

ZNACZENIE LIPOPOLISACHARYDU BAKTERYJNEGO W PROCESIE AKTYWACJI PŁYTEK KRWI*

THE ROLE OF BACTERIAL LIPOPOLYSACCHARIDE IN PROCESS OF PLATELET ACTIVATION

Joanna SALUK-JUSZCZAK

Katedra Biochemii Ogólnej Uniwersytetu Łódzkiego

Streszczenie: Endotoksyna (lipopolisacharyd, LPS) bakterii Gram-ujemnych stanowi ważny czynnik zapalenia. Stymuluje komórki zapalne, w tym płytki krwi do produkcji mediatorów zapalnych. Niekontrolowany rozwój reakcji zapalnych może doprowadzić do zaburzenia homeostazy organizmu, powodować sepsę i szok septyczny, a w konsekwencji nawet śmierć organizmu. Płytki krwi odgrywają istotną rolę nie tylko w prawidłowym przebiegu hemostazy, ale także w zapaleniu oraz w patogenezie szoku septycznego. W wyniku aktywacji płytek dochodzi do ich adhezji, agregacji i sekrecji aktywnych biologicznie czynników płytkowych. LPS powoduje aktywację płytek poprzez udział mediatorów zapalnych i przypuszczalnie ma również zdolność bezpośredniego oddziaływania z płytkami krwi. W prezentowanej pracy opisano udział płytek w stanach zapalnych i w biologicznej aktywności lipopolisacharydu oraz przedstawiono reakcję płytek na bezpośrednie działanie LPS.

Słowa kluczowe: płytki krwi, aktywacja płytek krwi, lipopolisacharyd (LPS, endotoksyna), stan zapalny.

Summary: Endotoxin (lipopolysaccharide, LPS) of Gram-negative bacteria is the important initiating agent of inflammation. LPS stimulates inflammatory cells, including blood platelets, to production of secondary mediators of inflammation. The uncontrolled development of inflammation is responsible for pathophysiological reactions; leads to sepsis and septic shock and even to death. Blood platelets play an important role not only in haemostasis but also in inflammation and in pathogenesis of septic shock. Activation of blood platelets leads to platelets adhesion, aggregation and secretion of proinflammatory agents. LPS activates blood platelets by inflammatory mediators released from other cells and probably can directly interact with blood platelets. This review presents the role of blood platelets in inflammation and in biological activity of lipopolysaccharide and direct influence of its on blood platelet functions.

Key words: blood platelets, activation of blood platelets, lipopolysaccharide (LPS, endotoxin), infection.

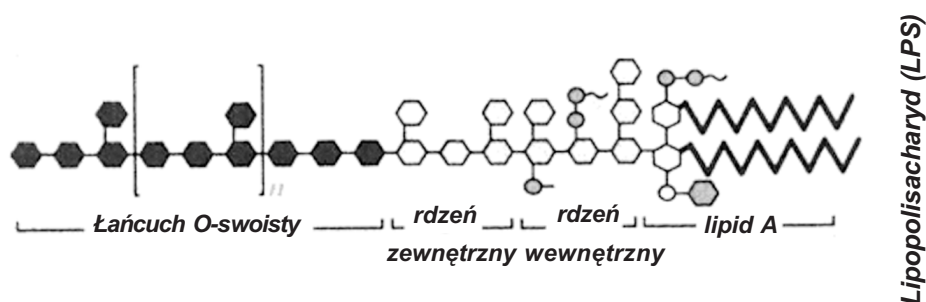
*Praca finansowana z grantu Uniwersytetu Łódzkiego 506/810.

WSTĘP

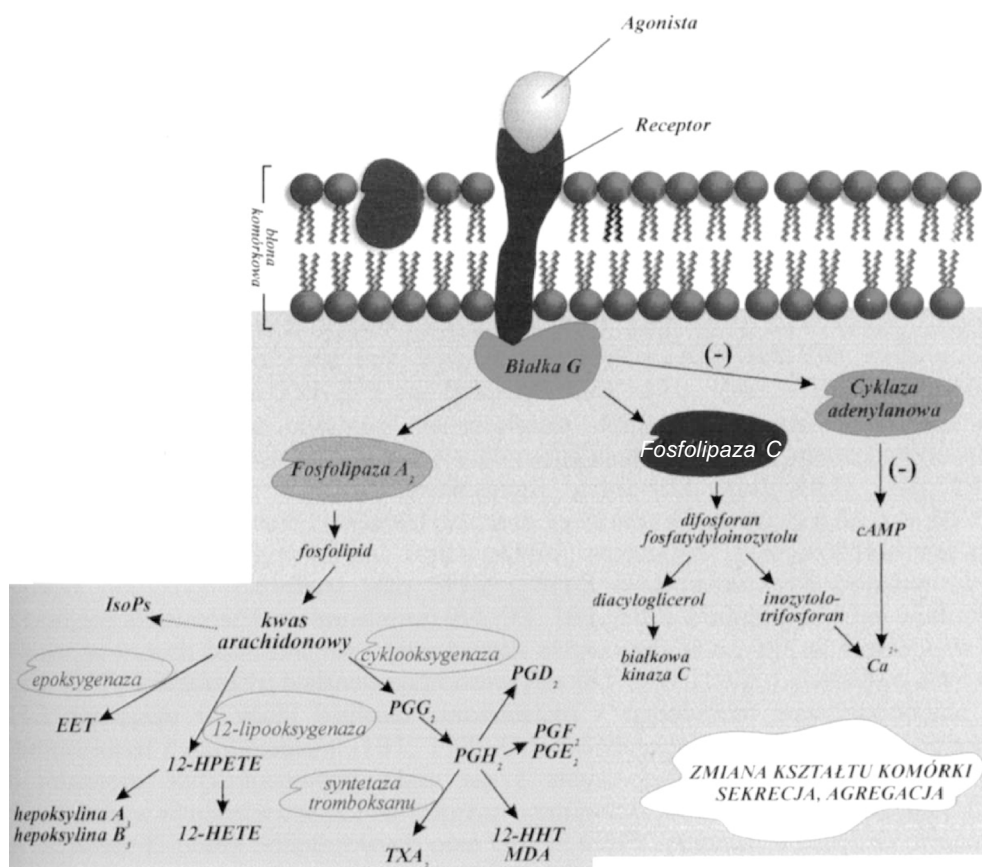
Endotoksyny bakteryjne (lipopolisacharydy, LPS), charakterystyczne dla bakterii Gram-ujemnych, są czynnikami chorobotwórczymi odpowiedzialnymi za patogenność tych drobnoustrojów [69]. Ogólny schemat budowy cząsteczek LPS jest zbliżony dla każdego rodzaju bakterii Gram-ujemnych (ryc. 1). Lipopolisacharyd jest heteropolimerem, w którym część hydrofobowa, zwana lipidem A, połączona jest kowalencyjnie z hydrofilowym fragmentem heteropolisacharydu [78]. LPS stanowi główny składnik zewnętrznej błony białkowo-lipidowej, która tworzy zewnętrzną barierę fizyczną efektywnie ograniczającą wnikanie do komórki bakteryjnej związków hydrofobowych, w tym także antybiotyków [16]. Ponadto LPS chroni błonę cytoplazmatyczną mikroorganizmów przed działaniem zaktywowanego dopełniacza oraz stanowi ochronę bakterii przed komórkami żernymi [36, 37]. Niekorzystne działanie endotoksyn na organizm gospodarza utrzymuje się pomimo śmierci komórek bakteryjnych, gdyż liza bakterii, wywołana np. stosowaniem leku, pozwala na uwolnienie LPS z ich ściany komórkowej i wzmacnia toksyczne działanie endotoksyn [6]. Dostające się do organizmu cząsteczki LPS wywołują szereg oddziaływań biologicznych indukując zarówno fizjologiczne, jak i morfologiczne zmiany w tkankach. Objawy działania LPS, które zależą od gatunku zakażonego organizmu oraz od szczepu bakteryjnego, z którego pochodzą endotoksyny, mogą obejmować zarówno odczyn miejscowy, jak i uogólniony prowadzący do zaburzeń homeostazy oraz do szoku septycznego [3]. Jest to wynikiem stymulowania komórek immunologicznie kompetentnych zakażonego organizmu do wytwarzania mediatorów zapalnych uczestniczących w kaskadzie procesów prowadzących do sepsy i szoku septycznego [26, 41]. Mediatory zapalne wydzielane w wyniku oddziaływania LPS z makrofagami, monocytami, granulocytami, komórkami śródbłonna naczyń krwionośnych oraz z płytkami krwi wywołują i wzmacniają swoistą i nieswoistą odpowiedź immunologiczną organizmu [2, 10]. Ich działanie może powodować: trombocytopenię, hiperglikemię, leukopenię z następującą leukocytozą, nadciśnienie płucne, obniżenie ciśnienia krwi, krwawienia czy powstawanie zakrzepów oraz indukowanie szoku septycznego związanego z zaburzeniami krążenia, prowadzącymi do powstania DIC (ang. *Disseminated Intravascular Coagulation*) i do dysfunkcji wielonarządowej, a w konsekwencji nawet do śmierci [9, 15, 31]. Mediatorami zapalnymi mogą być różnorodne związki chemiczne, takie jak: peptydy, białka, lipidy oraz wolne rodniki; są wśród nich cytokiny, enzymy, eikozanoidy i czynniki prokoagulacyjne [25, 38]. Mediatory zapalne działają jednocześnie lub w odpowiedniej sekwencji wywołując szereg różnorodnych efektów biologicznych w miejscu ich uwolnienia lub rozprzestrzeniając się wraz z krążącą krwią [55, 86]. Mediatory, działając jako cząsteczki przekaźnikowe, uruchamiają kaskadę reakcji, w którą zostają włączone komórki nieoddziałujące bezpośrednio z LPS [19, 24]. Może to dotyczyć płytek krwi, które wykazując cechy typowych komórek zapalnych odgrywają istotną rolę w zapaleniu, ale których bezpośrednie oddziaływanie z LPS nie zostało dotychczas wyjaśnione [27, 91, 93].

