenami (PAMP), takich jak bakteryjny LPS, może przyczyniać się do zaburzenia ich apoptozy (OPAL i ESMON 2003). Wykazano jednak, że aktywne białko C układu antykoagulacyjnego chroni komórki śródbłonna przed apoptozą (OPAL i ESMON 2003, ESMON 2005). W warunkach fizjologicznych zjawisko apoptozy pełni ważną funkcję w usuwaniu starych i zniszczonych komórek. Proces apoptozy służy także do eliminacji komórek, które wykonały już swoje funkcje w trakcie zapalenia. To ostatnie zjawisko dotyczy głów-

nie neutrofili, które zakończyły eliminację patogenów. Istnieją dwa główne szlaki aktywujące apoptozę: zewnątrzpochodny, inicjowany przez białka należące do rodziny $TNF\alpha$, który prowadzi do aktywacji pro-kaspazy 8, oraz wewnątrzpochodny inicjowany przez mitochondria, prowadzący do aktywacji pro-kaspazy 9 (KOŁACZKOWSKA i współaut. 2009).

System fibrynolizy (najważniejszy element układu antykoagulacyjnego) ma wpływ na rekrutację i migrację komórek zapalnych, a także na cały mechanizm odpowiedzi zapalnej (ESMON 2005). System ten jest uruchamiany głównie przez fibrynę indukującą aktywację tPA, ale, co ciekawe, fibryna ma także zdolności do aktywowania czynnika XII (GEBBINK i współaut. 2009). Z drugiej strony, system fibrynolizy jest aktywowany przez cytokiny zapalne, głównie $TNF\alpha$ (OPAL i ESMON 2003). Konsekwentnie, inhibitory systemu fibrynolizy zmniejszają produkcję cytokin, np. produkcja $TNF\alpha$ jest zmniejszona w obecności PAI-1 poprzez hamowanie u-PA (ESMON 2005). Fibrynoliza jest również uruchamiana przez bradykininę i kallikreiny, które powodują zwiększenie syntezy tPA oraz uPA (GEBBINK i współaut. 2009). Plazmina nie tylko rozkłada fibrynę, ale także działa na wiele innych substratów. Wykazano, że może rozkładać białka macierzy międzykomórkowej, takie jak lamininę, a także aktywuje enzymy rozkładające kolagen, w tym MMP (GEBBINK i współaut. 2009). Zarówno plazmina, jak i tPA biorą udział w mechanizmie odbudowy tkanek i migracji komórek. Rola układu plazminogenu w aktywacji MMPs, w tym MMP-9, zostanie omówiona w dalszych rozdziałach.

POWIĄZANIA POMIĘDZY UKŁADAMI KRZEPNIĘCIA I PLAZMINOGENU A MMP-9

MMP-9 A UKŁAD KRZEPNIĘCIA

MMP-9, znana też jako żelatynaza B, należy do rodziny metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. matrix metalloproteinase, MMP), enzymów odpowiedzialnych głównie za degradację składników macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. extracellular matrix, ECM) (OPDENAKKER i współaut. 2001a, b; KOŁACZKOWSKA i współaut. 2006). Jedną z podrodzin MMP są żelatynazy mające zdolność rozkładu żelatyny, lamininy oraz kolagenu typu I i IV (PARKS i współaut. 2004). MMP-9 nie jest produkowana w zdrowych tkankach, w przeciwieństwie do MMP-2 (żelatynazy A), a jej ekspresja może zostać zapoczątkowana w procesach przebudowywania

oraz naprawy uszkodzonych tkanek, a także w miejscach, w których toczy się odczyn zapalny bądź choroba nowotworowa (PARKS i współaut. 2004, KOŁACZKOWSKA i współaut. 2006).

Substraty MMP-9 są obecne w błonie podstawnej nabłonków oraz śródbłonna naczyniowego. Tym samym MMP-9 spełnia główną funkcję w degradacji i przebudowie ECM (OPDENAKKER i współaut. 2001a, b; KOŁACZKOWSKA 2007; KOŁACZKOWSKA i współaut. 2008). Żelatynaza B jest produkowana w formie nieaktywnej (pro-MMP-9), a czynnikami powodującymi jej aktywację są m.in. plazmina, a także inne MMP, jak MMP-3, MMP-7 czy MMP-13 (UGWU i współaut. 2001).

