

Ocena stężeń kotyniny oraz wybranych wskaźników odpowiedzi zapalnej u pacjentów poddawanych zabiegom endarterektomii tętnic szyjnych

Assessment of cotinine levels and selected inflammatory markers in patients after carotid endarterectomy

Elżbieta Świętochowska¹, Paweł Kiczmer¹, Alicja Prawdzic Seńkowska¹, Daria Wziątek-Kuczmik²,
Zofia Ostrowska¹, Marek Motyka³

¹Katedra i Zakład Biologii Medycznej i Molekularnej, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach (Department of Medical and Molecular Biology, Medical University of Silesia, Zabrze, Poland)

²Katedra Chirurgii Czaszkowo-Szczękowo-Twarzowej i Chirurgii Stomatologicznej, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach (Department of Craniomaxillofacial Surgery, Medical University of Silesia, Katowice, Poland)

³Poradnie Specjalistyczne Angiomed w Bytomiu (Angiomed Clinic, Bytom, Poland)

Streszczenie

Choroby krążenia są główną przyczyną zgonów w krajach zachodnich. Zaburzenia te są najczęściej wywołane przez zmiany miażdżycowe. Miażdżycą jest długotrwałym i złożonym procesem, w którym biorą udział zarówno składniki gospodarki lipidowej, odpowiedzi immunologicznej, jak i środowiskowe, takie jak palenie tytoniu. Celem pracy była ocena wpływu ekspozycji na dym tytoniowy na wybrane parametry (lipoproteiny, TGF- β 1, MPO) związane z patogenezą miażdżycy u pacjentów poddanych zabiegowi endarterektomii, z powodu zmniejszonej drożności tętnic szyjnych. Przebadano 92 osoby w wieku 47–82 lat. Ekspozycję na dym tytoniowy oceniono za pomocą oznaczenia we krwi kotyniny. Nie zaobserwowano różnic w stopniu zwężenia tętnic, jak i stężeniach w surowicy krwi LDL, HDL, triglicerydów, Lp(a) oraz cholesterolu całkowitego między palaczami a osobami niepalącymi. Stężenie TGF- β 1 było wyższe u osób niepalących. Wśród osób palących stężenie kotyniny korelowało w stopniu istotnym ze stężeniem MPO ($p < 0,05$). Podsumowując, palenie tytoniu nasila proces zapalny oraz proliferację mięśniówki gładkiej tętnic szyjnych, przyczyniając się do rozwoju miażdżycy.

Słowa kluczowe: endarterektomia, TGF- β 1, nikotynizm

Chirurgia Polska 2017, 19, 1–2, 1–6

Abstract

Cardiovascular disease (CVD) is the leading mortality cause in western society. The main role in CVD development is played by atherosclerosis. Atherosclerosis is a long and complex process, in which are involved both lipid and immune system components, as well as environmental factors such as tobacco smoking. The aim of the study was to evaluate the influence of tobacco smoke exposure on parameters (lipoproteins, TGF- β 1, MPO) associated with pathogenesis of atherosclerosis in patients undergoing carotid endarterectomy as a result of carotid artery stenosis. The study included 92 patients at the age of 47–82. Tobacco exposure was assessed according to cotinine blood level. No differences in the level of stenosis and concentration in serum of LDL, HDL, triglycerides, Lp(a) and total cholesterol were observed between the smokers and non-smokers. TGF- β 1 concentration was higher in non-smoking patients. Among smokers, cotinine level was correlated with MPO concentration ($p < 0.05$). To conclude, tobacco smoking stimulates the inflammatory process and smooth muscle proliferation in the wall of carotid artery leading to atherogenesis.

Key words: endarterectomy, TGF- β 1, nicotine abuse

Chirurgia Polska 2017, 19, 1–2, 1–6

Wstęp

Choroby krążenia są najczęstszą przyczyną zgonu w krajach zachodnich. Pośród przyczyn zgonów sercowo-naczyniowych przodują te, u podłoża których znajdują się zmiany miażdżycowe, między innymi zawały serca oraz zmiany niedokrwienne ośrodkowego układu nerwowego (OUN). Pierwsze opisy powstawania zmian miażdżycowych pochodzą z końca XIX wieku [1, 2].

