

Received: 2010.06.29
Accepted: 2010.09.28
Published: 2010.10.18

Prozakrzepowe działanie aldosteronu – nowe oblicze hormonu*

Prothrombotic aldosterone action – a new side of the hormone

Anna Gromotowicz¹, Urszula Osmólska¹, Maria Mantur², Piotr Szoka¹,
Agnieszka Zakrzaska¹, Janusz Szmraj³, Ewa Chabielska¹

¹ Samodzielna Pracownia Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny, Białystok

² Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej, Uniwersytet Medyczny, Białystok

³ Zakład Biochemii Medycznej, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Streszczenie

W świetle najnowszych badań aldosteron zyskuje coraz większe znaczenie w patologii układu sercowo-naczyniowego jako lokalny przekaźnik, podczas gdy jego działanie hormonalne nie wzbudza większego zainteresowania. W ostatnich latach zwrócono uwagę na istnienie zależności między podwyższonym stężeniem aldosteronu a zaburzeniami hemostazy prowadzącymi do wzrostu występowania incydentów zakrzepowo-zatorowych. Zaobserwowano, iż aldosteron upośledza funkcję śródbłonna naczyniowego, zaburza fibrynolizę, a także nasila stres oksydacyjny. W modelach eksperymentalnych zakrzepicy tętniczej wykazano, iż długotrwałe podawanie aldosteronu nasila proces formowania zakrzepu. Badania własne w modelu zakrzepicy żyłnej u szczurów normotensyjnych potwierdziły, że także krótkotrwały wzrost stężenia hormonu potęguje ten proces. Godzinna infuzja aldosteronu spowodowała skrócenie czasu krwawienia, nasilenie adhezji płytek krwi do kolagenu, wzrost stężenia czynnika tkankowego, inhibitora fibrynolizy aktywanego trombiną, inhibitora aktywatora plazminogenu w osoczu oraz spadek stężenia aktywatora plazminogenu. Obserwowano spadek stężenia metabolitów tlenu azotu w osoczu i poziomu mRNA syntazy tlenu azotu w aorcie, a ponadto wzrost stężenia nadtlenu wodoru i dialdehydu malonowego w osoczu oraz nasilenie ekspresji NADPH oksydazy i dysmutazy ponadtlenkowej w aorcie. Prozakrzepowe działanie aldosteronu jest złożone i zależy od aktywacji hemostazy pierwotnej, działania prokoagulacyjnego, antyfibrynolitycznego oraz osłabienia biodostępności tlenu azotu i nasilenia stresu oksydacyjnego. Efekty działania hormonu nie były w pełni znoszone po zablokowaniu receptora mineralokortykoidowego, co wskazuje na udział alternatywnych mechanizmów w prozakrzepowym działaniu hormonu.

Słowa kluczowe:

aldosteron • hemostaza • zakrzepica • eplerenon

Summary

Recent studies have focused on a new wave of interest in aldosterone due mainly to its growing profile as a local messenger in pathology of the cardiovascular system, rather than its hormonal action. In the last few years strong evidence for a correlation between raised aldosterone level and haemostasis disturbances leading to increased risk of cardiovascular events has been provided. It has been demonstrated that aldosterone contributes to endothelial dysfunction, fibrinolytic

* Praca finansowana ze środków grantu naukowego przyznanego przez Polskie Towarzystwo Kardiologiczne, ufundowanego przez firmę ADAMED oraz pracy statutowej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku nr 4-26542F.

disorders and oxidative stress augmentation. It was also shown that chronic aldosterone treatment results in enhanced experimental arterial thrombosis. Our study in a venous model of thrombosis in normotensive rats confirmed that even a short-lasting increase in aldosterone level intensified thrombus formation. One-hour aldosterone infusion shortened bleeding time; increased platelet adhesion to collagen; reduced tissue factor, thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, and plasminogen activator inhibitor; and increased plasminogen activator plasma level. A fall in plasma nitric oxide metabolite concentration with a decrease in aortic nitric oxide synthase mRNA level was also observed. Moreover, aldosterone increased hydrogen peroxide and malonyl dialdehyde plasma concentration and augmented NADPH oxidase and superoxide dismutase aortic expression. Therefore, the mechanism of aldosterone prothrombotic action is multiple and involves primary haemostasis activation, procoagulative and antifibrinolytic action, NO bioavailability impairment and oxidative stress augmentation. The effects of aldosterone were not fully abolished by mineralocorticoid receptor blockade, suggesting the involvement of alternative mechanisms in the prothrombotic aldosterone action.

Key words: aldosterone • haemostasis • thrombosis • eplerenone

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=921259>

Word count: 3448

Tables: 2

Figures: 3

References: 92

Adres autorki: dr n. farm. Anna Gromotowicz, Samodzielna Pracownia Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, ul. Mickiewicza 2c, 15-222 Białystok; e-mail: anagro@tlen.pl

Wykaz skrótów: **2K-1C** – model nadciśnienia naczyniowo-nerkowego; **ACE** – konwertaza angiotensyny; **ACE-I** – inhibitory konwertazy angiotensyny; **ADP** – adenozyndifosforan; **Ang II** – angiotensyna II; **AT1** – receptor angiotensyny, typu I; **AT2** – receptor angiotensyny, typu II; **BT** – czas krwawienia; **COX** – cyklooksigenaza; **GR** – receptor glikokortykoidowy; **H₂O₂** – nadtlenek wodoru; **ICAM-1** – wewnątrzkomórkowa cząsteczka adhezyjna 1; **MCP-1** – czynnik chemotaktyczny aktywujący monocyty; **MDA** – dialdehyd malonowy; **MMP-2** – metaloproteinaza 2; **MMP-9** – metaloproteinaza 9; **MR** – receptor mineralokortykoidowy; **mRNA** – matrycowy kwas rybonukleinowy; **NADPH** – oksydaza NADPH; **NO** – tlenek azotu; **eNOS** – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu; **O₂⁻** – anion ponadtlenny; **PAI-1** – inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1; **RAA** – układ renina-angiotensyna-aldosteron; **ROS** – reaktywne formy tlenu; **SOD** – dysmutaza ponadtlenna; **TAFI** – inhibitor fibrylizacji aktywowany trombiną; **TF** – czynnik tkankowy; **t-PA** – tkankowy aktywator plazminogenu; **VCAM-1** – śródbłonkowa cząstka adhezyjna 1.