Wewnątrzpochodny mechanizm krzepnięcia krwi rozpoczyna się m.in. w momencie ekspozycji komórek na kolagen wchodzący w skład ECM. Badania wykazały, że ludzkie monocyty są zdolne do produkcji zarówno TF, jak i MMP-9 po ekspozycji na kolagen typu I (POITEVIN i współaut. 2008). Jednocześnie w wyniku tej interakcji dochodzi do wzrostu produkcji przez monocyty cytokin prozapalnych (TNF- α i IL-1 β), które pełnią rolę w regulacji ekspresji MMP-9. Wykazano także, że interakcja monocytów z kolagenem typu I stymuluje aktywność NF- κ B, co pośrednio wpływa zarówno na wzrost poziomu TF, jak i MMP-9 (POITEVIN i współaut. 2008). NF- κ B to czynnik jądrowy kontrolujący aktywność licznych genów, w tym genów kodujących czynniki zapalne, np. cytokiny (MANTOVANI 2010). Badania wykazały, że wysoki poziom TFPI (inhibitora szlaku czynnika tkankowego TF) powoduje zmniejszenie aktywności proteolitycznej MMP-9, a także zmniejszenie jej wydzielania przez monocyty (KOPP i współaut. 2004). Z drugiej strony wykazano, że TFPI jest kolejnym substratem dla MMP-9, ponieważ ulega rozkładowi pod wpływem tego enzymu. Chociaż MMP-9 rozkłada TFPI, to nie działa na TF, czynnik VII, czy czynnik Xa kaskady krzepnięcia (BELAAOUAJ i współaut. 2000). Ponadto wykazano, że substancje antykoagulacyjne (takie jak heparyna) działają hamująco na ekspresję i wydzielanie MMP-9 (CASTELLAZZI i współaut. 2007).

Inny z elementów układu krzepnięcia, trombina, powoduje podwyższenie wydzielania MMP-9 przez monocyty. W badaniach wykazano, że już w 6 h po stymulacji trombiną w monocytach wykrywano obecność MMP-9, przy czym jej poziom był zależny od stężenia trombiny, a wydzielanie tej proteazy utrzymało się nawet przez 30 godzin (CHANG i współaut. 2009). Ponadto stwierdzono, że na monocytach ludzkich istnieją dwa receptory odpowiedzialne za wiązanie trombiny: PAR-1 (ang. protease-activated receptor) i PAR-3. Wykazano, że oba te receptory biorą udział w podwyższeniu ekspresji MMP-9 spowodowanej obecnością trombiny (CHANG i współaut. 2009).

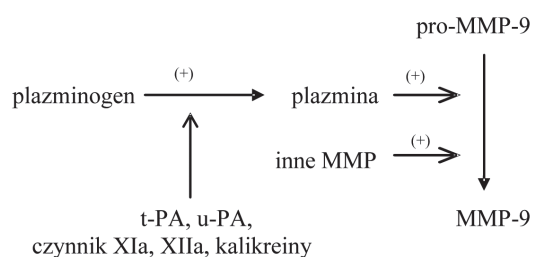
MMP-9 A UKŁAD PLAZMINOGENU

Większość białek o silnej aktywności proteolitycznej jest wytwarzanych w formie nieaktywnej, a ich aktywacja podlega ścisłej kontroli. Dotyczy to również plazminy i MMP-9 powstających odpowiednio z plazminogenu i pro-MMP-9, przy czym wykazano, że oba biał-

ka mogą wzajemnie regulować swoją aktywność (PEPPER i współaut. 2001). MMP-9 może bowiem degradować plazminogen (Porównaj poniżej), natomiast pro-MMP-9 może być aktywowana przez plazminę, bądź inne białka układu plazminogenu, jak urokinazowy aktywator plazminogenu (u-PA) (LIU i współaut. 2000, 2005). Aktywacja MMP-9 przez plazminę lub u-PA jest dwustopniowa. Pierwszy etap związany jest z aktywnością proteaz, takich jak plazmina, tripsyna, chymaza, elastaza lub kalikreina (NAGASE 1997) (Ryc. 5). Spośród tych proteaz plazmina uważana jest za najsilniejszy aktywator MMP-9, który degraduje fragment jej pro-domeny określany jako „wrażliwy na działanie proteaz”, prowadząc do takich zmian konformacyjnych, które odsłaniają miejsce cięte następnie przez proteazę, najczęściej inną MMP (NAGASE 1997) (Ryc. 5).