ROLA PŁYTEK KRWI W STANACH ZAPALNYCH

Płytki krwi to najmniejsze bezjądrzaste elementy morfotyczne krwi o aktywnym metabolizmie i charakterystycznej strukturze wewnętrznej związanej głównie z udziałem tych komórek w procesie hemostazy [56–58]. Oprócz typowych organelli komórkowych, takich jak: mitochondria, aparat Golgiego, siateczka śródplazmatyczna, peroksosomy czy lizosomy, płytka krwi ma liczne ziarnistości. Są to ziarnistości α , z których w procesie sekrecji zostaje uwolnionych wiele białek w tym białka adhezyjne (fibrinogen, fibronektyna, trombospondyna) i inne: albumina, osoczowe czynniki krzepnięcia, czynniki wzrostu i cytokiny oraz ziarnistości osmofilne o dużej gęstości elektronowej zawierające ADP, ATP, GDP, GTP, Ca^{+2} , Mg^{+2} , serotoninę, histaminę i fosfoinozytole [56, 57, 61]. Płytki krwi, o których wiadomo, że uczestniczą głównie w utrzymaniu hemostazy i procesach krzepnięcia, cechują właściwości typowych komórek zapalnych [56, 59, 63]. Są one narażone na działanie wielu, różnorodnych pod względem chemicznym związków obecnych w krwioobiegu i stanowią ważny czynnik zapalenia [27, 93]. Pod wpływem różnych agonistów płytki krwi ulegają aktywacji (ryc. 2). Wśród fizjologicznych aktywatorów płytek krwi istotne znaczenie odgrywają m.in. trombina, ADP, PAF (ang. *Platelet Activation Factor*), tromboksan A_2 (TXA_2), kolagen, adrenalina, serotonina i jony Ca^{+2} [11]. Aktywacja płytek, pomimo braku jądra komórkowego, jest procesem bardzo złożonym (ryc. 2), związanym z transdukcją sygnału i aktywacją wielu enzymów komórkowych oraz fosforylacją różnorodnych białek [11, 44, 64]. Błona komórkowa płytki krwi, stabilizowana cytoszkieletem w postaci mikrotubul, zawiera szereg glikoprotein receptorowych sprzężonych z elementami enzymatycznych łańcuchów przekazywania sygnałów [58]. Pomimo różnic w budowie i właściwościach agonistów, fizjologiczna odpowiedź płytek zawsze prowadzi do zmiany kształtu tych komórek, adhezji, sekrecji zmagazynowanych związków i tworzenia agregatów [11, 22, 44]. Zmianom morfologicznym towarzyszą w procesie aktywacji płytek przemiany biochemiczne: kaskadowa przemiana kwasu arachidonowego, zmiana stężenia cAMP i cGMP, aktywacja kinaz i fosforylacja białek, powstawanie reaktywnych form tlenu (RFT) i przemiana fosfatydyloinozytolu [44, 64]. Wzmoczoną aktywację płytek obserwuje



RYCINA 1. Schemat budowy lipopolisacharydu bakterii Gram-ujemnych. W cząsteczce LPS wyróżnić można fragment hydrofobowy tzw. lipid A oraz region hydrofilowy złożony z rdzenia cukrowego i z O-swoistego łańcucha polisacharydowego



RYCINA 2. Schemat przedstawiający transdukcję sygnału w stymulowanych płytkach krwi, związaną z metabolizmem fosfolipidów błonowych oraz kaskadą kwasu arachidonowego. Aktywacja płytek krwi zainicjowana działaniem agonisty prowadzi do aktywacji fosfolipazy A_2 , która działając na fosfolipidy uwalnia z nich kwas arachidonowy. Kwas arachidonowy ulega przemianom przy udziale cyklooksygenazy, w wyniku czego powstają nadtlenki prostaglandyn (PGG_2 i PGH_2), a z nich pod wpływem syntetazy tromboksanu A_2 tworzy się TXA_2 . PGG_2 i PGH_2 ulegają ponadto przemianom enzymatycznym do PGD_2 oraz PGF_2 i PGE_2 , a w drodze nieenzymatycznej do kwasu 12-HHT oraz dialdehydu malonowego (MDA). Kwas arachidonowy jest również metabolizowany przy udziale 12-lipooksygenazy, co prowadzi do wytworzenia hydroksykwasów (12-HPETE i 12-HETE), a także hepoksylin A_3 i B_3 . Przemiana arachidonianu katalizowana przez epoksygenazę prowadzi do powstania kwasów epoksyekozatrienowych (EET). W drodze nieenzymatycznej z kwasu arachidonowego mogą powstawać izoprostany (IsoPs). Aktywacja fosfolipazy C prowadzi do powstania wtórnych przekazników: diacyloglicerolu uczynniającego białkową kinazę C oraz inozytolo-trifosforanu zwiększającego wewnątrzkomórkowe stężenie jonów Ca^{+2} . Hamowanie cyklazy adenylanowej przez agonistów obniża stężenie cAMP i stymuluje aktywację. Aktywacja płytek prowadzi do zmiany kształtu komórek, sekrecji związków zmagazynowanych w ziarnistościach płytek oraz do agregacji (schemat opracowany przez zespół Katedry Biochemii Ogólnej Uniwersytetu Łódzkiego)

