

Received: 2006.04.24
Accepted: 2006.09.05
Published: 2006.10.10

Znaczenie białka C-reaktywnego w patofizjologii miażdżycy*

Role of C-reactive protein in atherogenesis

Magdalena Boncler, Bogusława Luzak, Cezary Watała

Zakład Zaburzeń Krzepnięcia Krwi, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Streszczenie

Białko C-reaktywne (CRP) postrzega się obecnie nie tylko jako marker procesu zapalnego. Wiele uwagi poświęca się jego bezpośredniej roli w rozwoju miażdżycy. Z chwilą wdrożenia czułych metod oznaczania CRP, białko to stało się użytecznym markerem do oceny ryzyka chorób naczyń. Stężenie CRP, które znacząco wzrasta np. w ostrych zespołach wieńcowych, ma wartość prognostyczną w ocenie ryzyka chorób serca czy udarów nie tylko u pacjentów z chorobami naczyń, ale także u pozornie zdrowych osób. Mechanizmy molekularne działania CRP w ustroju jako mediatora reakcji zapalnej i powstawania zakrzepów nie są dobrze poznane. W pracy przedstawiono istniejący stan wiedzy na temat roli białka C-reaktywnego w patofizjologii miażdżycy, uwzględniając potencjalne mechanizmy działania CRP w ustroju oraz znaczenie zmienności genetycznych w obrębie genu CRP w patofizjologii chorób naczyń.

Słowa kluczowe:

białko C-reaktywne • miażdżycy • choroby sercowo-naczyniowe

Summary

C-reactive protein (CRP), formerly considered solely an excellent biomarker of inflammation, is now viewed as a direct contributor in atherosclerosis. With the advent of high-sensitivity assays for determining CRP, this protein has emerged as one of the most powerful independent predictors of cardiovascular disease. CRP level, which significantly increases in acute coronary syndromes, has a prognostic value in cardiovascular risk not only in patients with cardiovascular complications, but also in apparently healthy individuals. The *in vivo* mechanisms of CRP as a mediator of the inflammatory state and thrombotic complications are continuing to be unraveled. Here we focused on the role of C-reactive protein in the pathophysiology of atherosclerosis, including the potential mechanisms of CRP's action in the circulation, as well as the potential contribution of genetic variations within the CRP gene in the pathophysiology of vascular complications.

Key words:

C-reactive protein • atherogenesis • cardiovascular disease

Full-text PDF:

http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_60/9722.pdf

Word count:

3509

Tables:

—

Figures:

1

References:

120

* Praca finansowana ze środków UM w Łodzi (502-16-510).

Adres autorki:

dr Magdalena Boncler, Zakład Zaburzeń Krzepnięcia Krwi, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Uniwersytecki Szpital Kliniczny nr 2 im. WAM, Centralny Szpital Weteranów; ul. Żeromskiego 113, 90-549 Łódź;
e-mail: mboncler@csk.umed.lodz.pl

Wykaz skrótów:

CRP – białko C-reaktywne (C-reactive protein); **ERK** – kinaza ERK (extracellular signal regulated kinase); **ET-1** – endotelina 1; **FMLP** – czynnik chemotaktyczny (N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine); **HCAEC** – ludzkie komórki śródbłónka tętnic wieńcowych (human coronary artery endothelial cells); **hsCRP** – białko C-reaktywne oznaczane testem wysokiej czułości; **HSVEC** – ludzkie komórki śródbłónka izolowanego z żyły odpiszczelowej (human saphenous vein endothelial cells); **HUVEC** – ludzkie komórki śródbłónka izolowane z żyły pępowinowej (human umbilical vein endothelial cells); **IL-1 β** – interleukina 1 β ; **IL-6** – interleukina 6; **MAPK** – kinaza białka aktywowanego mitogenem (mitogen-activated protein kinase); **mCRP** – modyfikowane białko C-reaktywne; **NO** – tlenek azotu (nitric oxide); **eNOS** – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu (endothelial nitric oxide synthase); **PAF** – czynnik aktywujący płytki (platelet activating factor); **PAI-1** – inhibitor aktywatora plazminogenu 1 (plasminogen activator inhibitor 1); **PGI₂** – prostacyklina (prostaglandyna I₂); **PMA** – aktywator kinazy białkowej C (phorbol myristate acetate); **PGIS** – syntaza prostaglandyny I; **kinaza PI-3** – 3-kinaza fosfatydyloinozytolu; **PLC γ 2** – fosfolipaza C γ 2; **TNF- α** – czynnik martwicy nowotworów α (tissue necrosis factor α); **t-PA** – tkankowy aktywator plazminogenu (tissue plasminogen activator).

CHARAKTERYSTYKA BIAŁKA C-REAKTYWNEGO

Białko C-reaktywne (CRP) zostało odkryte w 1930 r. przez Tilletta i Francisa w surowicy pacjentów zakażonych bakterią *Streptococcus pneumoniae* [98]. CRP jest cyklicznym pentamerem o masie cząsteczkowej 120 kDa, należącym do rodziny pentaksyn – białek wiążących ligandy w reakcjach zależnych od jonów wapnia. Każda z podjednostek białka C-reaktywnego zbudowana jest z 206 aminokwasów, które łączą się ze sobą niekowalencyjnie [59,62]. Synteza białka C-reaktywnego odbywa się przede wszystkim w wątrobie w odpowiedzi na czynniki prozapalne (IL-1, IL-6). Białko C-reaktywne to jedno z najważniejszych białek ostrej fazy, którego stężenie we krwi może wzrosnąć nawet 1000-krotnie w ciągu 24–72 godzin w czasie zapalenia. Główną biologiczną rolę CRP jest uczestnictwo w odpowiedzi immunologicznej organizmu [112].

MECHANIZMY DZIAŁANIA CRP W USTROJU

Pomimo olbrzymiej wiedzy o białku C-reaktywnym, mechanizmy leżące u podstaw jego działania jako mediatora reakcji zapalnej i powstawania zakrzepów nie są dobrze poznane. Z pewnością przyczynia się do tego różnorodność procesów regulowanych przez CRP oraz mnogość potencjalnych cząsteczek, z jakimi CRP może wchodzić w interakcje. Cechą charakterystyczną CRP jest wiązanie różnych ligandów w reakcjach zależnych lub niezależnych od obecności jonów wapnia. Występowanie w środowisku jonów wapnia gwarantuje wiązanie CRP do fosfocholiny wchodzącej w skład fosfolipidów wielu błon biologicznych czy polisacharydów bakteryjnych [1]. Taka właściwość CRP pozwala na sprawowanie jego głównej biologicznej funkcji, jaką jest zdolność do rozpoznawania drobnoustrojów i uszkodzonych komórek gospodarza i pośredniczenia w procesie ich eliminacji przez „włączenie” układu dopełniacza i komórek żernych. Za pośrednictwem fosfocholiny zachodzi reakcja wiązania CRP do komórek apoptotycznych i modyfikowanych cząstek lipoproteinowych o niskiej gęstości – utlenionych oraz enzymatycznie zdegradowanych LDL [5,13]. W 2002 r. Taskinen i wsp. opisali nowy ligand CRP, nieestryfikowany cholesterol, za po-

średnictwem którego w obecności wapnia CRP oddziałuje z lipoproteinami o niskiej gęstości [96]. W ustaleniach tych oparto się na następujących odkryciach:

- wiązanie CRP do LDL wzrasta wraz ze wzrostem zawartości cholesterolu w LDL;
- modyfikacja nieestryfikowanego cholesterolu przez oksydazę cholesterolową prowadzi do spadku wiązania CRP do LDL;
- CRP wiąże się bezpośrednio do nieestryfikowanego cholesterolu.

Późniejsza praca tych samych autorów dowodzi, że wiązanie CRP do cholesterolu polega na oddziaływaniu miejsca wiążącego fosfocholiny w cząsteczce CRP z grupą 3 β -OH cholesterolu w cząstce LDL [95]. Nie dziwi zatem obserwacja wskazująca na wpływ fosfocholiny na wiązanie CRP do LDL. W ten sam sposób, jak w przypadku cholesterolu, CRP wchodzi w interakcje z lamininą, fibronektyną i fibrynogenem [86,93,102]. Bez udziału wapnia białko C-reaktywne może oddziaływać z polikationami (polilizyna, poliarginina, histony), przy czym miejsca wiązania polikationów i fosfocholiny nie są identyczne [20,52].