Obecnie uznaje się miażdżycę za wynik długotrwałej odpowiedzi obronnej na uszkodzenie śródbłonna i ściany naczyniowej z udziałem czynników wzrostowych oraz produktów oksydacji lipidów frakcji LDL (*low-density lipoprotein*) [2, 3]. Pierwszym etapem choroby jest dysfunkcja śródbłonna, która wiąże się z migracją komórek odpornościowych oraz nasiloną agregacją płytek. Towarzyszy temu odkładanie się w przestrzeni podśródbłonkowej LDL [2, 3], które zatrzymywane są na proteoglikanach [4]. Wskutek nadmiernego nagromadzenia lipoprotein obecne w intymie makrofagi nie są w stanie dostatecznie szybko ich pochłoniąć, a wydzielane przez nie reaktywne form tlenu powodują peroksydację lipidów [5]. Dochodzi więc do modyfikacji zalegających LDL, który to proces dodatkowo nasila wystąpienie stanu zapalnego [6, 7]. Towarzyszy temu spadek syntezy tlenu azotu, pełniącego rolę przeciwzapalną i wazodylatacyjną [8]. Zmodyfikowane LDL są następnie wyłapywane przez receptory zmiatające makrofagów [9], te zaś wskutek przeładowania ulegają stopniowo przemianie w komórki piankowe [10]. Część makrofagów nie podlega jednak przemianie, przez co jest w stanie zaprezentować antygeny limfocytom T, które produkują różne czynniki odpowiadające za dalszy przebieg procesu poprzez między innymi nasilenie stanu zapalnego oraz indukcję proliferacji komórek mięśni gładkich [11, 12].

Współistnienie wymienionych mechanizmów doprowadza do wytworzenia blaszki miażdżycowej [11], która zmniejsza podatność ściany naczynia i prowadzi do zwężenia jego światła.

Jednym z czynników hamujących proces miażdżycowy jest działający przeciwzapalnie transformujący czynnik wzrostu (TGF- β , *transforming growth factor* β), cytokina wydzielana przez limfocyty T-regulatorowe (Treg).

W zdrowych naczyniach, TGF- β 1 hamuje proliferację komórek nabłonkowych oraz komórek mięśni gładkich, przy czym stymuluje ich różnicowanie się [12–14]. Dodatkowo nasila proces apoptozy, aby zapobiec gromadzeniu się nadmiernej liczby komórek, równolegle hamując ekspresję cytokin prozapalnych oraz cząsteczek adhezyjnych na powierzchni naczyń [13, 15, 16]. Większość osoczowego TGF- β 1 pochodzi z ziarnistości płytek krwi. TGF- β 1 jest czynnikiem antyfibrynolitycznym i wzmaga proces naprawy naczyń indukowany przez trombocyty [17, 18].

W początkowym stadium miażdżycy TGF- β 1 działa antyaterogennie. Zapobiega on nadmiernej akumulacji komórek mięśni gładkich w warstwie wewnętrznej naczyń oraz chroni przed pęknięciem blaszki miażdżycowej, pobudzając zarówno syntezę substancji pozakomórkowej,

jak i naprawę tkanki [19, 20]. Co więcej, działa przeciwzapalnie poprzez stymulację funkcji limfocytów Th3 oraz Treg [21].

Na późniejszym etapie choroby TGF- β 1 wykazuje właściwości czynnika proaterogennego [Redondo] [22]. Zwiększa on ilość substancji pozakomórkowej i indukuje patologiczną przebudowę naczyń [23, 24]. W procesie miażdżycy komórki stają się niewrażliwe na szlaki sygnałowe TGF- β 1, ze względu na jego zmniejszoną aktywację oraz zmniejszenie ekspresji jego receptora i białek Smad — czynników transkrypcyjnych regulowanych przez TGF- β 1 [25, 26].

Ważnym elementem procesu miażdżycowego jest mieloperoksydaza (MPO, *myeloperoxidase*) — enzym należący do peroksydaz hemowych. Katalizuje ona reakcję powstawania kwasu podchlorawego, działając bakterio-bójczo i przeciwwirusowo. Enzym ten jest gromadzony w ziarnistościach azurofilnych leukocytów [27]. Działanie MPO prowadzi do powstawania różnego rodzaju reaktywnych form tlenu, które mogą również uszkadzać tkankę gospodarza, poprzez peroksydację lipidów błonowych oraz modyfikację posttranslacyjną białek [27, 28].

Mieloperoksydaza katalizuje proces oksydacji cholesterolu frakcji LDL *in vivo* oraz tworzenia silniej aterogennych form w obrębie ściany tętnicy [29, 30]. Uważa się, że MPO odpowiada za erozję blaszki miażdżycowej [31].