się w wielu stanach patologicznych, m.in. w miażdżycy [87], w chorobach nowotworowych [56] oraz w stanach zapalnych [32]. Udział płytek krwi w procesach zapalnych związany jest z ich adhezją, agregacją i sekrecją wywołaną przez czynniki nefizjologiczne, takie jak: komórki bakteryjne, toksyny, enzymy (trypsynę i neuraminidazę), wirusy, jady węzów, kwasy tłuszczowe, kompleksy antygen-przeciwciała oraz niektóre komórki nowotworowe [28, 32]. Skutkiem działania tych czynników na płytki jest wydzielanie aktywnych biologicznie czynników płytkowych, głównie cytokin zapalnych, takich jak: IL-1 (*InterLeukina-1*), RANTES (ang. *Regulated upon Activation Normal T Cell Expressed and Secreted*), PDGF (ang. *Platelet Derived Growth Factor*), TGF β (ang. *Transforming Growth Factor β*), PF4 (ang. *Platelet Factor 4*) oraz β TG (ang. *β TromboGlobulin*) [27, 42], a także serotoniny i histaminy wywołujących skurcz naczyń krwionośnych [18] oraz czynnika aktywującego neutrofile NAP2 [27, 67] i fosfolipidowego mediatora zapalnego – PAF [4]. Płytki krwi są również źródłem antybakteryjnych białek niskocząsteczkowych PMPs (ang. *Platelet Microbicidal Proteins*) i enzymów proteolitycznych oraz ciepłostępnego bakterioobójczego czynnika surowicy, tzw. β -lizyny [27, 91, 93, 94]. Toksyczny mechanizm działania β -lizyny polega na zwiększaniu przepuszczalności ściany komórkowej bakterii i/lub na hamowaniu metabolizmu bakterii. Uwalnianie β -lizyny z płytek krwi następuje w wyniku agregacji płytek na skutek działania kolagenu lub trombiny, po całkowitej degranulacji płytek [93]. Płytki wykazują zdolność fagocytowania różnego rodzaju cząstek nieorganicznych, kompleksów immunologicznych, wirusów i bakterii [91, 93]. Należy również podkreślić możliwość ich oddziaływania ze składnikami dopełniacza, a także z kompleksami immunologicznymi poprzez obecne na powierzchni tych komórek receptory Fc dla IgG (Fc γ RII) oraz dla IgE (Fc γ RII, CD23) [46]. Postuluje się ponadto rolę płytek w wewnątrznaczyniowym, rozsianym wykrzepianiu (związanym z szokiem septycznym) poprzez uwalnianie z nich, w wyniku pobudzenia przez LPS, inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1) odgrywającego kluczową rolę w tworzeniu zakrzepów [7].

Pierwszym etapem procesu zapalnego jest odkładanie się w tkankach kompleksów immunologicznych antygen - przeciwciała i składników dopełniacza [1, 30]. Następnie, w wyniku aktywacji dopełniacza, dochodzi do inicjacji kolejnych etapów zapalenia, w których uczestniczą anafilatoksyny C5a i C3a oraz czynniki chemotaktyczne [13]. Skutkiem tego jest stymulacja nie tylko neutrofilów czy bazofilów, ale i płytek krwi, które wydzielając mediatory zapalne potęgują proces odkładania się kompleksów immunologicznych [30]. Udział płytek krwi (powstawanie mikrozakrzepów) [47] i komórek żernych, głównie makrofagów i neutrofilów poprzez uwalnianie enzymów, cytokin, chemokin, eikozanoidów i wolnych rodników prowadzi do uszkodzenia tkanek [28, 79].

AKTYWACJA PŁYTEK KRWI WYWOŁANA ENDOTOKSYNĄ

Uwolniona do krwioobiegu endotoksyna bakterii Gram-ujemnych powoduje pośrednio aktywację płytek poprzez działanie mediatorów zapalnych [43]; nie wiadomo natomiast, czy i w jaki sposób dochodzi do bezpośredniego oddziaływania płytki - LPS i jakie są tego konsekwencje. Istnieją doniesienia dotyczące stymulującego wpływu LPS na proces

aktywacji płytek krwi w warunkach *in vivo*, głównie na agregację płytek [33]. Niewiele jest natomiast danych, które jednoznacznie stwierdzają bezpośrednie oddziaływanie LPS z tymi komórkami. Dotychczas nie wykazano na powierzchni płytek receptorów uznawanych za uczestniczące w wiązaniu LPS do powierzchni komórek oraz za aktywację tych komórek w wyniku indukowania transdukcji sygnału. Przypuszcza się, że w aktywacji płytek krwi przez LPS bierze udział glikoproteina powierzchniowa o m.cz. 73 kDa. Nie ustalono jednak, czy białko to jest odpowiedzialne za wiązanie LPS do powierzchni płytek i czy może uczestniczyć w przekazywaniu sygnału do wnętrza komórki [82]. Istnieje również hipoteza, że inne powierzchniowe białko płytek, selektyna-P może uczestniczyć w przyłączaniu LPS i w przekazywaniu sygnału, podobnie jak L-selektyna obecna na powierzchni neutrofilów, która wiążąc LPS indukuje produkcję anionorodnika ponadtlenkowego przez te komórki [49]. Wysoki poziom endotoksyn we krwi może powodować aktywację komórek poprzez niespecyficzny mechanizm związany z interkalacją cząsteczek (agregatów) LPS do fosfolipidów błony komórkowej [76, 78].

Ocenę stopnia aktywacji płytek krwi wywołaną przez LPS badano przede wszystkim w warunkach *in vitro*, stosując wyizolowane, przemyle płytki krwi oraz endotoksyny bakteryjne pochodzące z bakterii Gram-ujemnych [60, 61, 72–75, 84, 96, 97]. Wykazano, że lipopolisacharyd stymuluje wyraźnie enzymatyczną peroksydację lipidów płytkowych i enzymatyczną przemianę arachidonianu, prowadząc do powstania TXA_2 i prostaglandyn, co wskazuje na aktywację tych komórek w wyniku bezpośredniego działania cząsteczek LPS [60, 73, 84]. Równocześnie dochodzi do wzmożonej produkcji wolnych rodników oraz reaktywnych form tlenu w płytkach krwi poddanych działaniu endotoksyny [60, 73, 84, 96]. Natychmiastową odpowiedź komórek na stymulację LPS, w postaci zwiększonego wytwarzania O_2^\cdot , H_2O_2 , OH^\cdot , tlenu singletowego i rodników lipidowych można porównać do wybuchu tlenowego mającego miejsce w komórkach żernych [52].

Gwałtowna odpowiedź płytek krwi na działanie LPS wskazuje na pobudzenie procesów enzymatycznych w wyniku aktywacji tych komórek przez cząsteczki endotoksyny [66].