Bezpośrednie oddziaływanie białka C-reaktywnego z komórkami przebiega za pośrednictwem przynajmniej 3 receptorów klasy Fc γ . Wązanie CRP do receptora Fc γ RI (CD64) zostało wykazane w doświadczeniach przedstawiających, z jednej strony, spadek wiązania CRP do monocytów w obecności immunoglobulin G (IgG), a z drugiej, wzrost wiązania CRP do komórek linii COS-7 transfekowanych receptorem Fc γ RI [55,61]. Należało się spodziewać, że Fc γ RI nie jest jedynym receptorem wiążącym białko C-reaktywne, skoro monomery przeciwciał IgG są zdolne do specyficznego, ale nie pełnego zahamowania (jedynie w 20%) wiązania CRP do monocytów i komórek linii premonocytarnej U-937 [16]. Receptory Fc γ RIIIa (CD32) oraz Fc γ RIIIb (CD16) to – w przeciwieństwie do Fc γ RI, uznawanego za receptor dużego powinowactwa – receptory małego powinowactwa wiążące białko C-reaktywne. Receptor Fc γ RIIIa, oprócz Fc γ RI, uznawany jest za główny receptor uczestniczący w oddziaływaniu krwinek białych i komórek śródbłónka z białkiem C-reaktywnym podczas

zapalenia [6,18]. Poprzez fosforylację tyrozyn w cząsteczkach receptora FcγRIIa i kinazy Syk, CRP działając w dużym stężeniu (10–200 µg/ml) inicjuje proces przekazywania sygnału do wnętrza leukocytów. Następująca po tym fosforylacja i translokacja fosfolipazy Cγ2 (phospholipase γ2 – PLCγ2) i kinazy PI3, prowadzące do mobilizacji wewnątrzkomórkowego Ca²⁺, świadczą o zdolności CRP do generowania wewnątrzkomórkowych mediatorów uczestniczących w procesie fagocytozy [14]. Zastosowanie rekombinowanych zmutowanych cząsteczek CRP w badaniach wiązania białka CRP do komórek linii COS-7 transfekowanych receptorami FcγRI i FcγRIIa pozwoliło na zidentyfikowanie głównych aminokwasów w cząsteczce CRP biorących udział w oddziaływaniu białka z receptorami Fc, a zarazem umożliwiło wykazanie, że miejsca wiązania FcγRI i FcγRIIa w cząsteczce CRP zachodzą na siebie [3]. Należy jednak dodać, że z heterogenicznością form CRP (patrz niżej) wiąże się udział odmiennych receptorów uczestniczących w transdukcji sygnału. Działanie natywnego CRP wiąże się przede wszystkim z rozpoznawaniem FcγRIIa, podczas gdy o aktywności biologicznej monomerycznej formy CRP decyduje w głównej mierze receptor FcγRIIIb [44].

Mechanizmy oddziaływania CRP z płytkami krwi są mało poznane. Lata 70. ub.w. zaowocowały pierwszymi doniesieniami na temat oddziaływania białka C-reaktywnego z płytkami krwi, jednak dopiero w latach 80. i na początku lat 90. określono pierwsze mechanizmy tych oddziaływań, wskazując na fosfocholinę w fosfolipidach błon komórkowych oraz receptor PAF jako potencjalne miejsca wiążące CRP [34,109]. Przez podobieństwo do receptorów CRP na leukocytach, można byłoby zasugerować kolejny potencjalny mechanizm oddziaływania CRP z płytkami, mianowicie wiązanie CRP z jedynym płytkowym receptorem klasy Fc, receptorem Fc gamma RIIA. Jak dotąd nie ma niestety dowodów przemawiających za udziałem płytkowego Fc gamma RIIA w interakcji z CRP.

Podsumowując, można byłoby wysnuć przypuszczenie, że działanie białka C-reaktywnego *in vivo* jest wypadkową oddziaływań CRP z komórkami krwi (na drodze receptorowej lub pozareceptorowej) i/lub składnikami osocza.

POLIMORFIZMY GENU BIAŁKA C-REAKTYWNEGO

Jak dotąd, słabo poznano mechanizmy regulujące „podstawowe” stężenie CRP, a także jego wzrost w stanie zapalnym. Wśród czynników modyfikujących stężenie CRP wymienia się cytokiny, takie jak interleukinę 1 czy interleukinę 6 [4,23,24,26,51,108]. Stężenie CRP może być związane z typem antropoidalnym, płcią, a także występowaniem klasycznych czynników ryzyka chorób serca (wiek, palenie tytoniu, wskaźnik masy ciała) [41,80,84,85]. Ponadto, badania rodzinne wykazują, że czynniki genetyczne odpowiadają za 40% zmian obserwowanych w stężeniu białka C-reaktywnego w osoczu [54,64]. W ostatnim czasie identyfikacja zmienności genetycznych, które potencjalnie mogą warunkować stężenie CRP w ustroju, stała się jednym z nadrzędnych celów badań nad zapaleniem i chorobami układu krążenia. W badaniach genetycznych dotyczących CRP zwraca się uwagę na związek między genotypem a stężeniem CRP lub ryzykiem choroby (toczeń rumieniowaty, zakrzepica tętnic, cukrzyca typu 2)

[8,83,94,115,117]. W odwołaniu do zróżnicowanych form CRP Verma i wsp. zasugerowali występowanie zależności między uwarunkowaniami genetycznymi a stabilnością monomerów i pentamerów CRP [106]. Hipoteza ta nie została w żaden sposób potwierdzona eksperymentalnie. Ogólnie, można odnieść wrażenie, że niemal każda z nielicznych publikacji, jakie się dotychczas ukazały na ten temat, opisuje coraz to nowe warianty genetyczne białka C-reaktywnego w kontekście zależności między polimorfizmem, a stężeniem CRP w osoczu lub ryzykiem wystąpienia chorób naczyniowych. Związek między stężeniem CRP a polimorfizmami w regionie promotorowym genu CRP opisali niedawno Kovacs i wsp. [49] oraz Carlson i wsp. [11]. Podobne badania przeprowadzili Russell i wsp. [83] oraz Suk i wsp. [92], analizując polimorfizmy genu CRP w eksonie 2 i w regionie 3'UTR nieulegającym translacji. Ze względu na niezwykle złożoną metodykę oraz dużą liczebność badanych grup, na szczególną uwagę zasługuje praca Carlsona i wsp. [11]. Autorzy wymienionej publikacji wyselekcjonowali 7 polimorfizmów genu CRP związanych ze stężeniem CRP w osoczu. Analiza tych polimorfizmów w dużej liczbie grupie osób w zestawieniu z wynikami pomiarów stężenia CRP stworzyła możliwość wyznaczenia 8 najczęściej występujących haplotypów oznaczonych jako H1-H8. Haplotyp H1 związany był z najmniejszym stężeniem CRP, małe i duże stężenia CRP wyznaczane były odpowiednio przez haplotypy H2-H4 oraz H5, H7-H8, zaś osoby o haplociepie H6 charakteryzowały się najwyższym rejestrowanym stężeniem CRP.

WARTOŚĆ CRP W BADANIACH KLINICZNYCH

Miażdżycą jest stanem chronicznego zapalenia na skutek uszkodzenia śródbłonna naczyniowego [81]. Wczesne zmiany miażdżycowe związane z pojawianiem się w ścianach tętnic nacieków tłuszczowych prowadzą ostatecznie do utworzenia blaszki miażdżycowej. Proces powstawania blaszki miażdżycowej jest złożony i opiera się na oddziaływaniach komórek śródbłonna, cytokin oraz komórek krwi. Obecnie sądzi się, że białko C-reaktywne aktywnie uczestniczy w tym procesie. Co więcej, oznaczanie stężenia hs-CRP (oznaczanie CRP testem wysokiej czułości) stanowi obecnie metodę umożliwiającą szacowanie ryzyka chorób naczyń. Jak dowodzą badania kliniczne, stężenie CRP w osoczu jest dobrym, niezależnym czynnikiem prognostycznym zawału mięśnia sercowego, udaru czy też choroby tętnic obwodowych [46,73,74,75,79,82]. Osoby mające podwyższony poziom CRP w osoczu obarczone są około 2-krotnie wyższym ryzykiem udaru lub choroby naczyń obwodowych oraz około 3-krotnie wyższym ryzykiem zawału serca. Zależność między podwyższonym poziomem CRP, a zwiększonym ryzykiem choroby sercowo-naczyniowej utrzymuje się nawet przy prawidłowym profilu lipidowym. Natomiast u osób ze znacząco podwyższonym stężeniem CRP i cholesterolu ryzyko incydentów sercowo-naczyniowych wzrasta nawet 9-krotnie w porównaniu do osób z prawidłowymi wartościami obu parametrów [78]. Analiza porównawcza znaczenia podwyższonych stężeń białka C-reaktywnego i cholesterolu (frakcji LDL) w prognosyce chorób naczyniowych u pozornie zdrowych kobiet wskazuje, że CRP jest bardziej istotnym czynnikiem ryzyka niż LDL-cholesterol. Nie tylko u osób zdrowych, ale i u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym, stabilną dusznicą bolesną, zespołem metabolicznym oraz u chorych