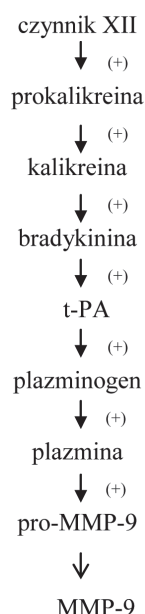
Badania na myszach potwierdziły rolę plazminy w aktywacji MMP-9 *in vivo*, gdyż wykazały, że u myszy, u których zablokowano gen kodujący plazminogen lub u-PA czy t-PA nie dochodziło, lub proces ten był istotnie mniej efektywny, do przekształcenia się formy pro-MMP-9 w formę aktywną MMP-9 (LIU i współaut. 2005). Wykazano także, że układ plazminogenu wpływa nie tylko na aktywność, ale także na poziom wydzielanej z komórki pro-MMP-9, bowiem aktywne neutrofile wykazały intensywniejszą degranulację po stymulacji t-PA (CUADRADO i współaut. 2008).

Działanie układu plazminogenu jest kontrolowane przez sieć inhibitorów, o których była mowa w poprzednich rozdziałach. Udokumentowano, że inhibitorem, który hamuje



Ryc. 5. Aktywacja MMP-9 przez plazminę.

Plazminogen aktywowany przez różne czynniki układu plazminogenu i krzepnięcia, przekształca się w plazminę, która uczestniczy w dwustopniowej aktywacji pro-MMP-9. W pierwszym etapie plazmina odsłania miejsce proteolitycznego cięcia dla jednej z MMP (np. MMP-3, MMP-7 czy MMP-13). → oznacza przekształcenie się formy nieaktywnej w aktywną; → oznacza aktywność proteolityczną danego czynnika.



Ryc. 6. Kaskadowa zależność aktywacji układu krzepnięcia, plazminy i MMP-9.

Aktywacja plazminy prowadząca do aktywacji pro-MMP-9 może być poprzedzona kaskadowym mechanizmem aktywacji poszczególnych elementów związanych z układem krzepnięcia.

zarówno działanie plazminy, jak i MMP-9 jest α_2 -makroglobulina, białko fazy ostrej wydzielane w wątrobie. Alfa₂-makroglobulina wydaje się być dość uniwersalnym inhibitorem, gdyż hamuje ponadto aktywność licznych proteaz serynowych, cysteinowych i aspartrylowych (CREEMERS i współaut. 2001). Inhibitor ten ze względu ma duże rozmiary cząsteczki występuje w osoczu i nie przenika do tkanek (VISSE i NAGASE 2003). Działanie α_2 -makroglobuliny polega na związaniu cząsteczki MMP lub plazminogenu, a powstały kompleks jest następnie wiązany przez receptory zmiatacze, które usuwają go na drodze endocytozy. Jest to więc proces nieodwracalny (VISSE i NAGASE 2003).

Ponadto aktywacja plazminy oraz MMP-9 może być powiązana z układem krzepnięcia i w takim przypadku ma charakter kaskadowy. Mechanizm ten zapewnia ścisłą regulację działania enzymów, zapobiegając powstawaniu stanów patologicznych i jest inicjowany przez czynnik XII układu krzepnięcia, a w kaskadzie uczestniczą też białka należące do kalikrein (Ryc. 6).

Powiązanie pomiędzy układem plazminogenu a MMP-9 widoczne jest również w procesach związanych z migracją komórek.

Wykazano, że podczas zawału mięśnia sercowego MMP-9 i układ plazminogenu odgrywają istotną rolę w odbudowie uszkodzonej tkanki, gdyż przebudowa macierzy zewnątrzkomórkowej oraz gojenie się miejsca urazu były opóźnione u myszy pozbawionych plazminogenu i/lub MMP-9 (CREEMERS i współaut. 2001). U myszy tych nie obserwowano również migracji leukocytów zapalnych (CREEMERS i współaut. 2001).