Istotnym modyfikowalnym czynnikiem ryzyka wystąpienia chorób krążenia jest palenie tytoniu [32, 33]. Obecne w dymie wolne rodniki sprzyjają peroksydacji lipidów [34, 35]. Ekspozycja na dym tytoniowy koreluje ponadto z procesami patologicznymi w ścianach naczyń, przebiegających z pojawieniem się stanu zapalnego i zwiększeniem aktywności metaloproteinaz [36], a także zwiększeniem ekspresji molekuł adhezyjnych, takich jak VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*) [37]. Palenie tytoniu obniża też stężenie tlenu azotu, który odpowiedzialny jest za wazodylatację i hamowanie odpowiedzi zapalnej [8].

Celem pracy była ocena wpływu ekspozycji na dym tytoniowy na wybrane parametry związane z patogenezą miażdżycy u pacjentów poddanych zabiegowi endarterektomii, z powodu zmniejszonej drożności tętnic szyjnych.

Ekspozycję na dym tytoniowy oceniono za pomocą oznaczenia w surowicy krwi kotyniny, głównego metabolitu nikotyny w organizmie ludzkim, którego stężenie uznawane jest za wiarygodny marker narażenia na dym tytoniowy. Do przebadanych parametrów należały krążące we krwi lipoproteiny, TGF- β 1, MPO.

Materiały i metody

Badanie objęło 92 osoby w wieku od 47 do 82 lat. Pacjenci byli hospitalizowani w latach 2005–2009 w Klinice Chirurgii Ogólnej i Naczyniowej w Bytomiu, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach z powodu zwężenia tętnic szyjnych wewnętrznych. Pacjenci zakwalifikowani do zabiegu operacyjnego udroźnienia zwężeń miażdżycowo zmienionych tętnic szyjnych byli diagnozowani na podstawie wywiadu, wyników badania klinicznego,

Tabela I. Ogólna charakterystyka grupy badanej. Normalność oceniono za pomocą testu W Shapiro-Wilka, rozkład normalny w zmiennej wiek, pozostałe zmienne — rozkład inny niż normalny

	K (n = 15 (16,3%))	M (n = 77 (83,7%))	Razem (n = 92 (100%))
Wiek	65,6 (6,24)	65,40 (6,12)	65,43 (6,11)
BMI	21,94 (21,22–25,34)	26,87 (25,25–28,09)	26,50 (24,62–28,09)
Kotynina	6,2 (4,6–10,1)	91,2 (7,8–141,7)	64,3 (6,2–136,5)
Akt. palacz	3 (20 %)	46 (59,7%)	49 (53,3%)

neurologicznego, okulistycznego oraz badania ultrasonograficznego z podwójnym obrazowaniem. Chirurgiczne udrażnianie zwężeń tętnic szyjnych wewnętrznych (endarterektomia szyjna) wykonywano u chorych z objawami niedokrwienna ośrodkowego układu nerwowego (OUN) oraz bez tych objawów jako przygotowanie do innego planowanego zabiegu operacyjnego. Charakterystykę pacjentów zakwalifikowanych do badania przedstawiono w tabeli I.

U wszystkich biorących udział w badaniach wykluczono proces zapalny. Osoby, które zostały zakwalifikowane do badań, zostały poinformowane o charakterze i celu badań, a swoją zgodę wyraziły pisemnie na odpowiednich formularzach i zgodnie z zaleceniami Komisji Bioetycznej.

Projekt badań został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach nr NN-013-94/II/01/05. Program badawczy został sfinansowany przez Komitet Badań Naukowych — grant 1419/B/PO1/2007/33 oraz Śląski Uniwersytet Medyczny i zrealizowany w latach 2005–2009.

Krew pobierano na czczo w godzinach porannych. Po odwirowaniu surowicy i osocze zamrażano w temperaturze -75°C .

Wszystkie oznaczenia biochemiczne wykonano w Katedrze i Zakładzie Biologii Medycznej i Molekularnej w Zabrzu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.

U badanych wykonano oznaczenie cholesterolu całkowitego i triacylogliceroli metodami enzymatycznymi (Cormay, Polska). Stężenia HDL (*high density lipoprotein*) i LDL oznaczono metodami bezpośrednimi (Randox, UK) na autoanalyzerze Lumen. Stężenie Lp(a) oznaczono metodą immunoturbidymetryczną. Stężenie kotyniny w surowicy krwi oznaczono metodą ELISA przy użyciu zestawu firmy Salimetrics (USA). Ocenę stężeń transformującego czynnika wzrostu β_1 (TGF- β_1) oraz mieloperoksydazy wykonano metodą ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) przy użyciu komercyjnych zestawów firmy Quantikine Immunoassay, R&D Systems, USA.