po przebytym zawale mięśnia sercowego, dostrzeżono istotny związek między stężeniem CRP a ryzykiem wystąpienia incydentów wieńcowych [36,60,72,77]. Według bieżącej klasyfikacji, opierającej się na analizie stężenia hsCRP we krwi, wyróżnia się grupy niskiego (<1 mg/ml), średniego (1–3 mg/ml) i wysokiego ryzyka (>3 mg/ml) [116]. Z powodu własności, jakie białko C-reaktywne przejawia w ustroju, białko to wydaje się odpowiednim markerem do oceny ryzyka chorób naczyń. W przeciwieństwie do interleukiny 6 (IL-6), CRP ma względnie długi okres półtrwania (około 19 godzin), a jego stężenie w osoczu nie podlega fluktuacjom okołodobowym [56,91,110]. Należy wyraźnie podkreślić, że zastosowanie kliniczne testu hsCRP opiera się nie tylko na wartości stężenia CRP – jako niezależnego markera prognostycznego, ale również na znaczeniu hsCRP jako dodatkowego czynnika w klasycznym badaniu przesiewowym pozwalającym na selekcję osób o podwyższonym ryzyku powikłań naczyniowych w populacji ogólnej. Co bardzo istotne, test hsCRP jest użyteczny wtedy, gdy w badanej populacji znane są:

- 1) rozkład wartości stężeń hsCRP,
- 2) charakterystyka kliniczna wyodrębnionych przedziałów kwartylowych hsCRP i
- 3) oczekiwane wartości ryzyka dla każdego z zakresów rozkładu hsCRP w populacji [71].

Niestety, jeszcze nie wiadomo, czy spadek poziomu CRP, jak to jest w przypadku LDL, może zwiększyć szanse przeżycia pacjentów lub też obniżyć ryzyko chorób serca. Zapewne zmiana stylu życia może do pewnego stopnia modyfikować stężenie CRP we krwi, bo takie czynniki jak otyłość, palenie tytoniu, cukrzyca czy nieaktywny tryb życia są związane z podwyższonym stężeniem CRP [25,35,80,97]. Intrygujące wydają się badania monitorowania stężenia hsCRP w terapii statynami czy terapii przeciwplatekowej [58,67,73,76]. Okazuje się bowiem, że skuteczność działania statyn lub aspiryny jest większa u pacjentów z wyższym stężeniem hsCRP [58,73]. Na podstawie badań klinicznych JUPITER [58] należałoby wnioskować, że decyzja o rozpoczęciu terapii statynami powinna być podejmowana po wcześniejszej ocenie stężenia hsCRP i LDL-cholesterolu. Dlatego też sugeruje się, aby wprowadzić rutynowe monitorowanie stężenia hsCRP w celu wyselekcjonowania pacjentów „wysokiego ryzyka”, u których terapia statynami rzeczywiście jest efektywna.

CRP MEDIATOREM MIAŻDŻYCY

Z każdym rokiem literatura naukowa dostarcza kolejnych dowodów świadczących o bezpośredniej roli białka C-reaktywnego w patogenezie miażdżycy. Ustalenie pełnego obrazu funkcjonowania białka C-reaktywnego w warunkach *in vivo* nie jest jednak proste ze względu na obserwacje świadczące zarówno o pro-, jak i przeciwzapalnym działaniu CRP.

Przeciwzapalne działanie białka C-reaktywnego wykazano w doświadczeniach *in vitro* oraz *in vivo*, w których CRP okazało się silnym inhibitorem funkcji komórek krwi. W obecności różnych agonistów (trombina, kolagen, ADP, PAF, adrenalina, kwas arachidonowy), białko C-reaktywne hamuje agregację płytek krwi, a procesowi temu może towarzyszyć zahamowanie reakcji uwalniania ziarnistości wewnątrzpłytkowych, tj. ADP i serotoniny [28,29,31].

Wykazany w eksperymentach *in vitro* efekt hamowania funkcji płytek zaprzecza badaniom kliniczno-kontrolnym, w których ujawniono związek między podwyższoną reaktywnością płytek krwi a podwyższonym poziomem białka C-reaktywnego u pacjentów z chorobą wieńcową lub udarem [53,99]. Oddziałując z neutrofilami, CRP hamuje chemotaksję leukocytów, ich degranulację, a także wybuch oddechowy neutrofilów po stymulacji FMLP (czynnik chemotaktyczny; N-formylo-metionyl-leucylofenyloalanina), PMA (aktywator kinazy białkowej C; octan mirystylanu forbolu) lub PAF (czynnik aktywujący płytki; platelet activating factor) [9,33,40]. Wpływ CRP na neutrofile został wykazany w eksperymentach *in vitro*, a następnie potwierdzony w badaniach opartych na modelach zwierzęcych (transgeniczne myszy, króliki) [2,38,39]. Dane z badań *in vivo* wskazują na CRP jako na czynnik ochronny, skuteczny w zapobieganiu napływowi neutrofilów i przeciekowi białek do pęcherzyków płucnych w wyniku uszkodzenia płuc. Podobny wpływ na leukocyty wywierają aktywne biologicznie fragmenty peptydowe uwalniane z natywnego CRP [37,88,89]. Powodem osłabienia lub ograniczenia odpowiedzi zapalnej przez CRP (lub syntetyczne peptydy odpowiadające sekwencjami aminokwasowymi w części CRP 174-185 oraz 201-206) może być również hamowanie adhezji neutrofilów do śródbłonna naczyniowego, procesu charakteryzującego pierwszy etap migracji neutrofilów do miejsc zapalenia. Najprawdopodobniej, CRP wpływa na oddziaływanie neutrofilów z komórkami śródbłonna przez obniżenie ekspresji neutrofilowej selektyny L (CD62L) na skutek „zrzucania” cząsteczek receptora (receptor shedding) z powierzchni komórki [118].

O bezpośrednim udziale białka C-reaktywnego w patofizjologii chorób naczyń świadczy wpływ CRP na dysfunkcję śródbłonna. Fichtlscherer i wsp. określili białko C-reaktywne mianem przejściowego niezależnego czynnika dysfunkcji śródbłonna, wykazując zależność między dużym stężeniem CRP a upośledzeniem reaktywności naczyń u pacjentów z chorobą wieńcową. Ów defekt jest jednak zjawiskiem przemijającym, ustępującym w warunkach normalizacji podwyższonych wartości CRP [27]. Kolejne prace, w dużej mierze powstałe w oparciu o doświadczenia na hodowlach tkankowych, potwierdziły w sposób bezpośredni uczestnictwo CRP we wzmacnianiu odpowiedzi zapalnej i progresji miażdżycy. Na przykład, CRP może indukować ekspresję cząsteczek adhezyjnych oraz chemokin w ścianie naczyniowej. Niestymulowane ludzkie komórki śródbłonna izolowane z żyły pępowinowej (**human umbilical vein endothelial cells** – HUVEC) wykazują niewielką ekspresję cząsteczki adhezyjnej ICAM-1 oraz chemokiny MCP-1, natomiast nie eksponują na swej powierzchni ani VCAM-1, ani selektyny E. Dopiero inkubacja z ludzkim CRP, o stężeniu obserwowanym u osób „wysokiego ryzyka” lub u pacjentów z niestabilną dusznicą bolesną ($\geq 5 \mu\text{g/ml}$), prowadzi do znaczącego wzrostu ekspresji wszystkich wymienionych wyżej białek, przy czym warunkiem tych zmian jest obecność niokreślonych jak dotąd składników występujących w surowicy krwi [65,66]. Z kolei, w hodowlach śródbłonna izolowanego z żyły odpiszczelowej (**human saphenous vein endothelial cells** – HSVEC) wykazano wzmożoną sekrecję endoteliny 1 (ET-1) oraz IL-6 pod wpływem CRP [105]. Prace na temat chemotaktycznego działania białka C-reaktywnego na monocyty i makrofagi są kontrowersyjne, pokazujące efekt

hamowania (patrz wyżej) i stymulacji zależnej od CRP chemotaksji leukocytów. Ostatnie doniesienia charakteryzują CRP jako ważny czynnik chemotaktyczny, którego odkładanie się w ścianie naczyniowej poprzedza infiltrację monocytów do ściany tętniczej we wczesnej fazie miażdżycy i przyczynia się do tworzenia komórek piankowatych [101,120]. Według zaproponowanego nowego mechanizmu, tworzenie komórek piankowatych może zachodzić w wyniku opsonizacji natywnych lipoprotein o małej gęstości przez białko C-reaktywne oddziałujące z receptorem CD32 na makrofagach. Powyższa idea podważa zatem powszechnie znany i przyjęty mechanizm, przypisujący pierwszorzędną rolę modyfikowanym biochemicznie LDL w powstawaniu blaszki miażdżycowej.