WSTĘP

Historia aldosteronu, hormonu regulującego gospodarkę wodno-elektrolitową ustroju, sięga niemal 60 lat. Badania ostatnich lat rzucają jednak nowe światło na właściwości i rolę tego hormonu w ustroju. Udowodniono, iż aldosteron syntetyzowany jest nie tylko w korze nadnerczy, lecz jest wytwarzany także w innych tkankach, m.in. w sercu, naczyniach krwionośnych i w mózgu [26,27,68]. Wiadomo, że miejscowa synteza aldosteronu przebiega w sposób podobny do syntezy w korze nadnerczy, bowiem ludzkie komórki śródbłonka, mięśni gładkich aorty i tętnicy płucnej wyposażone są w pełny zestaw enzymów do wytwarzania aldosteronu *de novo* z cholesterolu. Wykazano ponadto, iż aldosteron wytwarzany przez kardiomiocyty szczurów nie zmienia stężenia hormonu w układzie krążenia, pełni natomiast funkcję autokrynną lub parakrynną. Pozanadnerczowe wytwarzanie

aldosteronu wykazano również w fibroblastach komórek serca szczurów z genetycznie uwarunkowanym nadciśnieniem oraz w eksperymentalnym modelu zawału serca u szczura [67,76].

Udowodniono, że aldosteron wytwarzany lokalnie może działać bezpośrednio na układ sercowo-naczyniowy, niezależnie od „klasycznego” nerkowego działania hormonu wytwarzanego w korze nadnerczy. Wykazano bowiem, że aktywuje on nie tylko receptory nabłonkowe, znajdujące się w nerkach, jelitach i gruczołach potowych, ale także receptory mineralokortykoidowe (MR) umiejscowione w komórkach mięśnia sercowego, naczyń krwionośnych i tkanki mózgowej. Fizjologiczna czynność hormonu wytwarzanego lokalnie nie została jednak do końca poznana. Aldosteron jako lokalny przekaźnik nabiera coraz większego znaczenia w patologii układu krążenia.

WSPÓŁCZESNE TEORIE DOTYCZĄCE MECHANIZMU DZIAŁANIA ALDOSTERONU

Klasyfikacja – genomowy mechanizm działania aldosteronu

Do niedawna uważano, iż aldosteron, podobnie jak inne hormony steroidowe, działa tylko przez swoisty receptor cytoplazmatyczny, w tym przypadku receptor MR. Receptor MR należy do nadrodziny receptorów jądrowych. Receptory jądrowe po przyłączeniu hormonu, w tym przypadku aldosteronu, przemieszczają się z cytoplazmy do jądra komórkowego i tam regulują procesy transkrypcji genów i translacji, prowadzące do syntezy białek odpowiedzialnych za transport jonów przez błonę komórkową [17]. Mechanizm związany z aktywacją receptora MR określany jest mianem genomowego.

Rola receptora MR w mechanizmie działania aldosteronu została wielokrotnie potwierdzona w badaniach eksperymentalnych i klinicznych. Udowodniono, iż biologicznym następstwem pobudzenia tych receptorów jest m.in. włóknienie serca i naczyń krwionośnych, działanie prozapalne, uszkodzenie śródbłonna naczyniowego, nasilenie syntezy niektórych czynników wzrostu, co z kolei może się przyczyniać do rozwoju zaburzeń układu sercowo-naczyniowego. Badania kliniczne potwierdziły ponadto korzyści płynące z zastosowania antagonistów receptora MR, w terapii schorzeń tego układu.

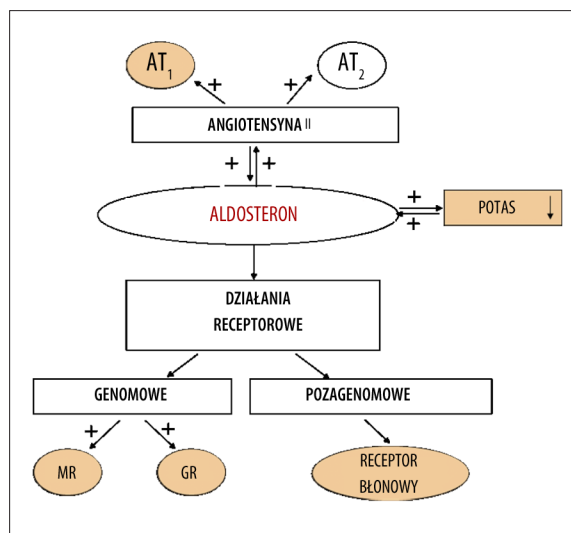
Pozagenomowy mechanizm działania aldosteronu

W świetle najnowszych danych coraz większego znaczenia nabiera teoria dotycząca pozagenomowego mechanizmu działania aldosteronu. Mechanizm ten został potwierdzony w wielu modelach eksperymentalnych i w różnych typach komórek, m.in. w komórkach mięśni gładkich naczyń, limfocytach, komórkach śródbłonna [15,83]. Większość danych doświadczalnych dowodzi, że niegenomowe działanie aldosteronu ujawnia się już w ciągu kilku minut i nie jest blokowane przez klasycznych antagonistów receptora MR – spironolakton, kanrenon i eplerenon [14,43,63,83]. Dowody na pozajądrowy mechanizm działania aldosteronu doprowadziły do wysunięcia hipotezy o istnieniu receptora błonowego – receptora o właściwościach odmiennych od znanych receptorów jądrowych. Mimo iż nie zidentyfikowano jeszcze receptora błonowego, wykazano, że jego aktywacja prowadzi do uruchomienia szlaków wtórnych przekazywanych, takich jak: diacyloglicerol i trifosforan inozytolu, jony wapnia oraz cykliczny adenylozomonofosforan, a skutki jego pobudzenia mają szczególnie istotne znaczenie w układzie sercowo-naczyniowym.

Według najnowszych danych działanie aldosteronu w układzie sercowo-naczyniowym jest złożone. Bezsporny wydaje się tu udział receptora mineralokortykoidowego, a także podejrzewa się udział nowych receptorów błonowych oraz alternatywnych szlaków związanych, m.in. z działaniem jonów potasu, angiotensyny II, czy aktywacją receptora glikokortykoidowego (ryc. 1).