Analizę statystyczną wykonano przy użyciu oprogramowania STATISTICA 12.5 (STATSOFT). Dane zaprezentowano jako średnią \pm odchylenie standardowe dla zmiennych o rozkładzie normalnym oraz medianę z rozstępem kwartylowym w przypadku innego rozkładu. Normalność badano testem W Shapiro-Wilka. Porównanie badanych zmiennych przeprowadzono z zastosowaniem testu t dla danych parametrycznych oraz U-Manna-Whitneya dla danych o rozkładzie innym niż normalny.

Tabela II. Stężenia badanych substancji wśród palaczy i niepalących

	Palacze (n = 49)	Niepalący (n = 43)	p
Wiek	64,35 (6,39)	66,67 (5,58)	0,07
Kotynina [ng/ml]	134,6 (119,8–151,2)	6,2 (4,7–8,5)	< 0,05
HDL [mg/dl]	44 (41–48)	46 (42–48)	> 0,05
TCh [mg/dl]	246 (229–265)	251 (232–266)	> 0,05
LDL [mg/dl]	171 (157–178)	170 (157–179)	> 0,05
TG [mg/dl]	172 (158–189)	167 (154–190)	> 0,05
Lp(a) [mg/dl]	17,1 (10,8–19,2)	17,4 (12,8–19,1)	> 0,05
TGF β_1 [pg/ml]	40,23 (39,13–42,56)	48,39 (39,32–56,6)	< 0,05
MPO [ng/ml]	59,47 (58,11–84,51)	58,82 (53,99–73,22)	> 0,05

Tabela III. Korelacje stężeń wybranych substancji ze stężeniem kotyniny wśród niepalących oraz palaczy. Wartości istotne statystycznie pogrubiono. *Korelacja między kotyniną a TGF- β_1 okazała się granicznie istotna ($p = 0,06$)

Akt palacz	Kotynina	
	+	–
MPO	0,357852	–0,058661
TGF- β_1	–0,266840*	–0,006572

Korelacje obliczono z zastosowaniem współczynnika korelacji rang Spearmana.

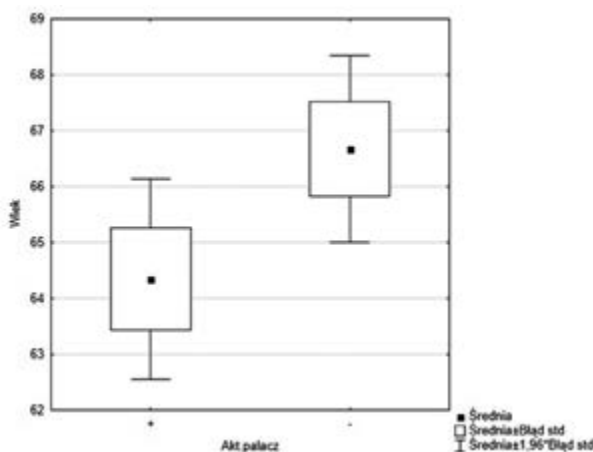
Wyniki

Nie zaobserwowano różnic w stopniu zwężenia tętnic między palaczami a osobami niepalącymi. Stężenie kotyniny w surowicy krwi wśród palaczy było istotnie wyższe niż wśród osób niepalących. Istotnie wyższe okazało się stężenie TGF- β_1 u osób niepalących. Nie zaobserwowano istotnych różnic w stężeniach LDL, HDL, triglicerydów, Lp(a) ani cholesterolu całkowitego w zależności od grupy. Wśród osób palących stężenie kotyniny okazało się korelować w stopniu istotnym ze stężeniem MPO ($p < 0,05$). Podobnej zależności nie zaobserwowano wśród osób niepalących. Granicznie istotną korelację zaobserwowano między stężeniem kotyniny a TGF- β_1 ($p = 0,06$). Średni wiek aktywnych palaczy w grupie badanej jest granicznie istotnie niższy niż osób niepalących ($p = 0,06$).