Wykazanie, że bezpośrednio oddziaływanie LPS z płytkami krwi prowadzi do enzymatycznej przemiany kwasu arachidonowego ma istotne znaczenie ze względu na fakt, że metabolity arachidonianu pełnią ważną rolę w patogenezie szoku septycznego [68, 83]. Metabolity arachidonianu zarówno prostaglandyny, prostacyklina i tromboksan powstające w drodze zależnej od cyklooksygenazy, jak i zależne od lipooksygenazy leukotrieny, powstające głównie w leukocytach, są zaliczane do mediatorów zapalenia [17, 23, 45, 65]. Główną rolę odgrywają prostaglandyny szeregu E powodujące zapalenie z gorączką i bólem, a w mniejszym stopniu także powstawanie obrzęku [54]. Istotne znaczenie w rozwoju reakcji zapalnych ma także aktywność TXA_2 , silnego agonisty płytkowego, związku pochodzącego z płytek i megakariocytów [83]. Zwiększone stężenie tego związku jest rejestrowane w endotoksemii i szoku septycznym i odpowiada prawdopodobnie za nadciśnienie krwi powodowane w warunkach *in vivo* nawet przez niskie dawki endotoksyny [4, 21].

Potwierdzeniem aktywacji płytek krwi wywołanej działaniem endotoksyny jest obserwowane bezpośrednio po dodaniu LPS, natychmiastowe powstawanie anionorod-

nika ponadtlenkowego [60, 73, 84, 96]. Wynik taki świadczy o indukowaniu w płytkach przemian enzymatycznych w sposób zależny od cyklooksygenazy i lipooksygenazy [44]. Mechanizm generowania $O_2^{\cdot -}$ w płytkach krwi nie jest jednoznacznie wyjaśniony. Powstawanie anionorodnika ponadtlenkowego związane jest głównie z cyklem glutationowym, od którego zależy także przemiana arachidonianu, podczas której generowanie wolnych rodników następuje w wyniku konwersji PGG_2 (*ProstaGlandyna G₂*) do PGH_2 (*ProstaGlandyna H₂*), a także na skutek działania oksydazy NADPH i oksydazy ksantynowej [34]. W płytkach stymulowanych LPS dochodzi także do aktywacji NOS (ang. *Nitric Oxide Syntase*) i syntezy NO. Prowadzi to do powstania nadtlenoazotynu zmieniającego aktywność płytek krwi [34].

LPS bakterii Gram-ujemnych jest odpowiedzialny za generowanie w komórkach fagocytarnych wolnych rodników. Ich gwałtowne uwalnianie ma stanowić natychmiastową obronę organizmu przed mikroorganizmami, ale często RFT uczestniczą w patogenezie pierwszej fazy szoku septycznego [14, 39]. Jest to tzw. wybuch tlenowy związany z innymi niż w przypadku płytek, mechanizmami aktywacji [85]. Uwalnianie anionorodnika ponadtlenkowego z leukocytów jest następstwem aktywacji oksydazy ksantynowej indukującej stres oksydacyjny i peroksydację lipidów [25]. Wzmożona przemiana arachidonianu i powstawanie tromboksanu A_2 w wyizolowanych neutrofilach traktowanych LPS jest wynikiem aktywowania przez endotoksynę cyklooksygenazy typu II (COX-2) będącej indukowalną izoformą enzymu, nieobecną w płytkach krwi [51]. COX-2 indukowana jest także przez LPS w komórkach śródbłonna w drodze zależnej od kinazy tyrozynowej [29, 98].

Działając bezpośrednio na płytki krwi lipopolisacharyd wykazuje istotny wpływ na proces degranulacji i uwalniania związków zawartych w ziarnistościach tych komórek [61, 72]. LPS powoduje sekrecję białek zmagazynowanych w płytkowych α -ziarnistościach oraz nukleotydów adeninowych zawartych w ziarnistościach o dużej gęstości elektronowej [61, 72]. Jednocześnie w środowisku pozakomórkowym zawierającym uwolnione białka i nukleotydy adeninowe nie stwierdza się aktywności dehydrogenazy mleczanowej, enzymu będącego markerem cytozolu [72]. Należy zatem wnioskować, że LPS nie powoduje uszkodzeń w błonie komórkowej płytek krwi, a uwalnianie białek i nukleotydów adeninowych jest wynikiem aktywacji płytek krwi. U pacjentów z objawami szoku septycznego stwierdzono w osoczu podwyższone stężenie specyficznych białek pochodzących z płytkowych α -ziarnistości – głównie β TG, PF-4 oraz pochodzącej z błon ziarnistości selektyny-P [53]. W wyniku działania LPS w warunkach *in vivo*, dochodzi także do lokalnego wzrostu stężenia serotoniny pochodzącej wyłącznie z płytek krwi [77]. Zdolność LPS do uwalniania z płytek krwi białek, wśród których znajdują się liczne mediatory zapalne [22] oraz do uwalniania nukleotydów adeninowych uczestniczących w regulacji skurczu naczyń, agregacji płytek, aktywacji neutrofilów, przekazywaniu sygnału nerwowego i immunomodulacji [90] odgrywa istotną rolę w implikacjach procesu zapalnego [88]. Tym bardziej, że związki pochodzące z aktywowanych płytek krwi (serotonina, ADP, TXA_2) potęgują agregację tych komórek [89].

Wśród ogólnej puli białek uwalnianych z płytkowych α -ziarnistości w wyniku działania LPS, wyróżniono selektynę-P będącą markerem aktywacji płytek krwi oraz ich komórek

macierzystych – megakariocytów [50]. W wyniku aktywacji płytek, zmagazynowana w błonach α -ziarnistości selektyna-P ulega translokacji do błony plazmatycznej komórek. Ocena ilości tego antygeny na powierzchni płytek krwi pozwala wnioskować o stopniu aktywacji komórek [35]. Na podstawie porównania ekspresji selektyny-P na powierzchni płytek kontrolnych, tj. nietraktowanych LPS i płytek poddanych działaniu endotoksyny stwierdzono, przy użyciu czulej metody cytometrii przepływowej, że pod wpływem LPS dochodzi do aktywacji płytek i ekspresji selektyny-P na ich powierzchni [75].

Znacząca rola pobudzonych płytek krwi w procesie zapalnym wiąże się bezpośrednio z ich zdolnościami adhezyjnymi do białkowych składników warstwy podśródbłonkowej naczyń krwionośnych oraz z tendencją do tworzenia agregatów płytkowych [40].

LPS, jak i jego polisacharydowy fragment stymuluje, w warunkach *in vitro*, proces adhezji płytek do kolagenu [62, 74, 97], co sugeruje, że LPS powoduje uruchomienie mechanizmów aktywacji płytek związanych m.in. z ekspozycją na powierzchni tych komórek dodatkowych receptorów odpowiedzialnych za drugorzędową adhezję płytek (w przypadku receptora dla kolagenu może być to GPIIb/IIIa), które współdziałają w procesie adhezji z obecnymi na powierzchni niepobudzonych płytek receptorami pierwszorzędowymi (tj. GPIa/IIa i GPIV) [35]. LPS powoduje wzrost wewnątrzkomórkowego stężenia jonów Ca^{+2} , co z kolei indukuje aktywację kinazy białkowej C (PKC), która odpowiedzialna jest za fosforylację podjednostki β (GPIIIa) integryny $\alpha_{IIB}\beta_3$. Fosforylacja tej glikoproteiny prowadzi do zmian konformacyjnych receptora integrynowego $\alpha_{IIB}\beta_3$ (GPIIb/IIIa) [95].