DZIAŁANIE ALDOSTERONU W UKŁADZIE SERCOWO-NACZYNIOWYM

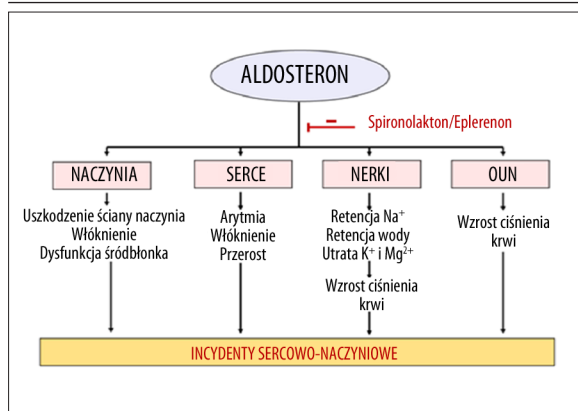
Odkrycie zjawiska lokalnej syntezy aldosteronu oraz jego receptorów w sercu i naczyniach zwróciło uwagę na rolę



Ryc. 1. Mechanizmy działania aldosteronu w układzie sercowo-naczyniowym. Oddziaływanie aldosteronu na układ sercowo-naczyniowy może zachodzić w złożonym mechanizmie receptorowym związanym z aktywacją szlaku genomowego i udziałem receptora mineralokortykoidowego (MR), ale także z pobudzeniem drogi pozagenomowej związanej z aktywacją receptora błonowego. Proponuje się również udział mechanizmów pośrednich związanych z oddziaływaniem hormonu na jony potasu, angiotensynę II oraz receptor glikokortykoidowy (GR)

hormonu w patofizjologii chorób układu sercowo-naczyniowego. W badaniu CONSENSUS wykazano istnienie korelacji między podwyższonym stężeniem aldosteronu w osoczu a wzrostem śmiertelności wśród pacjentów z niewydolnością serca [75]. Transkrypcję genów niezbędnych do syntezy aldosteronu obserwowano w kardiomiocytach, przy czym transkrypt genu syntazy aldosteronu wykryto jedynie w sercach płodowych i w niewydolności serca [39,87]. Dowiedziono, że synteza aldosteronu jest zwiększona w sercach pacjentów z niewydolnością serca [41,49,89]. Wyniki tych badań sugerują, że lokalna synteza aldosteronu jest jednym z elementów fenotypu płodowego mięśnia sercowego, uruchamianego w warunkach patologicznych np. w odpowiedzi przerostowej kardiomiocytów. Mechanizm tej zależności nie został jednak przez autorów badania wyjaśniony. Wiadomo natomiast, że aldosteron aktywuje receptory MR umiejscowione w sercu, naczyniach krwionośnych i mózgu, a efektem biologicznym pobudzenia tych receptorów jest m.in. włóknienie serca i naczyń krwionośnych, działanie proarytmiczne, prozapalne, uszkodzenie śródbłonna naczyniowego, co z kolei może się przyczyniać do rozwoju zaburzeń układu sercowo-naczyniowego (ryc. 2). Wielokrotnie potwierdzano także skuteczność blokady receptora MR zarówno jego nieselektywnym antagonistą - spironolaktonem, jak i selektywnym – eplerenonem, w ograniczaniu niekorzystnych działań aldosteronu w obrębie układu sercowo-naczyniowego.

Na modelach eksperymentalnych wykazano korelację między podwyższonym stężeniem aldosteronu i włóknieniem podścieliska w mięśniu sercowym i nerkach [7,66,78]. Również badania kliniczne, w których obserwowano zmniejszenie włóknienia serca i naczyń po zastosowaniu antagonistów receptora MR dostarczają pośrednich



Ryc. 2. Patofizjologiczne skutki działania aldosteronu w układzie sercowo-naczyniowym ([11] – zmodyfikowano)

dowodów na udział aldosteronu w procesie włóknienia. Sugeruje się, że miejscowe wytwarzanie aldosteronu bezpośrednio pobudza wytwarzanie kolagenu typu I i III przez fibroblasty [82]. Jednocześnie zwraca się uwagę na wpływ pośrednich mechanizmów działania aldosteronu na rozwój włóknienia. Wykazano, iż aldosteron zwiększa aktywność metaloproteinaz macierzy (MMP-2 i MMP-9), prowadząc w konsekwencji do nagromadzenia kolagenu i odczynowego włóknienia śródmiąższowego serca [84]. Ponadto włóknienie może być konsekwencją zapalenia i uszkodzenia ścian naczyń, ogniskowej martwicy okołonaczyniowej oraz zwiększenia przez aldosteron syntezy endoteliny, inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1), konwertazy angiotensyny (ACE), a także ekspresji receptorów AT1 i receptorów bradykininy B₂ [24,42,59,71,72,73].

Kolejnym ważnym aspektem w oddziaływaniu aldosteronu na układ sercowo-naczyniowy jest niekorzystny wpływ hormonu na czynność śródbłonnka naczyniowego. Wywołana przez aldosteron dysfunkcja śródbłonnka to wynik końcowy kilku mechanizmów patofizjologicznych. Jedną z głównych przyczyn jest zmniejszone w śródbłonnku wytwarzanie tlenku azotu (NO). Aldosteron upośledza zależną od śródbłonkowego NO odpowiedź rozkurczową naczyń na acetylcholinę [22,25]. Ponadto antagoniści receptora MR normalizują zależną od NO funkcję śródbłonnka w modelach zwierzęcych pozawałowej niewydolności krążenia, a także u chorych z niewydolnością serca [4,65,81]. Mechanizm działania aldosteronu jest związany z obniżeniem ekspresji syntazy tlenku azotu (eNOS) w śródbłonnku oraz wzrostem wytwarzania anionów ponadtlenkowych (O₂⁻).

Niewątpliwie niekorzystne działanie aldosteronu na śródbłonek naczyniowy jest również związane z działaniem prozapalnym hormonu. Wykazano, że aldosteron wywołuje zapalenie okołonaczyniowe z pogrubieniem warstwy środkowej, naciekiem leukocytów i proliferacją tkanki łącznej okołonaczyniowej z towarzyszącą martwicą w sercu, nerkach i tkance mózgowej [60,61]. Udowodniono ponadto, iż zmiany morfologiczne w naczyniach i tkance okołonaczyniowej poprzedzone są pojawieniem się fenotypu zapalnego śródbłonnka wyrażonego wzrostem ekspresji COX-2, MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 [62]. Eplerenon hamował pojawienie się fenotypu zapalnego oraz późniejsze zmiany prozapalne. Odnotowano także, iż zmniejszeniu ekspresji molekuł adhezyjnych przez eplerenon towarzyszył wzrost

ekspresji eNOS. Prozapalne działanie aldosteronu na śródbłonek wiąże się również z pojawieniem się fenotypu prozakrzepowego. Wykazano, że aldosteron aktywuje mechanizmy prozakrzepowe śródbłonnka i hamuje mechanizmy fibrylizacji [9,10,16].