Ponadto wykazano, że MMP-9 i plazminogen współpracują w trakcie procesu powstawania naczyń krwionośnych (angiogenezy) (PEPPER 2001). Degradacja błony podstawnej śródbłonnków, rozpoczynająca pierwszą fazę angiogenezy, możliwa jest dzięki proteolitycznemu działaniu MMP-9. Proteaza ta rozkłada bowiem macierz zewnątrzkomórkową umożliwiając migrację komórek śródbłonna, co prowadzi do powiększenia sieci naczyń krwionośnych. Potwierdza to fakt, że endogenne inhibitory tkankowe MMP-9 - TIMP-1 (ang. tissue inhibitors of metalloproteinases) powoduje zahamowanie tego procesu (PEPPER 2001). Z drugiej strony, podczas procesu angiogenezy dochodzi do ekspresji u-PA i uPAR (receptora dla u-PA) oraz PAI-1 (inhibitora u-PA), co sugeruje, że poza pośrednim wpływem układu plazminogenu poprzez aktywację pro-MMP-9, ma on także bezpośredni wpływ na ten proces (PEPPER 2001). Wykazano na przykład, że zwiększenie ekspresji PAI-1 w komórkach śródbłonna, sąsiadujących z komórkami nowotworowymi, hamuje angiogenezę (PEPPER 2001). Bezpośrednia rola układu plazminogenu w angiogenezie może wiązać się także z faktem, że plazmina, oprócz fibryny, rozkłada także inne elementy ECM, jak fibronektynę, lamininę czy trombospodynę wpływające na przebieg angiogenezy. Konsekwentnie wykazano, że układ plazminogenu i MMP-9 odgrywają ważną rolę w migracji komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych w czasie ich tworzenia, co wiąże się z koniecznością rozkładu białek ECM (UGWU i współaut. 2001). Ponadto pokazano, że żelatynaza B jest zaangażowana w regulację procesu angiogenezy poprzez zdolność do rozkładu plazminogenu, w wyniku czego powstaje angiostatyna, która hamuje angiogenezę (PEPPER 2001). Mechanizm działania angiostatyny nie jest do końca poznany, ale pokazano, że hamuje ona nie tylko migrację komórek śródbłonna naczyniowego, ale także ich proliferację oraz indukuje apoptozę tych komórek. Ponadto wykazano, że angiostatyna wiąże się m.in. z integryna-

mi i proteoglikanami, co może tłumaczyć hamujący efekt tego białka na procesy migracji komórek, wymagające interakcji z cząsteczkami adhezyjnymi (STACK i współaut. 1999). Z drugiej strony, angiostatyna wiąże także t-PA hamując aktywację plazminogenu (STACK i współaut. 1999).

MMP-9 i układ plazminogenu odgrywają istotną rolę w procesie migracji komórek zapalnych do miejsca uszkodzenia lub infekcji (GONG i współaut. 2008). Badania na myszach z zablokowanym genem kodującym plazminogen (myszy $Plg^{-/-}$) wykazały, że liczba migrujących makrofagów znacznie spa-

da u tych zwierząt w porównaniu do myszy kontrolnych. Potwierdził to eksperyment, w którym myszom $Plg^{-/-}$ podano PAI-1 (inhibitor u-PA), który spowodował ponowny wzrost liczby makrofagów, porównywalny do myszy kontrolnych (GONG i współaut. 2008). Ponadto badania dowiodły, że intensywna migracja makrofagów w obecności plazminogenu zostaje prawie całkowicie zahamowana po zablokowaniu działania MMP-9. Z kolei u myszy $Plg^{-/-}$ migracja leukocytów została wznowiona po podaniu aktywnej formy MMP-9 (GONG i współaut. 2008).