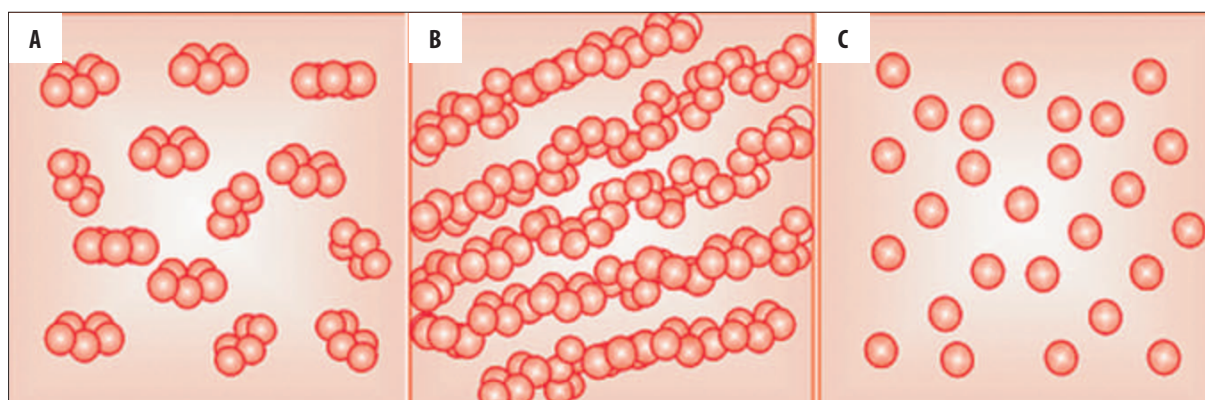
Ostatnio wiele dyskutuje się o aktywności prokoagulacyjnej białka C-reaktywnego. Może ona polegać na hamowaniu przez CRP procesu uwalniania ze śródbłonka tlenu azotu (NO) i prostacykliny (PGI₂), będących głównymi mediatorami regulującymi napięcie ściany naczyniowej. Oprócz rozszerzania naczyń krwionośnych, oba wymienione związki hamują aktywację płytek krwi, a także ograniczają adhezję leukocytów do ściany naczyniowej i proliferację komórek mięśni gładkich. Tlenek azotu jest wytwarzany z L-argininy w reakcji katalizowanej przez śródbłonkową syntazę tlenu azotu (eNOS). Enzymem katalizującym wytwarzanie prostacykliny z kwasu arachidonowego jest syntaza prostaglandyny I (PGIS). Spadek ekspresji lub aktywności biologicznej enzymów oznacza spadek syntezy produktów. W obecności białka C-reaktywnego może dochodzić do zahamowania uwalniania zarówno NO, jak i prostacykliny, co potencjalnie sprzyja powstawaniu środowiska promującego zapalenie i tworzenie zakrzepów. Przekonują nas o tym obserwacje wskazujące na spadek stężenia i aktywności syntazy tlenu azotu oraz redukcja stężenia stabilnego metabolitu PGI₂, PGF_{1α}, pod wpływem CRP [103,104,107]. Danenberg i wsp. jako pierwsi zastosowali model zwierzęcy do badania aktywności biologicznej ludzkiego białka C-reaktywnego. Wykazali, że uszkodzenie tętnic transgenicznych myszy wytwarzających ludzkie CRP prowadzi do szybszej okluzji naczyń [17]. Dalszych dowodów potwierdzających prozakrzepowe właściwości CRP dostarczają badania *in vitro* nad wpływem CRP na białka układu hemostazy. Inkubacja komórek śródbłonka z CRP przejawia się obniżaniem poziomu i aktywności t-PA [90] oraz wzrostem ekspresji/aktywności PAI-1 [19]. Mechanizmy tych zmian nie są dobrze znane. Wiadomo jedynie, że regulacja aktywności t-PA przez CRP opiera się na generacji prozapalnych cytokin IL-1β i TNF-α. Z kolei, w monocytach zaobserwowano indukcję czynnika tkankowego w obecności białka C-reaktywnego [12], choć CRP nie jest bezpośrednim „sprawcą” tego procesu [63]. Ponadto, u pacjentów z posocznicą wykazano dodatnią korelację między czasem fibrynolizy w euglobulinach a stężeniem CRP w surowicy [7].

FORMY CRP

Jedną z przyczyn niespójnych danych na temat działania białka C-reaktywnego może być to, że obserwowany wpływ tego białka istotnie zależy od struktury cząsteczki CRP. Tymczasem, w olbrzymiej większości opublikowanych badań klinicznych autorzy nie zwracają uwagi na udział różnych postaci CRP w rejestrowanych zależno-

ściach między stężeniem osocznego CRP a innymi parametrami. Usprawiedliwieniem tego może być to, że komercyjnie dostępne testy do oznaczania stężenia CRP we krwi pozwalają na detekcję prawdopodobnie jedynie jego natywnej postaci. Na początku lat 80. ub.w. odkryto zmodyfikowaną postać białka C-reaktywnego (mCRP) [68,69]. Uważa się, że obie opisane postaci CRP, tj. natywna (pentamer zbudowany z 5 identycznych podjednostek o masie 23 kDa każda; CRP) i zmodyfikowana (monomer; mCRP) występują naturalnie w ustroju. Jak wynika z badań immunohistochemicznych, mCRP, w odróżnieniu od CRP, występuje w prawidłowych ludzkich tkankach, o czym świadczy jego wysoka ilość w ścianach naczyń krwionośnych [21]. Mechanizm powstawania mCRP polega na dysocjacji pentamerów CRP do pojedynczych jednostek zachodzącej w określonych warunkach (np. w środowisku denaturującym) i po związaniu się natywnego białka C-reaktywnego z błoną komórkową. Powstałe monomery z kolei, podlegają zmianom konformacyjnym ze zmianą struktury drugorzędowej charakterystycznej dla β-harmonijki na korzyść α-helisy. Dlatego nieodwracalnie zmodyfikowana postać CRP i natywne CRP różnią się cechami fizykochemicznymi (ładunek, masa cząsteczkowa, rozpuszczalność), odmienną charakterystyką antygenową (tzw. „neo-CRP”) i zmienioną aktywnością biologiczną [42,50,68,69,113,119]. Ponadto, cząsteczka mCRP jest bardziej wrażliwa na proteolizę niż natywne CRP [45].