W warunkach *in vivo* obecność LPS w osoczu wzmacnia agregację płytek krwi i prowadzi do trombocytopenii, co odgrywa kluczową rolę w następstwach szoku septycznego prowadzących do powstania DIC oraz MOF (ang. *Multiple Organ Failure*) [92]. Brak jest jednoznacznych danych wskazujących, że LPS jest czynnikiem bezpośrednio indukującym agregację płytek w układzie *in vitro*, bez udziału mediatorów zapalnych i innych aktywatorów płytkowych. Wykazano stymulujący wpływ LPS na agregację płytek w osoczu bogatopłytkowym niektórych gatunków zwierząt [12], a bezpośrednie działanie LPS na płytki krwi potwierdzają doniesienia o aktywacji PKC przez lipidowy fragment endotoksyny tzw. lipid A. Proces ten prowadzi do zmian konformacyjnych w strukturze receptora fibrynogenu (GPIIb/IIIa), a w konsekwencji do agregacji płytek. Tworzenie agregatów płytkowych, w efekcie działania LPS w warunkach *in vivo*, prowadzące do powstania mikrozakrzepów, wiąże się z aktywnością wielu kaskadowo uwalnianych z różnych komórek mediatorów zapalnych [95].

Aktywność biologiczna płytek, w tym udział płytek w procesach zapalnych, związana jest z działaniem wielu fizjologicznych agonistów, wśród których kluczową rolę odgrywa trombina [48]. Trombina jest serynową proteazą, która nie tylko jest jednym z głównych osoczowych czynników krzepnięcia krwi, ale uczestniczy w procesach aktywacji płytek krwi w układzie zarówno zewnątrz-, jak i wewnątrzpochodnym. Proces formowania aktywnej trombiny z protrombiny zachodzi z udziałem wielu białek osocza, czynnika tkankowego, jonów wapnia oraz fosfolipidów błon komórkowych. Najefektywniej enzym generowany jest na powierzchni płytek i komórek śródbłonka, a w mniejszym stopniu również na powierzchni komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych. Udział aktywnej trombiny w hemostazie wiąże się z aktywacją płytek krwi, konwersją

fibrynogenu do fibryny oraz proteolizą czynników krzepnięcia (II, VI, VII, XIII), a także białek S i C [5, 57].

Istotne znaczenie ma ustalenie w warunkach *in vitro* wpływu LPS na stopień oraz przebieg aktywacji płytek krwi indukowanej trombiną. W warunkach *in vitro* LPS osłabia odpowiedź płytek na działanie trombiny [72, 74, 84]. Wykazano hamujący wpływ LPS na stres oksydacyjny wywołany w płytkach krwi działaniem trombiny [84], a także na sekrecję i adhezję płytek stymulowanych trombiną [72, 74]. Ten hamujący efekt LPS może wynikać z zaburzonej interakcji pomiędzy trombiną a swoistym receptorem powierzchniowym i/lub z zakłócenia transdukcji sygnału powstającego w odpowiedzi na działanie trombiny. Ponadto, najnowsze badania donoszą, że bakteryjny LPS jest inhibitorem enzymatycznej aktywności trombiny i może wpływać na hamowanie aktywacji płytek krwi przez ten enzym [8].

Zaobserwowano zmienny wpływ LPS, w zależności od jego dawki, na proces agregacji płytek krwi stymulowanych trombiną. Potęgujący wpływ LPS na wywołaną przez agonistów agregację płytek wykazano w pełnej krwi [70, 71], natomiast hamujący wpływ zarejestrowano przy wysokich stężeniach LPS na agregację przemitych płytek ludzkich aktywowanych fizjologicznymi agonistami [80]. Hamowanie agregacji płytek przez LPS można tłumaczyć zdolnością lipopolisacharydu do generowania w płytkach rodnika tlenu azotu NO[•] [81]. Natomiast przyczyną wzmożonej agregacji płytek może być zdolność LPS do odszczepiania z powierzchni płytek krwi mikropęcherzyków (mikropłytek) o aktywności prokoagulacyjnej [20, 43].

PODSUMOWANIE

Wieloraka aktywność lipopolisacharydu bakteryjnego nie jest jeszcze całkowicie wyjaśniona, ale wiadomo, iż związana jest przede wszystkim z pobudzaniem komórek zakażonego organizmu do wydzielania mediatorów zapalnych. Działanie mediatorów powoduje i wzmacnia reakcje zapalne prowadzące do zwalczenia zakażenia. Jednak obecność dużej ilości endotoksyn zgromadzonych w krążącej krwi powoduje uwalnianie nadmiernej ilości mediatorów, w wyniku czego dochodzi do kaskady uogólnionych, niekontrolowanych reakcji obronnych organizmu powodujących zaburzenia homeostazy i wstrząs prowadzący nawet do śmierci. Agregacja płytek krwi odgrywa kluczową rolę w następstwie szoku septycznego, wywołanego w warunkach *in vivo* przez bakterie Gram-ujemne i prowadzącego do powstania DIC i MOF. Ze względu na niewielką ilość doniesień dotyczących oddziaływań lipopolisacharydu z płytkami krwi w warunkach *in vitro* nie można jednoznacznie stwierdzić, czy aktywacja płytek krwi, obserwowana w stanie zapalnym, jest wyłącznie następstwem pośredniego działania LPS na płytki poprzez udział mediatorów zapalnych, czy też może wynikać z bezpośredniego działania LPS na płytki, jak to ma miejsce w przypadku innych komórek zapalnych. Należy pamiętać, że kojarzone niegdyś wyłącznie z procesami hemostazy płytki krwi wykazują cechy typowych komórek zapalnych. Dokładne poznanie mechanizmów aktywacji płytek

krwi przez LPS wymaga dalszych badań i może przyczynić się do ograniczenia skutków toksycznej aktywności LPS.

PODZIĘKOWANIA

Serdeczne podziękowania składam Pani Profesor Barbarze Wachowicz za jej pomoc i cenne uwagi merytoryczne, z których korzystałam w trakcie redagowania pracy.