WNIOSKI

Wniknięcie patogenów i/lub uszkodzenie tkanek wywołuje reakcję zapalną mającą na celu wyeliminowanie mikroorganizmów patogennych i naprawę uszkodzonej tkanki. W ten ostatni proces zaangażowany jest także układ krzepnięcia krwi, nie tylko poprzez hamowanie krwawienia, często towarzyszące urazowi, ale także aktywację licznych czynników zapalnych, takich jak np. układ dopełniacza czy kalikreinowo-kininowy. Interakcje pomiędzy reakcją zapalną a układem krzepnięcia są bilateralne. Dobrym przykładem takich powiązań jest wpływ obu układów na funkcję płytek krwi: ich liczba i aktywność zwiększają się pod wpływem cytokin pro-zapalnych, co prowadzi do wzrostu wydzielania czynnika tkankowego kaskady krzepnięcia i zwiększonej syntezy cytokin. Zaktywowane czynniki zapalne mogą z kolei regulować zwrótnie aktywność poszczególnych elementów układu krzepnięcia i plazminogenu. Ten ostatni układ, kontrolujący aktywację układu krzepnięcia, także jest ściśle powiązany z reakcją zapalną, gdyż jego najważniejszy element, plazmina, jest odpowiedzialny m.in.

za aktywację MMP-9, enzymu niezbędnego do migracji leukocytów. Z kolei MMP-9 może rozkładać plazminogen, a oba białka podlegają regulacji przez wspólny inhibitor.

Bezsporne powiązania pomiędzy układem krzepnięcia i reakcją zapalną nasuwają pytanie, czy ich istnienie mogłoby być wykorzystane klinicznie. W tym celu liczne czynniki przeciwzapalne stosowane w leczeniu i/lub dopiero testowane powinny być sprawdzone pod kątem ich wpływu na układ krzepnięcia. Z drugiej strony, farmakologiczne wyciszenie ekspresji/aktywności poszczególnych elementów kontrolujących zapalenie niekoniecznie może zahamować proces zapalny, gdyż ich brak może być kompensowany przez elementy układu krzepnięcia.

PODZIĘKOWANIA

Praca została sfinansowana ze środków K/ZDS/001716. Niniejszy artykuł został oparty na pracy licencjackiej Pani Karoliny Cieślak wykonanej pod kierunkiem dr hab. Elżbiety Kołaczekowskiej na Uniwersytecie Jagiellońskim.

UKŁAD KRZEPNIĘCIA A REAKCJA ZAPALNA

Streszczenie

Zapalenie, proces zapoczątkowany przez uszkodzenie tkanek lub infekcję, jest powiązany z procesem krzepnięcia. Najważniejszym etapem zapalenia jest migracja zapalnych leukocytów, wymagająca udziału licznych proteaz, w tym metaloproteiny macierzy zewnątrzkomórkowej 9 (MMP-9, żelatynazy 9) rozkładającej macierz zewnątrzkomórkową i błony podstawne. Z drugiej strony, proces krzepnięcia krwi, który może być zaktywowywany przez szlak zewnątrz- lub wewnątrzprzewodny, hamuje krwawienie

i przywraca ciągłość naczyń krwionośnych, zjawiska które mogą towarzyszyć także reakcji zapalnej. Proces krzepnięcia jest kontrolowany przez układ plazminogenu za pośrednictwem jego składników (aktywatorów: t-PA, u-PA i inhibitorów: t-PAI, u-PAI) regulujących aktywność plazminy rozkładającej skrzep. Układ plazminogenu i MMP-9 współdziałają w licznych procesach fizjologicznych, zwłaszcza w rozkładzie macierzy zewnątrzkomórkowej. Dodatkowo, plazmina jest jednym z głównych aktywatorów

pro-MMP-9, umożliwiając aktywację i wydzielanie MMP-9. Ponadto żelatynaza B uczestniczy w procesie angiogenezy umożliwiając migrację komórek śródbłonki naczyńniowego. Z kolei MMP-9 rozkłada plazminogen umożliwiając powstanie angiostatyny, ha-

mującej angiogenezę. Artykuł opisuje aktualne dane wskazujące na związek pomiędzy układem krzepnięcia i plazminogenu a reakcją zapalną (głównie na przykładzie MMP-9) i opisuje stopień skomplikowania tych powiązań.