Badania porównawcze *in vitro* nad wpływem CRP i mCRP na regulację funkcji neutrofilów i komórek śródbłonka ujawniają różnice w aktywności biologicznej obu postaci CRP i wskazują na silny antagonizm w działaniu CRP i mCRP. W obecności monomeru CRP wydłuża się czas życia neutrofilów [42]. Modyfikowane białko C-reaktywne wykazuje w tym wypadku działanie antyapoptotyczne, możliwe dzięki oddziaływaniu mCRP z receptorem FcγRIIb (CD16), uznawanym za główne miejsce wiązania mCRP na neutrofilach [42]. Dzięki zależnej od mCRP aktywacji CD16 dochodzi do stymulacji kinazy ERK (extracellular-signal-regulated kinase) i 3-kinazy fosfatydilinozytolu (PI 3-kinase; kinaza PI3), prowadzącej do hamowania kaspazy 3 i w rezultacie do opóźnienia apoptozy. Niedawno wykazano antagonistyczne działanie izoform CRP w badaniach adhezji i agregacji neutrofilów. Co prawda, pod wpływem obu postaci CRP obserwuje się spadek ekspresji neutrofilowej selektyny L, ale wzrost ekspresji receptorów CD11/CD18 na powierzchni neutrofilów jest wynikiem działania jedynie monomeru CRP [119]. Monomer CRP postrzegany jest więc jako czynnik promujący adhezję neutrofilów do komórek śródbłonka. Opisane wyżej zjawisko zachodzi dzięki aktywacji szlaku sygnałowego ERK wiodącego poprzez białka Ras/Raf-1/MEK/ERK. Podczas działania niewielkich sił ścinających ($\approx 100 \text{ s}^{-1}$), mCRP wzmacnia również dynamikę i zasięg adhezji neutrofilów do płytek krwi i agregacji neutrofilów. Proponowany model adhezji płytka-neutrofil zakłada kilkuetapowy proces angażujący wiele różnych receptorów, wśród których kluczowym jest płytkowa selektyna P. Indukowana przez CRP aktywacja płytek krwi prowadzi do wzrostu ekspresji selektyny P na powierzchni komórek, co wzmacnia oddziaływanie płytek z neutrofilową cząsteczką adhezyjną PSGL-1 [44]. Badania porównawcze *in vitro* nad wpływem izoform CRP wykazały różnice w aktywacji komórek śródbłonka tętnic wieńcowych (human coronary artery endothelial



Ryc. 1. Typy strukturalne białka C-reaktywnego obserwowane na powierzchni błon fosfolipidowych. Warunki inkubacji CRP z błonami fosfolipidowymi determinują strukturę cząsteczek CRP. Struktura pierścieniowa (A) jest typową postacią białka C-reaktywnego charakteryzującą natywne CRP. Pentamery natywnego CRP mogą się zlepić ze sobą tworząc strukturę typu włóknienkowego (B) albo dysocjować do małych globularnych monomerów CRP (C)

cells – HCAEC) [43]. Jak wynika z tych badań, 4-godzinna inkubacja komórek z mCRP, ale nie z CRP, prowadziła do indukcji uwalniania cytokin i ekspresji cząsteczek adhezyjnych na szlaku aktywacji p38 MAPK (mitogen activated protein kinase), wskazując tym samym na rolę mCRP jako czynnika prozapalnego. Wydaje się, że działanie CRP obserwowane w eksperymentalnych modelach badawczych może być uzależnione od gatunku, z którego pobierany jest materiał badawczy. Badania modelowe na myszach pozbawionych genu apolipoproteiny E sugerują, że modyfikowane CRP spowalnia proces miażdżycowy, zaś natywne białko CRP działa aterogennie [87].

Wpływ obu postaci CRP był również analizowany w aspekcie badania funkcji ludzkich płytek krwi [32,47,57,70]. Niezależnie od metody uzyskiwania mCRP do badań *in vitro* płytek krwi, doniesienia literaturowe dość spójnie przypisują natywnemu CRP właściwości inhibitora aktywacji płytek, agregacji i reakcji uwalniania [28,29,31,34,109], podczas gdy modyfikowanemu CRP rolę czynnika stymulującego funkcje tych komórek [32,47,57,70]. Nie dziwi przypuszczenie, że częstość występowania form zmodyfikowanych jest szczególnie duża w stanach patologicznych, np. w chorobach sercowo-naczyniowych z towarzyszącymi im dysfunkcjami metabolicznymi, takimi jak stres oksydacyjny, hiperglikemia, glikacja i glikosylacja, itp. Na podstawie obserwacji dotyczących wpływu mCRP na funkcje różnych komórek można by zasugerować związek między obecnością mCRP w ustroju a ryzykiem występowania incydentów sercowo-naczyniowych. Należy tutaj zwrócić uwagę na odkładanie się białka C-reaktywnego w patologicznie zmienionej na skutek miażdżycy ścianie naczyń, opisane po raz pierwszy przez Vlaicu i wsp. [111]. Prawdopodobnie, do miejsca zapalenia dostają się natywne lub związane z lipoproteinami cząsteczki CRP. Te pierwsze mogłyby dalej podlegać zmianom struktural-

nym, np. utlenianiu, lub też tworzyć struktury włóknienkowe w wyniku zlepienia się cząsteczek pentamerów [114] (ryc. 1). Degradacja pentameru CRP w środowisku zapalnym, w wyniku której są uwalniane biologicznie aktywne peptydy również była brana pod uwagę jako jeden z mechanizmów przemian CRP w ustroju [30]. Z najnowszych doniesień na temat obecności CRP w miażdżycowo zmienionych naczyniach wynika, że białko C-reaktywne odkłada się w tętnicach wieńcowych już we wczesnej fazie miażdżycy (jeszcze przed pojawieniem się w ścianie tętniczej monocytów), albo w postaci natywnej albo związanej z lipoproteinami, a ogniska jego występowania stanowią komórki piankowe oraz warstwy włóknisto-sprężysta i włóknisto-mięśniowa błony wewnętrznej naczynia [100]. Obecność CRP w sąsiedztwie komórek piankowych mogłaby być następstwem toczącego się procesu opóźnienia lipidów w ścianie tętnic przez CRP, wytwarzanego w wątrobie i/lub syntetyzowanego *in situ* przez monocyty/makrofagi/komórki mięśni gładkich tętnic wieńcowych [10,15,22,48]. Teoretycznie, białko C-reaktywne odkładane w uszkodzonych tętnicach mogłoby podlegać przemianom prowadzącym do powstawania CRP o odmiennej aktywności biologicznej. W organizmie istotne znaczenie mogłaby mieć proporcja między formami działającymi prozapalnie a cząsteczkami o działaniu przeciwzapalnym.

UWAGI KOŃCOWE

Wielość rozmaitych, często niepowiązanych ze sobą procesów pozostających pod wpływem różnych postaci CRP, działających antagonistycznie względem siebie, komplikuje całościowe zanalizowanie znaczenia biologicznego tego białka. Wprawdzie obecnie funkcjonuje pogląd, iż białko C-reaktywne jest bezpośrednio związane z procesem miażdżycy, to na podstawie literatury ocena wypadkowego działania CRP w ustroju wydaje się trudna do zdefiniowania.

PISMIENICTWO

[1] Agrawal A., Xu Y., Ansardi D., Macon K.J., Volanakis J.E.: Probing the phosphocholine-binding site of human C-reactive protein by site-directed mutagenesis. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 25353–25358

[2] Ahmed N., Thorley R., Xia D., Samols D., Webster R.O.: Transgenic mice expressing rabbit C-reactive protein exhibit diminished chemotactic factor-induced alveolitis. *Am. J. Respir. Crit Care Med.*, 1996; 153: 1141–1147