Dyskusja

Miażdżycza tętnic szyjnych jest najczęstszą przyczyną powikłań niedokrwiennych ośrodkowego układu nerwowego, prowadzących nieraz do inwalidztwa lub śmierci pacjenta. Istnieje wiele czynników modyfikowalnych oraz niemodyfikowalnych. Do czynników niemodyfikowalnych należą wiek, płeć oraz uwarunkowania genetyczne, do modyfikowalnych z kolei zalicza się między innymi otyłość, zwiększone stężenie LDL, niskie stężenia HDL oraz palenie tytoniu [38].

Uzależnienie od tytoniu zasługuje na szczególną uwagę. Dym tytoniowy zawiera szereg toksycznych substan-



Rycina 1. Średni wiek pacjentów w zależności od stosowania papierosów. Dane przedstawiono jako średnie z SD, wąsy oznaczają 1,96* SD

cji, przyczyniających się do rozwoju między innymi chorób płuc, krążenia oraz nowotworów złośliwych. Palenie przyczynia się do nasilenia uszkodzeń i stanu zapalnego w obrębie śródbłonna, stanowiących pierwszy etap rozwoju blaszki miażdżycowej [39]. Ponadto palenie przyczynia się do niekorzystnych zmian stężeń lipoprotein w osoczu, prowadząc do wzrostu frakcji LDL oraz spadku stężenia HDL [37]. Wyższe stężenie LDL sprzyja jego agregacji w warstwie podśródbłonkowej, gdzie następnie jest wyłapywany przez receptory wymiatające makrofagów. Nadmiar LDL prowadzi do przesylenia tego mechanizmu i zalegania LDL w ścianie naczynia. Pod wpływem wydzielanych przez makrofagi oraz leukocyty reaktywnych form tlenu następuje peroksydacja lipidów, w której istotną rolę odgrywa enzym MPO, odpowiadający za powstawanie reaktywnych form tlenu w warunkach odpowiedzi zapalnej.

W niniejszym badaniu zaobserwowano istotną statystycznie korelację stężenia MPO z kotyniną. Podobna zależność była już opisywana przez innych autorów [40]. U podłoża tej zależności leży fakt, że palenie tytoniu przyczynia się do wzrostu uszkodzeń śródbłonna, co w konsekwencji prowadzi do nasilenia reakcji zapalnej i wzrostu stężenia MPO, co przyczynia się do przyspieszenia procesu tworzenia blaszki miażdżycowej.

Dalszym etapem powstawania blaszki miażdżycowej jest prezentacja przez makrofagi antygenów powstałych w procesie peroksydacji lipidów, co doprowadza do migracji limfocytów T wydzielających różne czynniki nasilające odpowiedź zapalną oraz stymulujących proliferację mięśniówki gładkiej naczynia [41]. Jedną z substancji wydzielanych przez limfocyty T (konkretnie T-regulacyjne) jest TGF- β 1. Wykazuje on w przebiegu miażdżycy zróżnicowane działanie. W stężeniach niskich stymuluje on proliferację, z kolei w wysokich staje się jej inhibitorem. Uważa się, że we wczesnej fazie zmian miażdżycowych wysokie stężenia TGF- β 1 wykazują działanie protekcyjne na ścianę naczynia, natomiast obserwacje kliniczne wskazują na związek jego obniżenia z postępowaniem choroby [22].

Zaobserwowano istotnie niższe stężenie TGF- β 1 wśród osób palących w porównaniu z niepalącymi. Podobne wyniki obserwowali dotychczas inni autorzy. Stężenie TGF- β 1 ujemnie korelowało ze stężeniem kotyniny w stopniu granicznie istotnym ($p = 0,06$). Podobne wyniki były dotychczas obserwowane przez innych autorów [42, 43]. Funkcja fizjologiczna TGF- β 1 jest zależna od jego stężenia.

Granicznie istotna okazała się różnica wieku pacjentów palących i niepalących. Za wcześniejszym wystąpieniem objawów choroby u palaczy przemawiają opisywane powyżej mechanizmy przyspieszania przez substancje dymu tytoniowego przebiegu zmian miażdżycowych. Pacjenci palący charakteryzują się niższym stężeniem TGF- β 1, co wskazuje na bardziej nasilony proces proliferacji mięśniówki gładkiej, ponadto stężenie TGF- β 1 w stopniu granicznie istotnym koreluje z osoczym stężeniem kotyniny, co przemawia za związkiem wydzielania TGF- β 1 z liczbą wypalanych papierosów.