BI-DIRECTIONAL COMMUNICATION: COAGULATION VERSUS INFLAMMATION

Summary

The process of inflammation that is initiated by tissue injury or infection is connected to the process of coagulation. The highlight of inflammation, a process of migration of inflammatory leukocytes is facilitated by numerous proteases, including matrix metalloproteinase 9 (MMP-9, gelatinase B) degrading extracellular matrix (ECM) and basement membrane components. On the other hand, the process of blood clotting which can be activated by either external or intrinsic pathways inhibits the bleeding process and restores the continuity of blood vessel walls. This sort of damage accompanies also inflammation. The process of blood clotting is directed by the plasminogen system as its components (activators: t-PA, u-PA and inhibitors: t-PAI, u-PAI) regulate

activity of plasmin which degrades the clot. The plasminogen system and MMP-9 cooperate in numerous physiological processes, especially in regard to the degradation of ECM. In addition, plasmin is one of the main activators of pro-MMP-9 thus it affects the activity and release of MMP-9. Furthermore, gelatinase B takes part in angiogenesis by facilitating migration of vascular endothelial cells. On the other hand, MMP-9 has the ability to degrade plasminogen leading to generation of angiostatin that inhibits angiogenesis. The article discusses recent data linking the process of coagulation and the plasminogen system to the process of inflammation (mostly via MMP-9) and describes complexity of their interactions.

LITERATURA

- BELAAOUAJ A. A., LI A., WUN T. C., WELGUS H. G., SHAPIRO S. D., 2000. *Matrix metalloproteinases cleave tissue factor pathway inhibitor. Effects on coagulation.* J. Biol. Chem. 275, 27123–27128.
- CARPENTER S. L., MATHEW P., 2008. *Alpha2-antiplasmin and its deficiency: fibrinolysis out of balance.* Haemophilia 14, 1250–1254.
- CASTELLAZZI M., TAMBORINO C., FAINARDI E., MANFRINATO M. C., GRANIERI E., DALLOCCIO F., BELLINI T., 2007. *Effects of anticoagulants on the activity of gelatinases.* Clin. Biochem. 40, 1272–1276.
- CHANG C. J., HSU L. A., KO Y. H., CHEN P. L., CHUANG Y. T., LIN C. Y., LIAO C. H., PANG J. H., 2009. *Thrombin regulates matrix metalloproteinase-9 expression in human monocytes.* Biochem. Biophys. Res. Commun. 385, 241–246.
- CHAO J., CHAO L., 2004. *Kallikrein-kinin in stroke, cardiovascular and renal disease.* Exp. Physiol. 90, 291–298.
- CHARO I. F., RANSOHOFF R. M., 2006. *The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation.* N. Engl. J. Med. 354, 610–621.
- CHENG T., MATHEWS K., ABRAMS-OGG A., WOOD D., 2011. *The link between inflammation and coagulation: influence on the interpretation of diagnostic laboratory tests.* Compend. Contin. Educ. Vet. 33, E1–E12.
- CREEMERS E. E., CLEUTJENS J. P., SMITS J. F., DAEMEN M. J., 2001. *Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction: a new approach to prevent heart failure?* Circ. Res. 89, 201–210.
- CUADRADO E., ORTEGA L., HERNÁNDEZ-GUILLAMON M., PENALBA A., FERNÁNDEZ-CADENAS I., ROSELL A., MONTANER J., 2008. *Tissue plasminogen activator (t-PA) promotes neutrophil degranulation and MMP-9 release.* J. Leukoc. Biol. 84, 207–214.
- DANESE S., PAPA A., SAIBENI S., REPICI A., MALESCI A., VECCHI M., 2007. *Inflammation and coagulation in inflammatory bowel disease: The clot thickens.* Am. J. Gastroenterol. 102, 174–186.
- DAVALOS D., AKASSOGLU K., 2011. *Fibrinogen as a key regulator of inflammation in disease.* Semin. Immunopathol. (w druku).
- ESMON C. T., 2004. *Interactions between the innate immune and blood coagulation systems.* Trends Immunol. 25, 536–542.
- ESMON C. T., 2005. *The interactions between inflammation and coagulation.* Br. J. Haematol. 131, 417–430.
- FERNANDEZ-BOTRAN R., 2000. *Soluble cytokine receptors: novel immunotherapeutic agents.* Expert Opin. Investig. Drugs. 9, 497–514.
- FERNANDEZ J. A., GRIFFIN J. H., 1994. *A Protein S Binding Site on C4b-binding Protein Involves Chain Residues 31–45.* J. Biol. Chem. 269, 2535–2540.
- GEBBINK M. F., BOUMA B., MAAS C., BOUMA B. N., 2009. *Physiological responses to protein aggregates: fibrinolysis, coagulation and inflammation (new roles for old factors).* FEBS Lett. 583, 2691–2699.
- GOŁĄB J., JAKOBISIAK M., LASEK W., 2002. *Immunologia.* Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- GONG Y., HART E., SHCHURIN A., HOOVER-PLOW J., 2008. *Inflammatory macrophage migration requires MMP-9 activation by plasminogen in mice.* J. Clin. Invest. 118, 3012–3024.
- KOŁACZKOWSKA E., 2002. *Shedding light on vascular permeability during peritonitis: role of mast cell histamine versus macrophage cysteinyl leukotrienes.* Inflamm. Res. 51, 519–521.
- KOŁACZKOWSKA E., 2007. *Zapalenie (ostre) jako reakcja korzystna dla organizmu – historia badań a najnowsze osiągnięcia.* Kosmos 274–275, 27–38.
- KOŁACZKOWSKA E., CHADZIŃSKA M., SCISŁOWSKA-CZARNECKA A., PLYTYCZ B., OPDENAKKER G., ARNOLD B., 2006. *Gelatinase B/matrix metalloproteinase-9 contributes to cellular infiltration in a murine*