LITERATURA

- [1] ALONSO A, BAYON Y, CRESPO MS. The expression of cytokine-induced neutrophil chemoattractants (CINC-1 and CINC-2) in rat peritoneal macrophages is triggered by Fc γ receptor activation: study of the signalling mechanism. *Eur J Immunol* 1996; **26**: 2165–2171.
- [2] ARAYA AV, PAVEZ V, PEREZ C, CONZALEZ F, COLUMBO A, AGUIRRE A, SCHIATTINO I, AGUILLO JC. *Ex vivo* lipopolysaccharide (LPS)-induced TNF- α , IL-1 β , IL-6 and PGE2 secretion in whole blood from Type 1 diabetes mellitus patients with or without aggressive periodontitis. *Eur Cytokine Netw* 2003; **14**: 128–133.
- [3] BEISHUIZEN A, VERRNES I, HAANEN C. Endogenous mediators in sepsis and septic shock. *Advances in Clinical Chemistry* 1999; **33**: 55–131.
- [4] BOCHEŃSKI J, CHŁOPICKI S, GRYGLEWSKI RJ. Role of thromboxane A $_2$ and platelet activating factor in early haemodynamic response to lipopolysaccharide in rats. *J Physiol Pharmacol* 1999; **50**: 287–297.
- [5] BODE W. Structure and interaction modes of thrombin. *Blood Cells Mol Dis* 2006; **36**: 122–130.
- [6] BRANDENBURG K, WIESE A. Endotoxins: relationships between structure, function, and activity. *Curr Top Med Chem* 2004; **4**: 1127–1146.
- [7] BROGREN H, KARLSSON L, ANDERSSON M, WANG L, ERLINGE D, JERN S. Platelets synthesize large amounts of active plasminogen activator inhibitor 1. *Blood* 2004; **15**: 3943–3948.
- [8] BUCKI R, PASTORE JJ. Bacterial endotoxin as inhibitor of the enzymatic activity of human thrombin. *Eur J Haematol* 2006; **76**: 510–515.
- [9] CARLSTEDT F, ERIKSSON M, KIISKI R, LARSSON A, LIND L. Hypocalcemia during porcine endotoxemic shock: effects of calcium administration. *Crit Care Med* 2000; **28**: 2909–2914.
- [10] CÁATALA M, ANTÓN A, PORTOLÉS MT. Characterization of the simultaneous binding of *Escherichia coli* endotoxin to kupffer and endothelial liver cells by flow cytometry. *Cytometry* 1999; **36**: 123–130.
- [11] CHIANG TM. Activation of phospholipase D in human platelets by collagen and thrombin and its relationship to platelet aggregation. *Biochim Biophys Acta* 1994; **1224**: 147–155.
- [12] CICALA C, SANTACROSE C, ITOH H, DOUGLAS GJ, PAGE CP. A study on rat platelet responsiveness following intravenous endotoxin administration. *Life Sci* 1997; **60**: 31–38.
- [13] CZERMAK BJ, SARMA V, BLESS NM, SCHMAL H, FRIEDL HP, WARD PA. *In vitro* and *in vivo* dependency of chemokine generation on C5a and TNF- α . *J Immunol* 1999; **162**: 2321–2325.
- [14] DAVI G, FALCO A. Oxidant stress, inflammation and atherogenesis. *Lupus* 2005; **14**: 760–764.
- [15] DICKNEITE G, KROEZ M. Treatment of porcine sepsis with high-dose antithrombin III reduces tissue edema and effusion but dose not increase risk for bleeding. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2001; **12**: 459–467.
- [16] DING B, YIN N, LIU Y, CARDNAS-GARCIA J, EVANSON R, ORAK T, FAN M, TURING G, SAVAGE PB. Origins of cell selectivity of cationic steroid antibiotics. *J Am Chem Soc* 2004; **126**: 13642–13648.
- [17] DOGNE JM, HANSON J, PRATICO D. Thromboxane, prostacyclin and isoprostanes: therapeutic targets in atherogenesis. *Trends Pharmacol Sci* 2005; **26**: 639–644.
- [18] ENDO Y, SHIBAZAKI M, NAKAMURA, TAKADA H. Contrasting effects of lipopolysaccharides (endotoxins) from oral black-pigmented bacteria and *Enterobacteriaceae* on platelets, a major source of serotonin, and on histamine-forming enzyme in mice. *J Infect Diseases* 1997; **175**: 1404–1412.
- [19] EPIHIMER MJ, RUSSEL J, LANGLEY R, GERRITSEN M, GRANGER N. Role of tumor necrosis factor and interferon gamma in endotoxin-induced E-selectin expression. *Shock* 1999; **11**: 93–97.

- [20] ERIKSSON M, LARSSON A, SALDEEN T, MATTSSON C. Melagatran, a low molecular weight thrombin inhibitor, counteracts endotoxin-induced haemodynamic and renal dysfunctions in the pig. *Thromb Haemost* 1998; **80**: 1022–1026.
- [21] FAAS MM, SCHUILING GA, BALLER J, VALKHOF N, BAKKER W. Aspirin treatment of the low-dose-endotoxin-treated pregnant rat: Patophysiological and immunohistologic aspects. *J Lab Clin Med* 1996; **130**: 496–508.
- [22] FLAUMENHAFT R, CROCE K, CHEN E, FURIE B, FURIE BC. Proteins of the exocytotic core complex mediate platelet α -granule secretion. *J Biol Chem* 1999; **274**: 2492–2501.
- [23] FLOWER RJ. Prostaglandins, bioassay and inflammation. *Br J Pharmacol* 2006; **147**: 182–192.
- [24] FREY EA, FINLAY BB. Lipopolysaccharide induces apoptosis in a bovine endothelial cell line via a soluble CD14 dependent pathway. *Microbial Pathogen* 1998; **24**: 101–109.
- [25] GARCIA R, DE SALAMANCA EA, PORTOLES MT. Calcium and reactive oxygen species as messengers in endotoxin action on adrenocortical cells. *Biochem Biophys Acta* 1999; **1454**: 1–10.
- [26] GLAUSER MP. The inflammatory cytokines. *Drugs* 1996; **52**: 9–17.
- [27] GOLUBEVA TS, PAROMOV VM, TUGUZ AR, CHERTOV OYU, KISELEVSKY MV. Cytotoxic protein from human platelets. *FEBS Lett* 1997; **405**: 312–314.
- [28] VAN GORP ECM, SUCHARTI C, TEN CATE H, DOLMANS WMV, VAN DER MEER JWM, TEN CATE JW, BRANDJES DPM. Review: infectious diseases and coagulation disorders. *J Infect Diseases* 1999; **180**: 176–186.
- [29] GRISHIN AV, WANG J, POTOKA DA, HACKAM DJ, UPPERMAN JS, BOYLE P, ZAMORA R, FORD HR. Lipopolysaccharide induces cyclooxygenase-2 in intestinal epithelium via a noncanonical p38 MAPK pathway. *J Immunol* 2006; **76**: 580–588.
- [30] HELLER T, GESSNER JE, SCHMIDT RE, KLOS A, BAUTSCH W, KOHL J. Cutting edge: Fc receptor type I for IgG on macrophages and complement mediate the inflammatory response in immune complex peritonitis. *J Immunol* 1999; **162**: 5657–5661.
- [31] ITO Y, MACHEN NW, URBASCHEK R, MCCUSKEY RS. Biliary obstruction exacerbates the hepatic microvascular inflammatory response to endotoxin. *Shock* 2000; **14**: 599–604.
- [32] ITOH H, CICALA C, DOUGLAS GJ, PAGE CP. Platelet accumulation induced by bacterial endotoxin in rats. *Thromb Res* 1996; **83**: 405–419.
- [33] JARVIS G, EVANS R. Platelet-activating factor and not thromboxane A2 is an important mediator of endotoxin-induced platelet aggregation in equine heparinised whole blood *in vitro*. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1996; **7**: 194–198.
- [34] JOSEPH M. The generation of free radicals by blood platelets. *Immunopharmacol Platelets* 1995; **11**: 209–225.
- [35] JURK K, KEHREL BE. Platelets: physiology and biochemistry. *Semin Thromb Hemost* 2005; **31**: 381–392.
- [36] KACA W, LITERACKA E, SJOHOLM AG, WEINTRAUB A. Complement activation by *Proteus mirabilis* negatively charged lipopolysaccharides. *J Endotoxin Res* 2000; **6**: 223–234.
- [37] KASZOWSKA M. Chemical structure and biosynthesis of lipopolysaccharide-important component of the cell envelope of Gram-negative bacteria. *Post Hig Med Dośw* 2004; **58**: 333–342.
- [38] KEELAN JA, SATO TA, HANSEN WR, GILMOUR JS, GUPTA DK, HELSBY NA. Interleukin-4 differentially regulates prostaglandin production in amnion-derived WISH cells stimulated with pro-inflammatory cytokines and epidermal growth factor. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids* 1999; **60**: 255–262.
- [39] KHARB S, SINGH V, GHALAUT PS, SHARMA A, SINGH GP. Role of oxygen free radicals in shock. *J Assoc Physicians India* 2000; **48**: 956–957.
- [40] KNOBL P. Pathophysiology and therapy of sepsis-associated coagulation disorders. *Wien Med Wochenschr* 2002; **152**: 559–563.
- [41] KOCH T. Origin and mediators involved in sepsis and the systemic inflammatory response syndrome. *Kidney International* 1998; **53**: S66–S69.
- [42] KOCIK J. Udział cytokin i innych mediatorów w procesie gojenia rany *Post Biol Kom* 1996; **23**: 63–82.
- [43] LARSSON A, ERIKSSON M, LUNDAHL T, LUNDKVIST K, LINDAHL T. Impaired platelet function in endotoxemic pigs analyzed by flow cytometry. *Platelets* 1998; **9**: 115–119.
- [44] LEVY-TOLEDANO S. Platelet signal transduction pathways: Could we organize them into a hierarchy? *Haemostasis* 1999; **29**: 4–15.
- [45] LINTON MF, FAZIO S. Cyclooxygenase-2 and inflammation in atherosclerosis. *Curr Opin Pharmacol* 2004; **2**: 116–123.