PROZAKRZEPOWY POTENCJAŁ ALDOSTERONU

W ostatnich latach zwrócono uwagę na istnienie związku między podwyższonym stężeniem aldosteronu i ryzykiem występowania incydentów zakrzepowych [6,12]. Wykazano, iż wysokie stężenie aldosteronu towarzyszące nadciśnieniu tętniczemu, hiperaldosteronizmowi czy niewydolności serca, prowadzi do wzrostu potencjału zakrzepowego, co z kolei może być przyczyną częstszego występowania incydentów sercowo-naczyniowych w takich stanach patologicznych. Poznanie roli aldosteronu w zakrzepowych powikłaniach chorób układu sercowo-naczyniowego może mieć także ważne znaczenie w przypadku stanów przebiegających z nagłym i krótkotrwałym wzrostem stężenia hormonu. Istnieją bowiem sytuacje, w których nagły wzrost stężenia aldosteronu może bezpośrednio wpływać na wzrost ryzyka ostrych incydentów sercowo-naczyniowych. Zdarza się tak m.in. w czasie porannego wzrostu stężenia hormonu (wahania dobowe) [13], czy podczas zabiegu operacyjnego, kiedy to obserwowane jest nasilenie powikłań zakrzepowo-zatorowych [1,31]. Uważa się ponadto, iż aldosteron może być czynnikiem patologicznym w nagłej śmierci sercowej wywołanej zakrzepicą w naczyniach wieńcowych [2,19].

PROZAKRZEPOWE DZIAŁANIE HORMONU W EKSPERYMENTALNYCH MODELACH ZAKRZEPICY

Prozakrzepowe działanie hormonu zostało bezpośrednio udowodnione w pojedynczych badaniach wykonanych w eksperymentalnych modelach zakrzepicy (tabela 1). Eksperymenty te dotyczyły zwierząt modyfikowanych genetycznie – z samoistnym nadciśnieniem bądź brakiem genu apolipoproteiny E. Ponadto w badaniach, które dotyczyły ciągłego podawania aldosteronu u myszy wykazano częściowo zależne od receptora MR działanie hormonu, jednak mechanizm wpływu hormonu na procesy hemostazy nie był przez autorów badany [6,12].

Badania własne wskazują na prozakrzepowy efekt ostrej infuzji aldosteronu w doświadczalnej, indukowanej stazą zakrzepicy żyłnej u szczura normotensyjnego. Wykorzystanie zwierząt normotensyjnych pozwala na odróżnienie działania aldosteronu *per se* od działań będących wynikiem toczącego się procesu patologicznego. Stwierdzono, iż aldosteron podany w jednogodzinnej dożyłnej infuzji zwiększał częstość występowania oraz masę zakrzepu w żyłę głównej dolnej, a efekt ten był częściowo zależny od udziału receptora MR [70].

Ponadto wstępne badania własne w modelu cukrzycy indukowanej streptozotocyną z indukcją zakrzepicy tętniczej u szczurów dowodzą, iż zwierzęta te wykazują większą tendencję do rozwoju zakrzepicy, wyrażającą się niemal dwukrotnym wzrostem częstości występowania okluzji tętnicy szyjnej (83 vs. 44%), skróconym czasem do okluzji, zwiększoną masą zakrzepu, skróconym czasem krwawienia i czasem trombinowym w porównaniu do zwierząt

Tabela 1. Ocena roli aldosteronu w eksperymentalnych modelach zakrzepicy

Model	Podanie i/lub blokowanie aldosteronu	Efekt	Piśmiennictwo
Podanie ciągłe			
Szczury z nadciśnieniem samoistnym i tendencją do udarów (SHRSP)	2-tygodniowe podskórne podanie aldosteronu w dawce 40 µg/kg m.c./dzień	nasilone powstawanie mikroangiopatii zakrzepowej wyrażonej martwicą tętnic i tętniczek nerkowych	[12]
Myszy z genetycznie uwarunkowaną miażdżycą (ApoE-knock out), zakrzepica indukowana fotochemicznym uszkodzeniem tętnicy szyjnej	90-dniowe podskórne podanie aldosteronu w dawce 0,55 µg/dzień	skrócenie czasu do okluzji tętnicy szyjnej w porównaniu z kontrolą	[6]
Szczep dziki myszy (C57BL6/J), zakrzepica indukowana fotochemicznym uszkodzeniem tętnicy szyjnej	20-dniowe podskórne podanie aldosteronu w dawce 0,55 µg/dzień	skrócenie czasu do wystąpienia okluzji tętnicy szyjnej w porównaniu z kontrolą oraz spadek drożności tętnic	[6]
	20-dniowe podskórne podanie spironolaktonu w dawce 1 mg/kg m.c./dzień	ograniczenie formowania zakrzepu	
Szczury z cukrzycą, zakrzepica indukowana stymulacją prądem stałym tętnicy szyjnej	10-dniowe podawanie eplerenonu <i>per os</i> w dawce 100 mg/kg m.c./dzień	ograniczenie masy i częstości powstawania zakrzepu oraz skrócenie czasu do okluzji	[92]
Podanie ostre			
Szczury normotensyjne z zakrzepicą indukowaną stażą żyły głównej dolnej	1-godzinna infuzja aldosteronu w dawce 30 µg/kg m.c.	wzrost masy i częstości występowania zakrzepu	[69]
	podanie eplerenonu w jednorazowej dawce 100 mg/kg m.c.	ograniczenie masy i częstości powstawania zakrzepu żylnego	

normoglikemicznych. W grupie zwierząt poddanych obustronnej adrenalectomii i z indukowaną cukrzycą obserwowano natomiast zmniejszenie masy zakrzepu w porównaniu do zwierząt z zachowanymi nadnerczami, a ponadto zmniejszenie częstości występowania okluzji (25 vs. 83%). Jednocześnie 10-dniowe podawanie eplerenonu (100 mg/kg m.c. p.o. 1× dziennie) zwierzętom z cukrzycą ograniczało istotnie proces zakrzepowy w porównaniu do zwierząt otrzymujących placebo [92]. Stanowi to pośredni dowód na udział aldosteronu w patogenezie powikłań zakrzepowych cukrzycy.