- model of zymosan peritonitis. *Immunobiology*. 211, 137–148.
- KOLACZKOWSKA E., LELITO M., KOZAKIEWICZ E., VAN ROOIJEN N., PLYTYCZ B., ARNOLD B., 2007. *Resident peritoneal leukocytes are important sources of MMP-9 during zymosan peritonitis: superior contribution of macrophages over mast cells*. *Immunol. Lett.* 113, 99–106.
- KOLACZKOWSKA E., ARNOLD B., OPDENAKKER G., 2008. *Gelatinase B/MMP-9 as an inflammatory marker enzyme in mouse zymosan peritonitis: comparison of phase-specific and cell-specific production by mast cells, macrophages and neutrophils*. *Immunobiology*. 213, 109–124.
- KOLACZKOWSKA E., KOZIOL A., PLYTYCZ B., ARNOLD B., OPDENAKKER G., 2009. *Altered apoptosis of inflammatory neutrophils in MMP-9-deficient mice is due to lower expression and activity of caspase-3*. *Immunol Lett.* 126, 73–82.
- KOPP C. W., HÖLZENBEIN T., STEINER S., MARCULESCU R., BERGMEISTER H., SEIDINGER D., MOSBERGER I., KAUN C., CEJNA M., HORVAT R., WOJTA J., MAURER G., BINDER B. R., BREUSS J. M., ECKER R. C., DE MARTIN R., MINAR E., 2004. *Inhibition of restenosis by tissue factor pathway inhibitor: in vivo and in vitro evidence for suppressed monocyte chemoattraction and reduced gelatinolytic activity*. *Blood* 103, 1653–1661.
- KRUITHOFF E. K., 2008. *Regulation of plasminogen activator inhibitor type I gene expression by inflammatory mediators and statins*. *Thromb. Haemost.* 100, 969–975.
- LIU Z., ZHOU X., SHAPIRO S. D., SHIPLEY J. M., TWINING S. S., DIAZ L. A., SENIOR R. M., WERB Z., 2000. *The serpin alpha1-proteinase inhibitor is a critical substrate for gelatinase B/MMP-9 in vivo*. *Cell* 102, 647–655.
- LIU Z., LI N., DIAZ L. A., SHIPLEY M., SENIOR R. M., WERB Z., 2005. *Synergy between a plasminogen cascade and MMP-9 in autoimmune disease*. *J. Clin. Invest.* 115, 879–887.
- MAJNO G., JORIS I., 2004. *Cells, tissues, and disease: Principles of general pathology*. Blackwell, Oxford.
- MANTOVANI A., 2010. *Molecular pathways linking inflammation and cancer*. *Curr. Mol. Med.* 10, 369–373.
- MOREAU M. E., GARBACKI N., MOLINARO G., BROWN N. J., MARCEAU F., ADAM A., 2005. *The kallikrein-kinin system: current and future pharmacological targets*. *J. Pharmacol. Sci.* 99, 6–38.
- NAGASE H., 1997. *Activation mechanisms of matrix metalloproteinases*. *Biol. Chem.* 378, 151–160.
- NAGATA M., 2005. *Inflammatory cells and oxygen radicals*. *Curr. Drug Targets Inflamm. Allergy*; 4, 503–504.
- OPAL S. M., ESMON C. T., 2003. *Bench-to-bedside review: functional relationships between coagulation and the innate immune response and their respective roles in the pathogenesis of sepsis*. *Crit. Care*. 7, 23–38.
- OPDENAKKER G., VAN DEN STEEN P. E., VAN DAMME J., 2001a. *Gelatinase B: a tuner and amplifier of immune functions*. *Trends Immunol.* 22, 571–579.