- [3] Bang R., Marnell L., Mold C., Stein M.P., Clos K.T., Chivington-Buck C., Clos T.W.: Analysis of binding sites in human C-reactive protein for FcγRI, FcγRIIA, and C1q by site-directed mutagenesis. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 25095–25102
- [4] Berger P., McConnell J.P., Nunn M., Kornman K.S., Sorrell J., Stephenson K., Duff G.W.: C-reactive protein levels are influenced by common IL-1 gene variations. *Cytokine*, 2002; 17: 171–174
- [5] Bhakdi S., Torzewski M., Klouche M., Hemmes M.: Complement and atherogenesis: binding of CRP to degraded, nonoxidized LDL enhances complement activation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999; 19: 2348–2354
- [6] Bharadwaj D., Stein M.P., Volzer M., Mold C., Du Clos T.W.: The major receptor for C-reactive protein on leukocytes is fcgamma receptor II. *J. Exp. Med.*, 1999; 190: 585–590
- [7] Boudjeltia Z.K., Piagnerelli M., Brohee D., Guillaume M., Cauchie P., Vincent J.L., Remacle C., Bouckaert Y., Vanhaeverbeek M.: Relationship between CRP and hypofibrinolysis: Is this a possible mechanism to explain the association between CRP and outcome in critically ill patients? *Thromb. J.*, 2004; 2: 7
- [8] Brull D.J., Serrano N., Zito F., Jones L., Montgomery H.E., Rumley A., Sharma P., Lowe G.D., World M.J., Humphries S.E., Hingorani A.D.: Human CRP gene polymorphism influences CRP levels: implications for the prediction and pathogenesis of coronary heart disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2003; 23: 2063–2069
- [9] Buchta R., Fridkin M., Pontet M., Contessi E., Scaggiante B., Romeo D.: Modulation of human neutrophil function by C-reactive protein. *Eur. J. Biochem.*, 1987; 163: 141–146
- [10] Calabro P., Willerson J.T., Yeh E.T.: Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation*, 2003; 108: 1930–1932
- [11] Carlson C.S., Aldred S.F., Lee P.K., Tracy R.P., Schwartz S.M., Rieder M., Liu K., Williams O.D., Iribarren C., Lewis E.C., Fornage M., Boerwinkle E., Gross M., Jaquish C., Nickerson D.A., Myers R.M., Siscovick D.S., Reiner A.P.: Polymorphisms within the C-reactive protein (CRP) promoter region are associated with plasma CRP levels. *Am. J. Hum. Genet.*, 2005; 77: 64–77
- [12] Cermak J., Key N.S., Bach R.R., Balla J., Jacob H.S., Vercellotti G.M.: C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor. *Blood*, 1993; 82: 513–520
- [13] Chang M.K., Binder C.J., Torzewski M., Witztum J.L.: C-reactive protein binds to both oxidized LDL and apoptotic cells through recognition of a common ligand: Phosphorylcholine of oxidized phospholipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 13043–13048
- [14] Chi M., Tridandapani S., Zhong W., Coggeshall K.M., Mortensen R.F.: C-reactive protein induces signaling through Fc gamma RIa on HL-60 granulocytes. *J. Immunol.*, 2002; 168: 1413–1418
- [15] Ciubotaru I., Potempa L.A., Wander R.C.: Production of modified C-reactive protein in U937-derived macrophages. *Exp. Biol. Med.* (Maywood), 2005; 230: 762–770
- [16] Crowell R.E., Du Clos T.W., Montoya G., Heaphy E., Mold C.: C-reactive protein receptors on the human monocytic cell line U-937. Evidence for additional binding to Fc gamma RI. *J. Immunol.*, 1991; 147: 3445–3451
- [17] Danenberg H.D., Szalai A.J., Swaminathan R.V., Peng L., Chen Z., Seifert P., Fay W.P., Simon D.I., Edelman E.R.: Increased thrombosis after arterial injury in human C-reactive protein-transgenic mice. *Circulation*, 2003; 108: 512–515
- [18] Devaraj S., Du Clos T.W., Jialal I.: Binding and internalization of C-reactive protein by Fcgamma receptors on human aortic endothelial cells mediates biological effects. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005; 25: 1359–1363
- [19] Devaraj S., Xu D.Y., Jialal I.: C-reactive protein increases plasminogen activator inhibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells: implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis. *Circulation*, 2003; 107: 398–404
- [20] DiCamelli R., Potempa L.A., Siegel J., Suyehira L., Petras K., Gewurz H.: Binding reactivity of C-reactive protein for polycations. *J. Immunol.*, 1980; 125: 1933–1938
- [21] Diehl E.E., Haines G.K. III, Radosevich J.A., Potempa L.A.: Immunohistochemical localization of modified C-reactive protein antigen in normal vascular tissue. *Am. J. Med. Sci.*, 2000; 319: 79–83
- [22] Dong Q., Wright J.R.: Expression of C-reactive protein by alveolar macrophages. *J. Immunol.*, 1996; 156: 4815–4820
- [23] Eklund C., Jahan F., Pessi T., Lehtimäki T., Hurme M.: Interleukin 1B gene polymorphism is associated with baseline C-reactive protein levels in healthy individuals. *Eur. Cytokine Netw.*, 2003; 14: 168–171
- [24] Eklund C., Lehtimäki T., Hurme M.: Epistatic effect of C-reactive protein (CRP) single nucleotide polymorphism (SNP) +1059 and interleukin-1B SNP +3954 on CRP concentration in healthy male blood donors. *Int. J. Immunogenet.*, 2005; 32: 229–232
- [25] Esposito K., Pontillo A., Di Palo C., Giugliano G., Masella M., Marfella R., Giugliano D.: Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA*, 2003; 289: 1799–1804
- [26] Ferrari S.L., Ahn-Luong L., Garner P., Humphries S.E., Greenspan S.L.: Two promoter polymorphisms regulating interleukin-6 gene expression are associated with circulating levels of C-reactive protein and markers of bone resorption in postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2003; 88: 255–259
- [27] Fichtlscherer S., Rosenberger G., Walter D.H., Breuer S., Dimmeler S., Zeiher A.M.: Elevated C-reactive protein levels and impaired endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease. *Circulation*, 2000; 102: 1000–1006
- [28] Fiedel B.A., Gewurz H.: Effects of C-reactive protein on platelet function. I. Inhibition of platelet aggregation and release reactions. *J. Immunol.*, 1976; 116: 1289–1294
- [29] Fiedel B.A., Gewurz H.: Effects of C-reactive protein on platelet function. II. Inhibition by CRP of platelet reactivities stimulated by poly-L-lysine, ADP, epinephrine, and collagen. *J. Immunol.*, 1976; 117: 1073–1078
- [30] Fiedel B.A., Gewurz H.: Cleaved forms of C-reactive protein are associated with platelet inhibition. *J. Immunol.*, 1986; 136: 2551–2555
- [31] Fiedel B.A., Simpson R.M., Gewurz H.: Effects of C-reactive protein on platelet function. III. The role of cAMP, contractile elements, and prostaglandin metabolism in CRP-induced inhibition of platelet aggregation and secretion. *J. Immunol.*, 1977; 119: 877–882
- [32] Fiedel B.A., Simpson R.M., Gewurz H.: Activation of platelets by modified C-reactive protein. *Immunology*, 1982; 45: 439–447
- [33] Filep J., Foldes-Filep E.: Effects of C-reactive protein on human neutrophil granulocytes challenged with N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine and platelet-activating factor. *Life Sci.*, 1989; 44: 517–524
- [34] Filep J.G., Herman F., Kelemen E., Foldes-Filep E.: C-reactive protein inhibits binding of platelet-activating factor to human platelets. *Thromb. Res.*, 1991; 61: 411–421
- [35] Haffner S.M., Greenberg A.S., Weston W.M., Chen H., Williams K., Freed M.I.: Effect of rosiglitazone treatment on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus. *Circulation*, 2002; 106: 679–684
- [36] Haverkate F., Thompson S.G., Pyke S.D., Gallimore J.R., Pepys M.B.: Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet*, 1997; 349: 462–466
- [37] Heuertz R.M., Ahmed N., Webster R.O.: Peptides derived from C-reactive protein inhibit neutrophil alveolitis. *J. Immunol.*, 1996; 156: 3412–3417
- [38] Heuertz R.M., Piquette C.A., Webster R.O.: Rabbits with elevated serum C-reactive protein exhibit diminished neutrophil infiltration and vascular permeability in C5a-induced alveolitis. *Am. J. Pathol.*, 1993; 142: 319–328
- [39] Heuertz R.M., Xia D., Samols D., Webster R.O.: Inhibition of C5a des Arg-induced neutrophil alveolitis in transgenic mice expressing C-reactive protein. *Am. J. Physiol.*, 1994; 266: L649–L654
- [40] Kew R.R., Hyers T.M., Webster R.O.: Human C-reactive protein inhibits neutrophil chemotaxis *in vitro*: possible implications for the adult respiratory distress syndrome. *J. Lab. Clin. Med.*, 1990; 115: 339–345
- [41] Khera A., McGuire D.K., Murphy S.A., Stanek H.G., Das S.R., Vongpatanasin W., Wians F.H.Jr., Grundy S.M., de Lemos J.A.: Race and gender differences in C-reactive protein levels. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2005; 46: 464–469
- [42] Khreiss T., Jozsef L., Hossain S., Chan J.S., Potempa L.A., Filep J.G.: Loss of pentameric symmetry of C-reactive protein is associated with delayed apoptosis of human neutrophils. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 40775–40781
- [43] Khreiss T., Jozsef L., Potempa L.A., Filep J.G.: Conformational rearrangement in C-reactive protein is required for proinflammatory actions on human endothelial cells. *Circulation*, 2004; 109: 2016–2022
- [44] Khreiss T., Jozsef L., Potempa L.A., Filep J.G.: Opposing effects of C-reactive protein isoforms on shear-induced neutrophil-platelet adhesion and neutrophil aggregation in whole blood. *Circulation*, 2004; 110: 2713–2720