MECHANIZM PROZAKRZEPOWEGO DZIAŁANIA ALDOSTERONU

W oparciu o dane literaturowe i wyniki własne sugerujemy, że u podłoża procesu zakrzepowego indukowanego aldosteronem leży wiele mechanizmów, w tym aktywacja płytek krwi, zaburzenia hemostazy, upośledzenie funkcji śródbłonna naczyniowego, czy nasilenie stresu oksydacyjnego (tabela 2).

Hemostaza pierwotna – płytki krwi

Należy podkreślić, że niewiele jest danych mówiących o bezpośrednim wpływie aldosteronu na funkcje płytek krwi. Ograniczone w tym zakresie badania mogły wynikać

z tego, iż genomowe działania aldosteronu nie były brane pod uwagę w odniesieniu do bezjądrzastych elementów komórkowych, jakimi są płytki krwi. W ostatnich latach udowodniono jednak, że płytki krwi są zdolne do syntezy białek *de novo* [8]. Wykazano również, że mają receptory glikokortykoidowe (GR), tworzące heterodimeryczne kompleksy z receptorami MR, które nie ulegają translokacji jądrowej [50]. Odkrycia te wskazują, że aldosteron może istotnie modyfikować funkcje płytek krwi.

Aktywacja płytek krwi, oprócz dysfunkcji śródbłonna naczyniowego, jest czynnikiem wywołującym stan nadkrzepliwości w niewydolności krążenia. Badania Schäfera i wsp. potwierdziły, że podanie eplerenonu łącznie z trandolaprylem szczurom z pozawałową niewydolnością serca prowadzi do pełnej normalizacji podwyższonych wykładników aktywacji płytek krwi. Autorzy wiążą to ze wzrostem aktywności biologicznej NO. Poza obniżeniem ekspresji płytkowej P-selektyny, wykazano także, iż eplerenon zmniejszał wiązanie fibrynogenu z receptorem GPIIb/IIIa [65]. Natomiast w badaniu Moraesa i wsp., oceniającym bezpośrednio działanie aldosteronu na ludzkie płytki krwi, nie obserwowano wpływu hormonu na wywołaną przez ADP agregację płytek *in vitro* [50]. Dane te stanowią jedynie dowód o pośrednim wpływie aldosteronu na aktywację płytek krwi.

Tabela 2. Potencjalny mechanizm prozakrzepowego działania aldosteronu związany z wpływem hormonu na parametry hemostazy, tlenek azotu i stres oksydacyjny

Potencjalny mechanizm prozakrzepowego działania aldosteronu		
Hemostaza	Aktywność biologiczna NO	Stres oksydacyjny
<ul style="list-style-type: none"> Nasilenie przez aldosteron ekspresji PAI-1 – badania <i>in vitro</i> w hodowlach komórek mezangialnych szczura [90] Ostra infuzja aldosteronu – wzrost stężenia TF, TAFI i PAI-1, spadek stężenia t-PA w osoczu szczurów normotensyjnych [69] Ciągłe podanie eplerenonu - obniżenie ekspresji selektyny P w płytkach krwi szczurów w pozawałowej niewydolności serca [64] Ciągłe podanie eplerenonu - obniżenie ekspresji PAI-1 w kardiomiocytach szczurów po zawale serca [20] Wzrost stężenia antygeny PAI-1 u pacjentów z nadciśnieniem i hiperaldosteronizmem [9,63] 	<ul style="list-style-type: none"> nasilenie przez aldosteron ekspresji NOS – badania <i>in vitro</i> w hodowlach komórek śródbłonna ludzkiej żyły pępowinowej [50] ostra infuzja aldosteronu – spadek stężenia metabolitów NO w osoczu i ekspresji NOS w aorcie szczurów normotensyjnych [28] ciągła infuzja aldosteronu - osłabienie funkcji rozkurczowej śródbłonna zależnej od NO u szczurów [76] ciągłe podawanie spironolaktonu lub eplerenonu – poprawa funkcji śródbłonna zależnej od NO u szczurów [4, 64] ostra infuzja aldosteronu – osłabienie funkcji rozkurczowej śródbłonna zależnej od NO u zdrowych ochotników [22] ciągłe podawanie spironolaktonu – poprawa funkcji śródbłonna zależnej od NO u pacjentów z niewydolnością serca [23] 	<ul style="list-style-type: none"> nasilenie przez aldosteron ekspresji oksydazy NADPH – badania <i>in vitro</i> w hodowlach komórek mezangialnych szczura [47] ostra infuzja aldosteronu – wzrost stężenia MDA i H₂O₂ w osoczu i ekspresji oksydazy NADPH i SOD w aorcie szczurów normotensyjnych [28] ciągła infuzja aldosteronu - nasilenie aktywacji oksydazy NADPH i powstawania ROS u szczurów [34] ciągłe podawanie eplerenonu – obniżenie stężenia ROS u myszy z miażdżycą [39] ciągłe podawanie spironolaktonu – obniżenie aktywacji oksydazy NADPH i stężenia ROS u szczurów [78] korelacja między stężeniem aldosteronu i poziomem ROS u pacjentów z niewydolnością serca [40]

Wykazano, że aldosteron podany w ostrej infuzji aktywuje proces hemostazy pierwotnej szczura normotensyjnego wyrażający się m.in. skróceniem czasu krwawienia [28,30]. Pamiętając, że czas krwawienia jest odwrotnie proporcjonalny do stopnia zwężenia naczynia, można założyć, że wpływ aldosteronu na ten parametr może być wypadkową jego działania proadhezyjnego i naczyniokurczącego. Brak wpływu ostrej infuzji aldosteronu na parametry hemodynamiczne szczura normotensyjnego (ciśnienie tętnicze, przepływ krwi w tętnicy szyjnej, częstość akcji serca) wskazało jednak na działanie hormonu *stricto* aktywujące płytki. W badaniu *ex vivo* obserwowano nasilenie adhezji płytek krwi do kolagenu. Nie zaobserwowano tego natomiast w warunkach *in vitro*, co sugeruje pośredni mechanizm proadhezyjnego działania aldosteronu [28,30]. Eplerenon całkowicie zniósł wywołane przez aldosteron działanie, wskazując tym samym na udział receptora MR w mechanizmie proadhezyjnego działania hormonu. Stankiewicz i wsp. 2008 wykazali także hamujący wpływ spironolaktonu na adhezję płytek krwi do kolagenu u szczurów 2K-1C, a eksperymenty *in vitro* z wykorzystaniem metabolitu spironolaktonu potwierdziły bezpośredni wpływ antagonisty aldosteronu na trombocyty [69].