- OPDENAKKER G., VAN DEN STEEN P. E., DUBOIS B., NELISSEN I., VAN COILLIE E., MASURE S., PROOST P., VAN DAMME J., 2001b. *Gelatinase B functions as regulator and effector in leukocyte biology*. *J. Leukoc. Biol.* 69, 851–859.
- PARKS W. C., WILSON C. L., LÓPEZ-BOADO Y. S., 2004. *Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity*. *Nat. Rev. Immunol.* 4, 617–629.
- PEPPER M. S., 2001. *Role of the matrix metalloproteinase and plasminogen activator-plasmin systems in angiogenesis*. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 21, 1104–1117.
- POITEVIN S., GARNOTEL R., ANTONICELLI F., GILLERY P., NGUYEN P., 2008. *Type I collagen induces tissue factor expression and matrix metalloproteinase 9 production in human primary monocytes through a redox-sensitive pathway*. *J. Thromb. Haemost.* 6, 1586–1594.
- SAITO T., GALE M., 2007. *Principles of intracellular viral recognition*. *Curr. Opin. Immunol.* 19, 17–23.
- SAVILL J., 1997. *Apoptosis in resolution of inflammation*. *J. Leukoc. Biol.* 61, 375–380.
- SCOTT A., KHAN K. M., COOK J. L., DURONIO V., 2004. *What is “inflammation”? Are we ready to move beyond Celsus?* *Br. J. Sports Med.* 38, 248–249.
- STACK M. S., GATELY S., BAFETTI L. M., ENGHILD J. J., SOFF G. A., 1999. *Angiostatin inhibits endothelial and melanoma cellular invasion by blocking matrix-enhanced plasminogen activation*. *Biochem. J.* 340, 77–84.
- STOPPELLI M. P., VINCENZA C. M., FRANCO P., VOCCA I., ALFANO D., LONGANESI-CATTANI I., BIFULCO K., MANCINI A., CAPUTI M., 2009. *Structure, function and antagonists of urokinase-type plasminogen activator*. *Front. Biosci.* 14, 3782–3794.
- TEDDER T. F., STEEBER D. A., CHEN A., ENGEL P., 1995. *The selectins: vascular adhesion molecules*. *FASEB J.* 9, 866–873.
- TKACHUK V. A., PLEKHANOVA O. S., PAREZONOVA Z. V., 2009. *Regulation of arterial remodeling and angiogenesis by urokinase-type plasminogen activator*. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 87, 231–251.
- TRACZYK W. Z., 1989. *Fizjologia człowieka w zarysie*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa.
- UGWU F., LEMMENS G., COLLEN D., LIJNEN H. R., 2001. *Matrix metalloproteinase deficiencies do not impair cell-associated fibrinolytic activity*. *Thromb. Res.* 102, 61–69.
- VAN DER POLL T., DE BOER J. D., LEVI M., 2011. *The effect of inflammation on coagulation and vice versa*. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 24, 273–278.
- VERHAMME P., HOYLAERTS M. F., 2009. *Hemostasis and inflammation: two of a kind?* *Thromb. J.* 7, 15.
- VISSE R., NAGASE H., 2003. *Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry*. *Circ. Res.* 92, 827–839.