- [46] LOUGHMAN A, FITZGERALD JR, BRENNAN MP, HIGGINS J, DOWNER R, COX D, FOSTER TJ. Roles for fibrinogen, immunoglobulin and complement in platelet activation promoted by *Staphylococcus aureus* clumping factor A. *Mol Microbiol* 2005; **57**: 804–818.
- [47] LUNDAHL TH, PETERSSON J, FAGERBERG IH, BERG S, LINDAHL TL. Impaired platelet function correlates with multi-organ dysfunction. A study of patients with sepsis. *Platelets* 1998; **9**: 223–225.
- [48] LUNDBLAD RL, WHITE GC 2nd. The interaction of thrombin with blood platelets. *Platelets* 2005; **16**: 373–385.
- [49] MALHOTRA R, PRIEST R, BIRD M. Role for L-selectin in lipopolysaccharide-induced activation of neutrophils. *Biochem J* 1996; **320**: 589–593.
- [50] MALHOTRA R, PRIEST R, FOSTER MR, BIRD MI. P-selectin binds to bacterial lipopolysaccharide. *Eur J Immunol* 1998; **28**: 983–988.
- [51] MALONEY CG, KUTCHERA WA, ALBERTINE KH, McINTYRE TM, PRESCOTT SM, ZIMMERMAN GA. Inflammatory agonist induce cyclooxygenase type 2 expression by human neutrophils. *J Immunol* 1998; **160**: 1402–1410.
- [52] MURPHY R, DECOURSEY TE. Charge compensation during the phagocyte respiratory burst. *Biochim Biophys Acta* 2006; **8**: 996–1011.
- [53] NAKAMURA T, EBIHARA I, SHOJI H, USHIYAMA C, SUZUKI S, KOIDE H. Treatment with polymyxin B-immobilized fiber reduces platelet activation in septic shock patients: Decrease in plasma levels of soluble P-selectin, platelet factor 4 and β -thromboglobulin. *Inflamm Res* 1999; **48**: 1710–1715.
- [54] OFFENBACHER S, SALVI GE. Induction of prostaglandin release from macrophages by bacterial endotoxin. *Clin Infect Diseases* 1999; **28**: 505–513.
- [55] OKAJIMA K. Regulation of inflammatory responses by natural anticoagulants. *Immunol Rev* 2001; **184**: 258–274.
- [56] OLAS B. Zaburzenia hemostazy w nowotworach. *Kosmos, Problemy Nauk Biologicznych* 1998; **238**: 61–68.
- [57] OLAS B, WACHOWICZ B. Rola trombiny w hemostazie. *Post Hig Med Dośw* 1998; **52**: 471–487.
- [58] OLAS B, WACHOWICZ B. Struktura i funkcje płytkowych receptorów dla prostanoidów. *Acta Haematologica Polonica* 1999; **30**: 361–369.
- [59] OLAS B, WACHOWICZ B, WACHOWICZ N. Effect of granulocyte colony stimulating factor on pig blood platelets treated with cisplatin *in vitro*. *Anti-Cancer Drugs* 1997; **8**: 204–209.
- [60] OLAS B, WACHOWICZ B, SALUK-JUSZCZAK J, ZIELIŃSKI T, KACA W, BUCZYŃSKI A. Antioxidant activity of resveratrol in endotoxin-stimulated blood platelets. *Cell Biology and Toxicology* 2001; **17**: 117–125.
- [61] OLAS B, WACHOWICZ B, SZEWCZUK J, SALUK-JUSZCZAK J, KACA W. The effect of resveratrol on the platelet secretory process induced by endotoxin and thrombin. *Microbios* 2001; **105**: 7–13.
- [62] OLAS B, WACHOWICZ B, SALUK-JUSZCZAK J, ZIELIŃSKI T. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on platelet activation induced by endotoxin or thrombin. *Thrombosis Research* 2002; **2069**: 1–5.
- [63] OLBAN M, WACHOWICZ B, KOTER M, BRYSEWSKA M. The biostimulatory effects of laser irradiation on pig blood platelet function. *Cell Biol Inter* 1998; **22**: 245–248.
- [64] OZAWA K, TAKAHASHI M, SOUBE K. Phase specific association of heterotrimeric GTP-binding proteins with the actin-based cytoskeleton during thrombin receptor-mediated platelet activation. *FEBS Lett* 1996; **382**: 159–163.
- [65] PAUL L, FRAIFELD V, KAPLANSKI J. Evidence supporting involvement of leukotrienes in LPS-induced hypothermia in mice. *Am J Physiol* 1999; **276**: 52–58.
- [66] PERNERSTORFER T, STOHLAWETZ P, HOLLENSTEIN U, DZIRLO L, EICHLER HG, KAPIOTIS S, JILMA B, SPEISER W. Endotoxin-induced activation of the coagulation cascade in humans: effect of acetylsalicylic acid and acetaminophen. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; **19**: 2517–2523.
- [67] PETERS MJ, HEYDERMAN RS, HATCH DJ, KLEIN NJ. Investigation of platelet-neutrophil interactions in whole blood by flow cytometry. *J Immunol Meth* 1997; **209**: 125–135.
- [68] REBOLLAR E, GUERRERO-LINDNER E, ARRUEBO MP, PLAZA MA, MURILLO MD. Role of prostaglandins in lipopolysaccharide effects on K^+ -induced contractions in rabbit small intestine. *Acta Physiol Scand* 2003; **179**: 299–307.
- [69] RUSSELL AD. Bacterial outer membrane and cell wall penetration and cell destruction by polluting chemical agents and physical conditions. *Sci Prog* 2003; **86**: 283–311.