Układ krzepnięcia

Staza i miejscowe niedotlenienie w naczyniu żylnym są czynnikami aktywującymi drogę krzepnięcia zależną od czynnika tkankowego (TF) [58]. Wzrost stężenia TF aktywuje następujące po sobie etapy krzepnięcia: indukcji i wzmocnienia, prowadząc do powstania trombinę w dużym stężeniu, która pozwala na utworzenie stabilnej fibryny [56]. Mimo iż brakuje bezpośrednich dowodów na wpływ aldosteronu na generację trombinę, istnieją pewne przesłanki wskazujące na prokoagulacyjny potencjał hormonu. W badaniach własnych u szczurów z zakrzepicą żylną

wykazano, iż ostra infuzja aldosteronu aktywuje proces krzepnięcia. Odnotowano istotny, ponad 6-krotny wzrost stężenia czynnika tkankowego (TF) w osoczu. Efekt ten był osłabiony po podaniu eplerenonu. Także u szczurów 2K-1C obserwowano istotny spadek stężenia TF po zastosowaniu spironolaktonu, pogłębiony w przypadku łącznego zastosowania spironolaktonu i chinaprylu [69]. Wzrost stężenia TF może mieć strategiczne znaczenie w mechanizmie prozakrzepowego działania hormonu, istnieją bowiem doniesienia o dodatniej korelacji między stężeniem TF a wielkością zakrzepu w modelu doświadczalnym [53].

Wzrost stężenia inhibitora fibrynolizy aktywowanego trombiną (TAFI) w osoczu szczurów poddanych infuzji aldosteronu może również wskazywać na aktywację procesu krzepnięcia [70]. Parametr ten, charakteryzujący jednocześnie układ krzepnięcia i fibrynolizy, wskazuje na stopień aktywacji trombinę, a także na wydolność procesu fibrynolizy [3]. Wykazano, że wysokie stężenie tego inhibitora koreluje dodatnio z czasem do przywrócenia przepływu w tętnicy szyjnej w indukowanej prądem zakrzepicy u psa [57]. Ponadto wysokie stężenie TAFI obserwowano u pacjentów z podwyższonym ryzykiem zakrzepicy żył głębokich [79].

Układ fibrynolizy

Istnieją liczne dowody na niekorzystny wpływ hormonu na proces fibrynolizy. W promotorze genu kodującego inhibitor aktywatora plazminogenu (PAI-1) wykryto miejsce wrażliwe na działanie gliko- i mineralokortykoidów (GRE – glucocorticoid responsive element). Wykazano, iż mutacja w tym regionie zniósł oddziaływanie aldosteronu na aktywność PAI-1 [9]. Badania doświadczalne w modelach zwierzęcych potwierdzają antyfibrynolityczne działanie aldosteronu. Stałe podawanie eplerenonu zmniejszało ekspresję PAI-1 w kardiomiocytach szczurów po zawale serca

[20]. Ponadto wykazano, że stałe podawanie spironolaktonu obniża poziom mRNA dla PAI-1 w nerkach szczura [10].

W badaniach klinicznych wykazano istnienie dodatniej korelacji między podwyższonym stężeniem aldosteronu a stężeniem antygenu PAI-1 w osoczu chorych z nadciśnieniem i hiperaldosteronizmem [9,64]. Podanie antagonistów aldosteronu chorym z nadciśnieniem przywracało równowagę w układzie fibrylizacji, wyrażoną spadkiem stężenia PAI-1 i wzrostem stężenia tkankowego aktywatora plazminogenu (t-PA) w osoczu [64,86]. Wykazano także w hodowlach komórek śródbłonna, iż aldosteron zwiększa ekspresję inhibitora aktywatora plazminogenu (PAI-1) [16,91].

Ostra infuzja aldosteronu powodowała spadek stężenia t-PA w osoczu, a także wzrost stężenia PAI-1 i TAFI u szczurów normotensyjnych. Eplerenon jedynie częściowo zmniejszał niekorzystny wpływ aldosteronu na fibrylizację [30,70]. Badania na szczurach 2K-1C również potwierdziły antyfibrynolityczny potencjał hormonu, gdyż podanie spironolaktonu istotnie obniżyło stężenie PAI-1 i TAFI [69].

Tlenek azotu

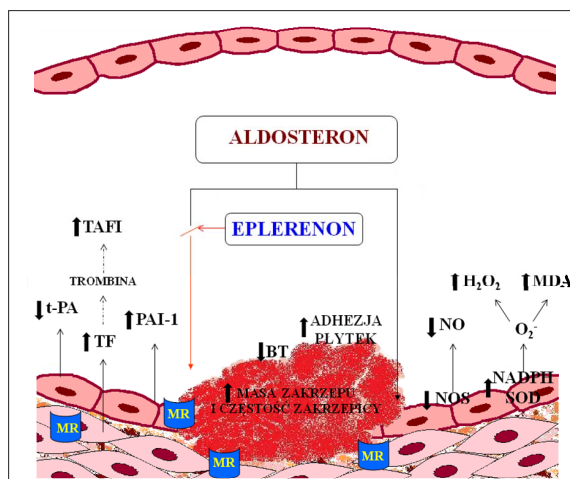
Badania eksperymentalne i kliniczne dowodzą, że zarówno ostra, jak i chroniczna infuzja aldosteronu upośledza, zależną od śródbłonkowego NO, odpowiedź rozkurczową naczyń na acetylocholinę [22,25]. Wykazano również, iż przyczyną osłabionej funkcji śródbłonna jest obniżona ekspresja śródbłonkowej syntazy NO (eNOS), a także zwiększona degradacja NO na skutek wzmożonego wytwarzania O_2^- . Anion ponadtlenkowy jest ważnym czynnikiem regulacji aktywności biologicznej NO, unieczynnia on NO prowadząc do powstania nadtlenoazotynu ($ONOO^-$). Liczne badania *in vitro* w hodowlach komórek śródbłonna potwierdzają obniżoną ekspresję NOS w wyniku działania aldosteronu [36,51]. Aldosteron upośledza biologiczną funkcję śródbłonkowego NO, jednak nie można wykluczyć, że hormon osłabia także funkcje NO uwalnianie z płytek krwi.