Podsumowując, palenie tytoniu przyczynia się do szybszego przebiegu i wystąpienia objawów klinicznych miażdżycy tętnic szyjnych poprzez nasilenie procesu zapalnego w obrębie śródbłonna oraz proliferacji mięśniówki gładkiej.

Piśmiennictwo

1. Fan J, Watanabe T. Inflammatory reactions in the pathogenesis of atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2003; 10(2): 63–71, doi: [10.5551/jat.10.63](https://doi.org/10.5551/jat.10.63), indexed in Pubmed: [12740479](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12740479/).
2. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005; 352(16): 1685–1695, doi: [10.1056/NEJMra043430](https://doi.org/10.1056/NEJMra043430), indexed in Pubmed: [15843671](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15843671/).
3. Libby P. Current Concepts of the Pathogenesis of the Acute Coronary Syndromes. *Circulation.* 2001; 104(3): 365–372, doi: [10.1161/01.cir.104.3.365](https://doi.org/10.1161/01.cir.104.3.365).
4. Borén J, Olin K, Lee I, et al. Identification of the principal proteoglycan-binding site in LDL. A single-point mutation in apo-B100 severely affects proteoglycan interaction without affecting LDL receptor binding. *J Clin Invest.* 1998; 101(12): 2658–2664, doi: [10.1172/JCI2265](https://doi.org/10.1172/JCI2265), indexed in Pubmed: [9637699](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9637699/).
5. Libby P, Ridker PM, Maseri A, et al. Inflammation and Atherosclerosis. *Circulation.* 2002; 105(9): 1135–1143, doi: [10.1161/hc0902.104353](https://doi.org/10.1161/hc0902.104353), indexed in Pubmed: [11877368](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11877368/).
6. Pentikäinen MO, Oörni K, Ala-Korpela M, et al. Modified LDL - trigger of atherosclerosis and inflammation in the arterial intima. *J Intern Med.* 2000; 247(3): 359–370, doi: [10.1046/j.1365-2796.2000.00655.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.2000.00655.x), indexed in Pubmed: [10762453](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10762453/).
7. Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res.* 2002; 43(9): 1363–1379, doi: [10.1194/jlr.r200004-jlr200](https://doi.org/10.1194/jlr.r200004-jlr200), indexed in Pubmed: [12235168](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12235168/).
8. Li H, Horke S, Förstermann U. Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2014; 237(1): 208–219, doi: [10.1016/j.atherosclerosis.2014.09.001](https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.09.001), indexed in Pubmed: [25244505](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25244505/).
9. Ishikawa Y, Kimura-Matsumoto M, Murakami M, et al. Distribution of smooth muscle cells and macrophages expressing scavenger receptor BI/II in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb.* 2009; 16(6): 829–839, doi: [10.5551/jat.1941](https://doi.org/10.5551/jat.1941), indexed in Pubmed: [20032583](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20032583/).
10. Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res.* 2005; 96(12): 1221–1232, doi: [10.1161/01.RES.0000170946.56981.5c](https://doi.org/10.1161/01.RES.0000170946.56981.5c), indexed in Pubmed: [15976321](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15976321/).