- [70] SALAT A, BOEHM D, PULAKI S, MURABITO M, BERLAKOVICH G, KRETSCHMER G, MUELLER MR. Possibility of checking compliance and efficiency of antiaggregatory treatment following femoropopliteal vein bypass surgery. *Thromb Res* 1998; **89**: 91–95.
- [71] SALAT A, MURABITO M, BOEHM D, BODINGBAUER G, PULAKI S, SAUTNER T, MUELLER MR, FUEGGER R. Endotoxin enhances *in vitro* platelet aggregability in whole blood. *Thromb Res* 1999; **93**: 145–148.
- [72] SALUK-JUSZCZAK J, WACHOWICZ B, KACA W. Stimulatory effects of endotoxin on the platelet secretory process. *Microbios* 1999; **99**: 45–53.
- [73] SALUK-JUSZCZAK J, WACZOWICZ B, KACA W. Endotoxins stimulate generation of superoxide radicals and lipid peroxidation in blood platelet. *Microbios* 2000; **103**: 17–25.
- [74] SALUK-JUSZCZAK J, WACHOWICZ B, ZIELIŃSKI T, KACA W. Adhesion of thrombin-stimulated and unstimulated blood platelets to collagen in the presence of *Proteus mirabilis* lipopolysaccharides. *Platelets* 2001; **12**: 470–475.
- [75] SALUK-JUSZCZAK J, NOWAK P, GOŁAŃSKI J, WACHOWICZ B, KACA W. Ekspresja P-selektyny na powierzchni płytek krwi indukowana endotoksyną bakteryjną *Proteus mirabilis*. *Folia Biochemica et Biophysica* 2001; **15**: 13–19.
- [76] SCHROMM AB, BRANDENBURG K, RIETSCHEL ETH, FLAD HD, CARROLL SF, SEYDEL U. Lipopolysaccharide-binding protein mediates CD14-independent intercalation of lipopolysaccharide into phospholipid membranes. *FEBS Lett* 1996; **399**: 267–271.
- [77] SCHUF-WERNER P, SPLETTSTOSER W, SCHMIDT F, HUETHER G. Serotonin acts as a radical scavenger and is oxidized to a dimer during the respiratory burst of human mononuclear and polymorphonuclear phagocytes. *Eur J Clin Invest* 1995; **25**: 477–484.
- [78] SEYDEL U, WIESE A, SCHROMM AB, BRANDENBURG K. A Biophysical View on the Function and Activity of Endotoxins. W: Brade H, Opal SM, Vogel SN, Morrison DC (red.). *Endotoxin in Health and Disease*. New York, Basel 1999: 195–218.
- [79] SHARMA R, COAST AJS, ANKER SD. The role of inflammatory mediators in chronic heart failure: cytokines, nitric oxide, and endothelin-1. *Intern J Card* 2000; **72**: 175–186.
- [80] SHEU JR, HUNG WC, KAN YC, LEE YM, YEN MH. Mechanisms involved in the antiplatelet activity of *Escherichia coli* lipopolysaccharide in human platelets. *British J Haematol* 1998; **103**: 29–38.
- [81] SHIBAZAKI M, NAKAMURA M, ENDO Y. Biphasic, organ-specific, and strain-specific accumulation of platelets induced in mice by a lipopolysaccharide from *Escherichia coli* and its possible involvement in shock. *Infect Immun* 1996; **64**: 5290–5294.
- [82] SHINJI H, AKAGAWA KS, TSUJI M, MAEDA M, YAMADA R, MATSUURA K, YAMAMOTO S, YOSHIDA T. Lipopolysaccharide-induced biphasic inositol 1,4,5-trisphosphate response and tyrosine phosphorylation of 140-kilodalton protein in mouse peritoneal macrophages. *J Immunol* 1997; **158**: 1370–1376.
- [83] UHLIG S, FEATHERSTONE RL, HELD HD, NUSING R, SCHUDT C, WENDEL A. Attenuation by phosphodiesterase inhibitors of lipopolysaccharide-induced thromboxane release and bronchoconstriction in rat lungs. *J Pharmacol Exp Therap* 1997; **283**: 1453–1459.
- [84] WACHOWICZ B, SALUK J, KACA W. Response of blood platelets to *Proteus mirabilis* lipopolysaccharide. *Microbiology and Immunology* 1998; **42**: 47–49.
- [85] WAGA I, NAKAMURA M, HONDA Z, FERBY I, TOYOSHIMA S, ISHIGURO S, SHIMIZU T. Two distinct signal transduction pathways for the activation of guinea-pig macrophages and neutrophils by endotoxin. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; **197**: 465–472.
- [86] WARD PA, LENTSCH AB. The acute inflammatory response and its regulation. *Arch Surg* 1999; **134**: 666–669.
- [87] WEBER C. Platelets and chemokines in atherosclerosis: partners in crime. *Circ Res* 2005; **96**: 612–616.
- [88] WEYRICH AS, LINDEMANN S, ZIMMERMAN GA. The evolving role of platelets in inflammation. *J Thromb Haemost* 2003; **1**: 1897–1905.
- [89] WHITE JG. Platelet secretion during clot retraction. *Platelets* 2000; **11**: 331–343.
- [90] WOULFE D, YANG J, BRASS L. ADP and platelets: the end of the beginning. *J Clin Invest* 2001; **107**: 1503–1505.
- [91] XIONG YQ, YEAMAN MR, BAYER AS. *In vitro* antibacterial activities of platelet microbicidal protein and neutrophil defensin against *Staphylococcus aureus* are influenced by antibiotics differing in mechanism of action. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 1999; **43**: 1111–1117.
- [92] YAGUCHI A, LOBO FL, VINCENT JL, PRADIER O. Platelet function in sepsis. *J Thromb Haemos* 2004; **2**: 2096–20102.

- [93] YEAMAN MR. The role of platelets in antimicrobial host defense. *Clin Infect Diseases* 1997; **25**: 951–970.
- [94] YEAMAN MR, BAYER AS, KOO SP, FOSS W, SULLAM PM. Platelet microbicidal proteins and neutrophil defensin disrupt the *Staphylococcus aureus* cytoplasmic membrane by distinct mechanisms of action. *J Clin Invest* 1998; **101**: 178–187.
- [95] YU X, WU Q. Lipopolysaccharide induces exposure of fibrinogen receptors on human platelets. *Clin Med Sci* 1995; **10**: 73–77.
- [96] ZIELIŃSKI T, WACHOWICZ B, SALUK-JUSZCZAK J, KACA W. The generation of superoxide anion in blood platelets in response to different forms of *Proteus mirabilis* lipopolysaccharide: effects of staurosporin and wortmanin. *Thrombosis Research* 2001; **103**: 149–155.
- [97] ZIELIŃSKI T, WACHOWICZ B, SALUK-JUSZCZAK J, KACA W. Polysaccharide part of *Proteus mirabilis* lipopolysaccharide may be responsible for the stimulation of platelet adhesion to collagen. *Platelets* 2002; **12**: 419–424.
- [98] ZINGARELLI B, SOUTHANG J, GILAD E, O'CONNOR M, SALZMAN AL, SZABO C. The inhibitory effects of mercaptoalkylguanidines on cyclooxygenase activity. *British J Pharmacology* 1997; **120**: 357–366.

Redaktor prowadzący – Maria Olszewska

Otrzymano: 14.11. 2006 r.

Przyjęto: 05.01. 2007 r.

ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

email:juszczak@biol.uni.lodz.pl