Biorąc pod uwagę to, iż NO hamuje proces przylegania płytek krwi do formującego się zakrzepu (działanie antyadhezyjne i antyagregacyjne), upośledzenie jego biologicznej aktywności przez aldosteron może stanowić ważny mechanizm prozakrzepowego działania hormonu. Wykazano bowiem, iż zastosowanie blokady eNOS nasilało przyleganie płytek krwi do formującego się zakrzepu u szczurów [54]. Ponadto liczne przesłanki literaturowe donoszą o istnieniu zależności pomiędzy osłabioną aktywnością biologiczną NO a występowaniem incydentów o podłożu zakrzepowym.

Badania własne potwierdzają niekorzystny wpływ aldosteronu na biologiczną aktywność NO. Aldosteron podany w godzinnej infuzji szczurom normotensyjnym obniżał poziom metabolitów NO w osoczu oraz zmniejszał poziom mRNA syntazy NO w aorcie. Mechanizm tego działania nie był zależny od udziału receptora MR [29,30].

Stres oksydacyjny

Jak wykazują badania eksperymentalne, osłabionej przez aldosteron aktywności NO towarzyszy zwykle nasilenie stresu oksydacyjnego wyrażone zwiększoną ekspresją



Ryc. 3. Proponowany, na podstawie badań własnych, mechanizm prozakrzepowego działania aldosteronu u szczura normotensyjnego w indukowanym staż modeliu zakrzepicy żyłnej. Wykazano, że aldosteron podany szczurom w godzinnej infuzji nasilał proces zakrzepicy żyłnej w złożonym mechanizmie zależnym od: nasilenia adhezji płytek krwi, aktywacji układu krzepnięcia, osłabienia procesu fibrylizacji, osłabienia biodostępności tlenu azotu i nasilenia stresu oksydacyjnego. Efekty te były jedynie częściowo zależne od receptora mineralokortykoidowego (MR), a ich szybkie wystąpienie wskazywać może również na nienegonowomy mechanizm działania hormonu

oksydazy NADPH – głównego źródła reaktywnych form tlenu (ROS). Wykazano, że aldosteron nasila, a antagoniści receptora MR zmniejszają wytwarzanie, zależnych od aktywności oksydazy NADPH, reaktywnych form tlenu [4,33,36,40,80]. Jednocześnie obserwowano nasilenie ekspresji NOS i zwiększenie aktywności biologicznej NO. Miyata i wsp. wykazali, iż 3-godzinna inkubacja komórek mezangialnych szczura z aldosteronem zwiększa aktywność oksydazy NADPH [48]. Zwiększoną ekspresję oksydazy NADPH zauważono także w komórkach śródbłonna naczyniowego w trakcie chronicznej infuzji aldosteronu u szczurów [35,74]. W modelach zwierzęcych potwierdzono ponadto udział ROS w formowaniu zakrzepu. Peire i Puig-Parellada zauważyli, że podanie antyoksydantów – katalazy lub dysmutazy ponadtlenkowej szczurom z indukowaną ADP zakrzepicą żylną, ograniczało przyleganie płytek krwi do zakrzepu, podczas gdy zahamowanie syntazy NO nasilało ten proces [54]. Yao i wsp. również wykazali, iż podanie antyoksydantów ogranicza agregację płytek krwi do formującego się zakrzepu w tętnicy wieńcowej psa [88].

W badaniach oceniających wpływ krótkiej infuzji aldosteronu na proces zakrzepowy również odnotowano wzrost stężenia w osoczu nadtlenku wodoru (H_2O_2) i dialdehydu malonowego (MDA) oraz zwiększenie poziomu mRNA dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i oksydazy NADPH w aorcie szczurów normotensyjnych. Jedynie wpływ hormonu na poziom MDA był zależny od udziału receptora MR [29,30]. U szczurów 2K-1C obserwowano, iż blokada receptora MR spironolaktonem spowodowała istotny spadek stężenia H_2O_2 i MDA oraz poziomu mRNA SOD i oksydazy NADPH [69]. Nasilenie przez aldosteron stresu oksydacyjnego może stanowić zatem kolejny mechanizm prozakrzepowego działania aldosteronu.

INNE MECHANIZMY ODPOWIEDZIALNE ZA PROZAKRZEPOWE EFEKTY ALDOSTERONU

Prozakrzepowe efekty działania hormonu można wiązać także z udziałem alternatywnych szlaków związanych z działaniem angiotensyny II (Ang II), aktywacją receptora glikokortykoidowego, czy spadkiem stężenia jonów potasu.

Angiotensyna II

Wiadomo, że aldosteron hamuje układ RAA zgodnie z zasadą ujemnego sprzężenia zwrotnego. Istnieją jednak niezbitte dowody świadczące o innej, istotnej klinicznie interakcji między angiotensyną II (Ang II) i aldosteronem. Udowodniono, że aldosteron może nasilać syntezę Ang II, poprzez wzrost ekspresji mRNA konwertazy angiotensyny (ACE) w kardiomiocytach, a także potęgować działanie Ang II zwiększając ekspresję receptorów angiotensynowych AT1 [32,33,47,85]. Wydaje się więc, iż przynajmniej część efektów biologicznych przypisywanych Ang II w rzeczywistości jest wynikiem działania aldosteronu lub skutkiem wzmocnienia przez aldosteron działania Ang II. Wykazano ponadto, że antagonistą receptora AT1 – losartan, obniża zwiększoną przez aldosteron aktywność oksydazy NADPH w naczyniach, sercu i nerkach szczura oraz wytwarzanie ROS [35]. Także badania w modelu zakrzepicy żyłnej dowodzą, że antagonistą receptora AT1 częściowo osłabiały wywołany ostrą infuzją aldosteronu w dawce 30 µg/kg/h proces zakrzepowy i poprawiał parametry fibrynolizy [28]. U szczurów 2K-1C spironolakton nie ograniczał procesu zakrzepowego, dopiero dołączenie ACE-I – chinaprylu wywołało istotny efekt przeciwwzakrzepowy. Ponadto podwójna blokada układu RAA wywołała silniejsze działanie antykoagulacyjne i profibrynolityczne w porównaniu z działaniem wywołanym podaniem samego spironolaktonu [69]. Wyniki te potwierdzają udział angiotensyny II i receptora AT1 w prozakrzepowym działaniu aldosteronu.