11. Hansson GK, et al. Immune and inflammatory mechanisms in the pathogenesis of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21(12): 1876–1890, indexed in Pubmed: [11742859](#).
12. Shishebor MH, Bhatt DL. Inflammation and atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep.* 2004; 6(2): 131–139, doi: [10.1007/s11883-004-0102-x](#), indexed in Pubmed: [15023298](#).
13. Ruiz E, Redondo S, Gordillo-Moscoso A, et al. Pioglitazone induces apoptosis in human vascular smooth muscle cells from diabetic patients involving the transforming growth factor-beta/activin receptor-like kinase-4/5/7/Smad2 signaling pathway. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007; 321(2): 431–438, doi: [10.1124/jpet.106.114934](#), indexed in Pubmed: [17267584](#).
14. Jaffe M, Sesti C, Washington IM, et al. Transforming growth factor- β signaling in myogenic cells regulates vascular morphogenesis, differentiation, and matrix synthesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012; 32(1): e1–11, doi: [10.1161/ATVBAHA.111.238410](#), indexed in Pubmed: [21979435](#).
15. Feinberg MW, Watanabe M, Lebedeva MA, et al. Transforming growth factor-beta1 inhibition of vascular smooth muscle cell activation is mediated via Smad3. *J Biol Chem.* 2004; 279(16): 16388–16393, doi: [10.1074/jbc.M309664200](#), indexed in Pubmed: [14754879](#).
16. Walshe TE, Dole VS, Maharaj ASR, et al. Inhibition of VEGF or TGF- β signaling activates endothelium and increases leukocyte rolling. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009; 29(8): 1185–1192, doi: [10.1161/ATVBAHA.109.186742](#), indexed in Pubmed: [19461051](#).
17. Grainger DJ, Mosedale DE, Metcalfe JC, et al. Active and acid-activatable TGF-beta in human sera, platelets and plasma. *Clin Chim Acta.* 1995; 235(1): 11–31, doi: [10.1016/0009-8981\(94\)05995-4](#), indexed in Pubmed: [7634487](#).
18. Meyer A, Wang W, Qu J, et al. Platelet TGF- β 1 contributions to plasma TGF- β 1, cardiac fibrosis, and systolic dysfunction in a mouse model of pressure overload. *Blood.* 2012; 119(4): 1064–1074, doi: [10.1182/blood-2011-09-377648](#), indexed in Pubmed: [22134166](#).
19. Lutgens E, Gijbels M, Smook M, et al. Transforming growth factor-beta mediates balance between inflammation and fibrosis during plaque progression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22(6): 975–982, doi: [10.1161/01.atv.0000019729.39500.2f](#), indexed in Pubmed: [12067907](#).
20. Dai J, Michineau S, Franck G, et al. Long term stabilization of expanding aortic aneurysms by a short course of cyclosporine A through transforming growth factor-beta induction. *PLoS One.* 2011; 6(12): e28903, doi: [10.1371/journal.pone.0028903](#), indexed in Pubmed: [22194945](#).
21. Ji Qw, Guo M, Zheng Js, et al. Downregulation of T helper cell type 3 in patients with acute coronary syndrome. *Arch Med Res.* 2009; 40(4): 285–293, doi: [10.1016/j.arcmed.2009.04.002](#), indexed in Pubmed: [19608018](#).
22. Redondo S, Navarro-Dorado J, Ramajo M, et al. The complex regulation of TGF- β in cardiovascular disease. *Vasc Health Risk Manag.* 2012; 8: 533–539, doi: [10.2147/VHRM.S28041](#), indexed in Pubmed: [23028232](#).
23. Kieć-Wilk B, Stolarz-Skrzypek K, Sliwa A, et al. Peripheral blood concentrations of TGF β 1, IGF-1 and bFGF and remodelling of the left ventricle and blood vessels in hypertensive patients. *Kardiol Pol.* 2010; 68(9): 996–1002, indexed in Pubmed: [20859888](#).
24. Palleri MA, Talbert Roden M, Chen YF, et al. Stainless steel ions stimulate increased thrombospondin-1-dependent TGF-beta activation by vascular smooth muscle cells: implications for in-stent restenosis. *J Vasc Res.* 2010; 47(4): 309–322, doi: [10.1159/000265565](#), indexed in Pubmed: [20016205](#).
25. McCaffrey TA, Du B, Fu C, et al. The expression of TGF-beta receptors in human atherosclerosis: evidence for acquired resistance to apoptosis due to receptor imbalance. *J Mol Cell Cardiol.* 1999; 31(9): 1627–1642, doi: [10.1006/jmcc.1999.0999](#), indexed in Pubmed: [10471347](#).
26. Sakamoto Yi, Miyazaki A, Tamagawa H, et al. Specific interaction of oxidized low-density lipoprotein with thrombospondin-1 inhibits transforming growth factor-beta from its activation. *Atherosclerosis.* 2005; 183(1): 85–93, doi: [10.1016/j.atherosclerosis.2005.02.032](#), indexed in Pubmed: [15907858](#).
27. Klebanoff SJ. Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. *Ann Intern Med.* 1980; 93(3): 480–489, indexed in Pubmed: [6254418](#).
28. Zhang R, Brennan ML, Shen Z, et al. Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation. *J Biol Chem.* 2002; 277(48): 46116–46122, doi: [10.1074/jbc.M209124200](#), indexed in Pubmed: [12359714](#).
29. Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase, modified lipoproteins, and atherogenesis. *J Lipid Res.* 2009; 50 Suppl: S346–S351, doi: [10.1194/jlr.R800086-JLR200](#), indexed in Pubmed: [19091698](#).
30. Hazen SL, Heinecke JW. 3-Chlorotyrosine, a specific marker of myeloperoxidase-catalyzed oxidation, is markedly elevated in low density lipoprotein isolated from human atherosclerotic intima. *J Clin Invest.* 1997; 99(9): 2075–2081, doi: [10.1172/JCI119379](#), indexed in Pubmed: [9151778](#).
31. Niccoli G, Dato I, Crea F. Myeloperoxidase may help to differentiate coronary plaque erosion from plaque rupture in patients with acute coronary syndromes. *Trends Cardiovasc Med.* 2010; 20(8): 276–281, doi: [10.1016/j.tcm.2011.12.008](#), indexed in Pubmed: [22433655](#).
32. Ali M, Li Y, O'Neal WT, et al. Tobacco Exposure as Determined by Serum Cotinine and Subclinical Myocardial Injury in Individuals Free from Cardiovascular Disease. *Am J Cardiol.* 2017; 120(7): 1114–1117, doi: [10.1016/j.amjcard.2017.06.050](#), indexed in Pubmed: [28781027](#).
33. Al Rifai M, DeFilippis AP, McEvoy JW, et al. The relationship between smoking intensity and subclinical cardiovascular injury: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis.* 2017; 258: 119–130, doi: [10.1016/j.atherosclerosis.2017.01.021](#), indexed in Pubmed: [28237909](#).
34. Garbin U, Fratta Pasini A, Stranieri C, et al. Cigarette smoking blocks the protective expression of Nrf2/ARE pathway in peripheral mononuclear cells of young heavy smokers favouring inflammation. *PLoS One.* 2009; 4(12): e8225, doi: [10.1371/journal.pone.0008225](#), indexed in Pubmed: [20011043](#).
35. Yamaguchi Yu, Matsuno S, Kagota S, et al. Peroxynitrite-mediated oxidative modification of low-density lipoprotein by aqueous extracts of cigarette smoke and the preventive effect of fluvastatin. *Atherosclerosis.* 2004; 172(2): 259–265, doi: [10.1016/j.atherosclerosis.2003.09.030](#), indexed in Pubmed: [15019535](#).
36. Kangavari S, Matetzky S, Shah PK, et al. Smoking increases inflammation and metalloproteinase expression in human carotid atherosclerotic plaques. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2004; 9(4): 291–298, doi: [10.1177/107424840400900410](#), indexed in Pubmed: [15678248](#).
37. Cavusoglu Y, Timuralp B, Us T, et al. Cigarette smoking increases plasma concentrations of vascular cell adhesion molecule-1 in patients with coronary artery disease. *Angiology.* 2004; 55(4): 397–402, doi: [10.1177/000331970405500406](#), indexed in Pubmed: [15258685](#).
38. Siasos G, Tsigkou V, Kokkou E, et al. Smoking and atherosclerosis: mechanisms of disease and new therapeutic approaches. *Curr Med Chem.* 2014; 21(34): 3936–3948, doi: [10.2174/092986732134141015161539](#), indexed in Pubmed: [25174928](#).
39. Messner B, Bernhard D. Smoking and cardiovascular disease: mechanisms of endothelial dysfunction and early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014; 34(3): 509–515, doi: [10.1161/ATVBAHA.113.300156](#), indexed in Pubmed: [24554606](#).