- [45] Kinoshita C.M., Ying S.C., Hugli T.E., Siegel J.N., Potempa L.A., Jiang H., Houghten R.A., Gewurz H.: Elucidation of a protease-sensitive site involved in the binding of calcium to C-reactive protein. *Biochemistry*, 1989; 28: 9840–9848
- [46] Koenig W., Sund M., Frohlich M., Fischer H.G., Lowel H., Doring A., Hutchinson W.L., Pepys M.B.: C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation*, 1999; 99: 237–242
- [47] Kohayakawa M., Inoue K.: Augmentation of 1-O-alkyl-2-O-acetyl-sn-glycero-3-phosphocholine (PAF)-induced human platelet activation by C-reactive protein. *Thromb. Res.*, 1986; 41: 649–657
- [48] Kolb-Bachofen V., Puchta-Teudt N., Egenhofer C.: Expression of membrane-associated C-reactive protein by human monocytes: indications for a selectin-like activity participating in adhesion. *Glycoconj. J.*, 1995; 12: 122–127
- [49] Kovacs A., Green F., Hansson L.O., Lundman P., Samnegard A., Boquist S., Ericsson C.G., Watkins H., Hamsten A., Tornvall P.: A novel common single nucleotide polymorphism in the promoter region of the C-reactive protein gene associated with the plasma concentration of C-reactive protein. *Atherosclerosis*, 2005; 178: 193–198
- [50] Kresl J.J., Potempa L.A., Anderson B.E.: Conversion of native oligomeric to a modified monomeric form of human C-reactive protein. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 1998; 30: 1415–1426
- [51] Latkovskis G., Liscis N., Kalnins U.: C-reactive protein levels and common polymorphisms of the interleukin-1 gene cluster and interleukin-6 gene in patients with coronary heart disease. *Eur. J. Immunogenet.*, 2004; 31: 207–213
- [52] Lee R.T., Takagahara I., Lee Y.C.: Mapping the binding areas of human C-reactive protein for phosphorylcholine and polycationic compounds. Relationship between the two types of binding sites. *J. Biol. Chem.*, 2002; 277: 225–232
- [53] Lindmark E., Wallentin L., Siegbahn A.: Blood cell activation, coagulation, and inflammation in men and women with coronary artery disease. *Thromb. Res.*, 2001; 103: 249–259
- [54] MacGregor A.J., Gallimore J.R., Spector T.D., Pepys M.B.: Genetic effects on baseline values of C-reactive protein and serum amyloid A protein: a comparison of monozygotic and dizygotic twins. *Clin. Chem.*, 2004; 50: 130–134
- [55] Marnell L.L., Mold C., Volzer M.A., Burlingame R.W., Du Clos T.W.: C-reactive protein binds to Fc gamma RI in transfected COS cells. *J. Immunol.*, 1995; 155: 2185–2193
- [56] Meier-Ewert H.K., Ridker P.M., Rifai N., Price N., Dinges D.F., Mullington J.M.: Absence of diurnal variation of C-reactive protein concentrations in healthy human subjects. *Clin. Chem.*, 2001; 47: 426–430
- [57] Miyazawa K., Kiyono S., Inoue K.: Modulation of stimulus-dependent human platelet activation by C-reactive protein modified with active oxygen species. *J. Immunol.*, 1988; 141: 570–574
- [58] Mora S., Ridker P.M.: Justification for the use of statins in primary prevention: an intervention trial evaluating rosuvastatin (JUPITER) – can C-reactive protein be used to target statin therapy in primary prevention? *Am. J. Cardiol.*, 2006; 97: 33A–41A
- [59] Morkowski J., Wiktorowicz K., Mackiewicz S.: Pentaksyny – struktura i funkcja. *Post. Hig. Med Dośw.*, 1987; 41: 433–452
- [60] Morrow D.A., Rifai N., Antman E.M., Weiner D.L., McCabe C.H., Cannon C.P., Braunwald E.: C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes: a TIMI IIA substudy. *Thrombolysis in myocardial infarction. J. Am. Coll. Cardiol.*, 1998; 31: 1460–1465
- [61] Muller H., Fehr J.: Binding of C-reactive protein to human polymorphonuclear leukocytes: evidence for association of binding sites with Fc receptors. *J. Immunol.*, 1986; 136: 2202–2207
- [62] Osmand A.P., Friedenson B., Gewurz H., Painter R.H., Hofmann T., Shelton E.: Characterization of C-reactive protein and the complement subcomponent C1t as homologous proteins displaying cyclic pentameric symmetry (pentaxins). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1977; 74: 739–743
- [63] Paffen E., Vos H.L., Bertina R.M.: C-reactive protein does not directly induce tissue factor in human monocytes. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2004; 24: 975–981
- [64] Pankow J.S., Folsom A.R., Cushman M., Borecki I.B., Hopkins P.N., Eckfeldt J.H., Tracy R.P.: Familial and genetic determinants of systemic markers of inflammation: the NHLBI family heart study. *Atherosclerosis*, 2001; 154: 681–689
- [65] Pasceri V., Cheng J.S., Willerson J.T., Yeh E.T.: Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation*, 2001; 103: 2531–2534
- [66] Pasceri V., Willerson J.T., Yeh E.T.: Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*, 2000; 102: 2165–2168
- [67] Plenge J.K., Hernandez T.L., Weil K.M., Poirier P., Grunwald G.K., Marcovina S.M., Eckel R.H.: Simvastatin lowers C-reactive protein within 14 days: an effect independent of low-density lipoprotein cholesterol reduction. *Circulation*, 2002; 106: 1447–1452
- [68] Potempa L.A., Maldonado B.A., Laurent P., Zemel E.S., Gewurz H.: Antigenic, electrophoretic and binding alterations of human C-reactive protein modified selectively in the absence of calcium. *Mol. Immunol.*, 1983; 20: 1165–1175
- [69] Potempa L.A., Siegel J.N., Fiedel B.A., Potempa R.T., Gewurz H.: Expression, detection and assay of a neoantigen (Neo-CRP) associated with a free, human C-reactive protein subunit. *Mol. Immunol.*, 1987; 24: 531–541
- [70] Potempa L.A., Zeller J.M., Fiedel B.A., Kinoshita C.M., Gewurz H.: Stimulation of human neutrophils, monocytes, and platelets by modified C-reactive protein (CRP) expressing a neoantigenic specificity. *Inflammation*, 1988; 12: 391–405
- [71] Ridker P.M.: High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation*, 2001; 103: 1813–1818
- [72] Ridker P.M., Buring J.E., Cook N.R., Rifai N.: C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation*, 2003; 107: 391–397
- [73] Ridker P.M., Cushman M., Stampfer M.J., Tracy R.P., Hennekens C.H.: Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N. Engl. J. Med.*, 1997; 336: 973–979
- [74] Ridker P.M., Cushman M., Stampfer M.J., Tracy R.P., Hennekens C.H.: Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. *Circulation*, 1998; 97: 425–428
- [75] Ridker P.M., Hennekens C.H., Buring J.E., Rifai N.: C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N. Engl. J. Med.*, 2000; 342: 836–843
- [76] Ridker P.M., Rifai N., Pfeffer M.A., Sacks F., Braunwald E.: Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation*, 1999; 100: 230–235
- [77] Ridker P.M., Rifai N., Pfeffer M.A., Sacks F.M., Moye L.A., Goldman S., Flaker G.C., Braunwald E.: Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation*, 1998; 98: 839–844
- [78] Ridker P.M., Rifai N., Rose L., Buring J.E., Cook N.R.: Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N. Engl. J. Med.*, 2002; 347: 1557–1565
- [79] Ridker P.M., Stampfer M.J., Rifai N.: Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA*, 2001; 285: 2481–2485
- [80] Rohde L.E., Hennekens C.H., Ridker P.M.: Survey of C-reactive protein and cardiovascular risk factors in apparently healthy men. *Am. J. Cardiol.*, 1999; 84: 1018–1022
- [81] Ross R.: Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am. Heart J.*, 1999; 138: S419–S420
- [82] Rost N.S., Wolf P.A., Kase C.S., Kelly-Hayes M., Silbershatz H., Massaro J.M., D'Agostino R.B., Franzblau C., Wilson P.W.: Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham study. *Stroke*, 2001; 32: 2575–2579
- [83] Russell A.I., Cunningham Graham D.S., Shepherd C., Robertson C.A., Whittaker J., Meeks J., Powell R.J., Isenberg D.A., Walport M.J., Vyse T.J.: Polymorphism at the C-reactive protein locus influences gene expression and predisposes to systemic lupus erythematosus. *Hum. Mol. Genet.*, 2004; 13: 137–147
- [84] Ryu S.Y., Lee Y.S., Park J., Kang M.G., Kim K.S.: Relations of plasma high-sensitivity C-reactive protein to various cardiovascular risk factors. *J. Korean Med. Sci.*, 2005; 20: 379–383
- [85] Saito M., Ishimitsu T., Minami J., Ono H., Ohnishi M., Matsuo H.: Relations of plasma high-sensitivity C-reactive protein to traditional cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis*, 2003; 167: 73–79