40. Sirpal S. Myeloperoxidase-mediated lipoprotein carbamylation as a mechanistic pathway for atherosclerotic vascular disease. *Clin Sci (Lond)*. 2009; 116(9): 681–695, doi: [10.1042/CS20080322](https://doi.org/10.1042/CS20080322), indexed in Pubmed: [19323651](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19323651/).
41. Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nat Rev Immunol*. 2006; 6(7): 508–519, doi: [10.1038/nri1882](https://doi.org/10.1038/nri1882), indexed in Pubmed: [16778830](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16778830/).
42. Cucina A, Sapienza P, Corvino V, et al. Nicotine-induced smooth muscle cell proliferation is mediated through bFGF and TGF-beta 1. *Surgery*. 2000; 127(3): 316–322, doi: [10.1067/msy.2000.104249](https://doi.org/10.1067/msy.2000.104249), indexed in Pubmed: [10715988](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10715988/).
43. Liu CC, Yeh HI. Nicotine: A Double-Edged Sword in Atherosclerotic Disease. *Acta Cardiol Sin*. 2014; 30(2): 108–113, indexed in Pubmed: [27122776](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27122776/).

Adres do korespondencji:

Elzbieta Świętochowska
ul. Jordana 19, 41–808 Zabrze-Rokitnica
tel.: +48 32 272 21 71
e-mail: biolmedzab@sum.edu.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 30.01.2017 r.