- [86] Salonen E.M., Vartio T., Hedman K., Vaheri A.: Binding of fibronectin by the acute phase reactant C-reactive protein. *J. Biol. Chem.*, 1984; 259: 1496–1501
- [87] Schwedler S.B., Amann K., Wernicke K., Krebs A., Nauck M., Wanner C., Potempa L.A., Galle J.: Native C-reactive protein increases whereas modified C-reactive protein reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation*, 2005; 112: 1016–1023
- [88] Shephard E.G., Anderson R., Rosen O., Myer M.S., Fridkin M., Strachan A.F., De Beer F.C.: Peptides generated from C-reactive protein by a neutrophil membrane protease. Amino acid sequence and effects of peptides on neutrophil oxidative metabolism and chemotaxis. *J. Immunol.*, 1990; 145: 1469–1476
- [89] Shephard E.G., Beer S.M., Anderson R., Strachan A.F., Nel A.E., De Beer F.C.: Generation of biologically active C-reactive protein peptides by a neutral protease on the membrane of phorbol myristate acetate-stimulated neutrophils. *J. Immunol.*, 1989; 143: 2974–2981
- [90] Singh U., Devaraj S., Jialal I.: C-reactive protein decreases tissue plasminogen activator activity in human aortic endothelial cells: evidence that C-reactive protein is a procoagulant. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2005; 25: 2216–2221
- [91] Sothorn R.B., Roitman-Johnson B., Kanabrocki E.L., Yager J.G., Roodell M.M., Weatherbee J.A., Young M.R., Nenchausky B.M., Scheving L.E.: Circadian characteristics of circulating interleukin-6 in men. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1995; 95: 1029–1035
- [92] Suk H.J., Ridker P.M., Cook N.R., Zee R.Y.: Relation of polymorphism within the C-reactive protein gene and plasma CRP levels. *Atherosclerosis*, 2005; 178: 139–145
- [93] Swanson S.J., McPeck M.M., Mortensen R.F.: Characteristics of the binding of human C-reactive protein (CRP) to laminin. *J. Cell Biochem.*, 1989; 40: 121–132
- [94] Szalai A.J., McCrory M.A., Cooper G.S., Wu J., Kimberly R.P.: Association between baseline levels of C-reactive protein (CRP) and a dinucleotide repeat polymorphism in the intron of the CRP gene. *Genes Immun.*, 2002; 3: 14–19
- [95] Taskinen S., Hyvonen M., Kovanen P.T., Meri S., Pentikainen M.O.: C-reactive protein binds to the 3 β -OH group of cholesterol in LDL particles. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2005; 329: 1208–1216
- [96] Taskinen S., Kovanen P.T., Jarva H., Meri S., Pentikainen M.O.: Binding of C-reactive protein to modified low-density-lipoprotein particles: identification of cholesterol as a novel ligand for C-reactive protein. *Biochem. J.*, 2002; 367: 403–412
- [97] Tchernof A., Nolan A., Sites C.K., Ades P.A., Poehlman E.T.: Weight loss reduces C-reactive protein levels in obese postmenopausal women. *Circulation*, 2002; 105: 564–569
- [98] Tillett W.S., Francis T. Jr: Serological reactions in pneumonia with a nonprotein somatic fraction of pneumococcus. *J. Exp. Med.*, 1930; 52: 561–585
- [99] Tohgi H., Konno S., Takahashi S., Koizumi D., Kondo R., Takahashi H.: Activated coagulation/fibrinolysis system and platelet function in acute thrombotic stroke patients with increased C-reactive protein levels. *Thromb. Res.*, 2000; 100: 373–379
- [100] Torzewski J., Torzewski M., Bowyer D.E., Frohlich M., Koenig W., Waltenberger J., Fitzsimmons C., Hombach V.: C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1998; 18: 1386–1392
- [101] Torzewski M., Rist C., Mortensen R.F., Zwaka T.P., Bienek M., Waltenberger J., Koenig W., Schmitz G., Hombach V., Torzewski J.: C-reactive protein in the arterial intima: role of C-reactive protein receptor-dependent monocyte recruitment in atherogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2000; 20: 2094–2099
- [102] Tseng J., Mortensen R.F.: Binding of human C-reactive protein (CRP) to plasma fibronectin occurs via the phosphorylcholine-binding site. *Mol. Immunol.*, 1988; 25: 679–686
- [103] Venugopal S.K., Devaraj S., Jialal I.: C-reactive protein decreases prostacyclin release from human aortic endothelial cells. *Circulation*, 2003; 108: 1676–1678
- [104] Venugopal S.K., Devaraj S., Yuhanna I., Shaul P., Jialal I.: Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation*, 2002; 106: 1439–1441
- [105] Verma S., Li S.H., Badiwala M.V., Weisel R.D., Fedak P.W., Li R.K., Dhillon B., Mickle D.A.: Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein. *Circulation*, 2002; 105: 1890–1896
- [106] Verma S., Szmitko P.E., Yeh E.T.: C-reactive protein: structure affects function. *Circulation*, 2004; 109: 1914–1917
- [107] Verma S., Wang C.H., Li S.H., Dumont A.S., Fedak P.W., Badiwala M.V., Dhillon B., Weisel R.D., Li R.K., Mickle D.A., Stewart D.J.: A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation*, 2002; 106: 913–919
- [108] Vickers M.A., Green F.R., Terry C., Mayosi B.M., Julier C., Lathrop M., Ratcliffe P.J., Watkins H.C., Keavney B.: Genotype at a promoter polymorphism of the interleukin-6 gene is associated with baseline levels of plasma C-reactive protein. *Cardiovasc. Res.*, 2002; 53: 1029–1034
- [109] Vigo C.: Effect of C-reactive protein on platelet-activating factor-induced platelet aggregation and membrane stabilization. *J. Biol. Chem.*, 1985; 260: 3418–3422
- [110] Vigushin D.M., Pepys M.B., Hawkins P.N.: Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *J. Clin. Invest.*, 1993; 91: 1351–1357
- [111] Vlaicu R., Rus H.G., Niculescu F., Cristea A.: Immunoglobulins and complement components in human aortic atherosclerotic intima. *Atherosclerosis*, 1985; 55: 35–50
- [112] Volanakis J.E.: Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol. Immunol.*, 2001; 38: 189–197
- [113] Wang H.W., Sui S.F.: Dissociation and subunit rearrangement of membrane-bound human C-reactive proteins. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001; 288: 75–79
- [114] Wang H.W., Wu Y., Chen Y., Sui S.F.: Polymorphism of structural forms of C-reactive protein. *Int. J. Mol. Med.*, 2002; 9: 665–671
- [115] Wolford J.K., Gruber J.D., Ossowski V.M., Vozarova B., Antonio Tataranni P., Bogardus C., Hanson R.L.: A C-reactive protein promoter polymorphism is associated with type 2 diabetes mellitus in Pima Indians. *Mol. Genet. Metab.*, 2003; 78: 136–144
- [116] Yeh E.T., Willerson J.T.: Coming of age of C-reactive protein: using inflammation markers in cardiology. *Circulation*, 2003; 107: 370–371
- [117] Zee R.Y., Ridker P.M.: Polymorphism in the human C-reactive protein (CRP) gene, plasma concentrations of CRP, and the risk of future arterial thrombosis. *Atherosclerosis*, 2002; 162: 217–219
- [118] Zouki C., Beauchamp M., Baron C., Filep J.G.: Prevention of *In vitro* neutrophil adhesion to endothelial cells through shedding of L-selectin by C-reactive protein and peptides derived from C-reactive protein. *J. Clin. Invest.*, 1997; 100: 522–529
- [119] Zouki C., Haas B., Chan J.S., Potempa L.A., Filep J.G.: Loss of pentameric symmetry of C-reactive protein is associated with promotion of neutrophil-endothelial cell adhesion. *J. Immunol.*, 2001; 167: 5355–5361
- [120] Zwaka T.P., Hombach V., Torzewski J.: C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages: implications for atherosclerosis. *Circulation*, 2001; 103: 1194–1197