Receptor glikokortykoidowy

Pojedyncze dane literaturowe wskazują, iż selektywny antagonistą receptora glikokortykoidowego (GR) może znosić niektóre następstwa aldosteronu. Wykazano, że blokada receptora GR zapobiegała apoptogennemu działaniu aldosteronu w tymocytach szczurów w warunkach *in vivo* i *in vitro* [5]. Ebata i wsp. dowiedli, iż 24-godzinna inkubacja izolowanych komórek mięśni gładkich aorty piersiowej szczura z aldosteronem prowadzi do aktywacji wymiennika Na⁺/H⁺ m.in. w mechanizmie genomowym zależnym zarówno od aktywacji receptora MR jak i GR [18]. Niedawno wykazano, że niegenomowe działanie aldosteronu nasilające reabsorpcję węglanów i dokomórkowy prąd wolnego wapnia w kanalikach proksymalnych nerek szczura zachodzi również za pośrednictwem receptora GR. Wykluczono jednocześnie udział receptora MR w tym mechanizmie [55]. Biorąc powyższe pod uwagę, należałoby przyjąć, że niektóre skutki działania aldosteronu w układzie sercowo-naczyniowym mogą wynikać z nieselektywnego pobudzenia receptorów MR i GR. Tym bardziej, że liczne dane dowodzą, iż pobudzenie receptora GR prowadzi do dysfunkcji śródbłonna naczyniowego, osłabia syntezę NO i nasila stres

oksydacyjny [37,45,46]. Jak wskazują badania *in vitro*, pobudzenie receptora GR jego agonistą spowodowało wzrost stężenia PAI-1, czynnika von Willebranda oraz endoteliny 1 w komórkach śródbłonna ludzkiej żyły pępowinowej [34]. Także badania kliniczne wykazują zwiększoną aktywację układu krzepnięcia i osłabioną fibrynolizę u chorych z zespołem Cushinga [21,38].

Jony potasu

Udowodniono, że zwiększenie stężenia jonów K⁺ w osoczu ograniczało rozwój zakrzepicy tętniczej u psa [44]. Zależało to od bezpośredniego hamującego wpływu jonów K⁺ na agregację płytek krwi, a także od zahamowania przez jony K⁺ proagregacyjnego działania epinefryny [44,90]. Nie można wykluczyć zatem, iż wywołane przez aldosteron zmiany w stężeniu elektrolitów mogą być jedną z przyczyn zaburzeń w układzie hemostazy. Wykazano, że ostrej infuzji aldosteronu towarzyszyło zależne od dawki zwiększone wydalanie potasu (K⁺), co potwierdza jednocześnie klasyczne, nerkowe działanie aldosteronu. Jednak można sugerować, że spadek stężenia jonów K⁺ wiąże się z prozakrzepowym działaniem aldosteronu. Także obserwacje kliniczne wskazują na potencjalną rolę jonów K⁺ w powikłaniach zakrzepowych. W badaniu klinicznym UK-HEART ryzyko nagłej śmierci sercowej wśród pacjentów z przewlekłą niewydolnością serca korelowało ze spadkiem stężenia jonów K⁺ w surowicy [52].

PODSUMOWANIE

Przedstawiony przegląd badań eksperymentalnych i klinicznych systematyzuje wiedzę o roli aldosteronu w układzie sercowo-naczyniowym zwracając uwagę na rolę hormonu w promowaniu procesu zakrzepowego. W ostatnich latach wykazano istnienie zależności między podwyższonym stężeniem aldosteronu a zaburzeniami hemostazy prowadzącymi do wzrostu występowania incydentów zakrzepowo-zatorowych u chorych z nadciśnieniem tętniczym czy niewydolnością serca.

Także w modelach eksperymentalnych aldosteron nasilał proces formowania zakrzepu tętniczego i żylnego w mechanizmie zależnym od aktywacji hemostazy pierwotnej, działania prokoagulacyjnego, antyfibrynolitycznego oraz osłabienia biodostępności tlenu azotu i nasilenia stresu oksydacyjnego. Wpływ aldosteronu na procesy hemostazy u zwierząt doświadczalnych należy przypuszczalnie wiązać także z niegenomowymi mechanizmami działania tego hormonu. Omówione wyniki wskazują także na nowe, wykraczające poza hipotensyjne, plejotropowe działanie antagonistów receptora MR – eplerenonu i spironolaktonu. Należy jednak pamiętać, że bezpośrednie odnośzenie wyników badań eksperymentalnych do warunków klinicznych może być uproszczeniem. Konieczne jest zatem dokładne zbadanie mechanizmów działania aldosteronu także w warunkach klinicznych. Umożliwi to poszukiwanie skutecznych strategii eliminowania niekorzystnego działania tego hormonu, co z kolei może się stać impulsem do ustalenia nowych standardów prewencji i leczenia chorób układu sercowo-naczyniowego.

PIŚMIENICTWO

- [1] Anand K.J.: The stress response to surgical trauma: from physiological basis to therapeutic implications. *Prog. Food Nutr. Sci.*, 1986; 10: 67–132
- [2] Anand K., Mooss A.N., Mohiuddin S.M.: Aldosterone inhibition reduces the risk of sudden cardiac death in patients with heart failure. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.*, 2006; 7: 15–19
- [3] Bajzar L., Manuel R., Nesheim M.E.: Purification and characterization of TAFI, a thrombin activable fibrinolysis inhibitor. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 14477–14484
- [4] Bauersachs J., Heck M., Fraccarollo D., Hildemann S.K., Ertl G., Wehling M., Christ M.: Addition of spironolactone to angiotensin-converting enzyme inhibition in heart failure improves endothelial vasomotor dysfunction: role of vascular superoxide anion formation and endothelial nitric oxide synthase expression. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2002; 39: 351–358
- [5] Ben Rhouma K., Schimchowitsch S., Stoeckel M.E., Felix J.M., Sakly M.: Implication of type II glucocorticoid receptors in aldosterone induced apoptosis of rat thymocytes. *Arch. Physiol. Biochem.*, 1997; 105: 216–224
- [6] Bodary P.F., Sambaziotis C., Wickenheiser K.J., Rajagopalan S., Pitt B., Eitzman D.T.: Aldosterone promotes thrombosis formation after arterial injury in mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2006; 26: 233
- [7] Brilla C.G., Matsubara L.S., Weber K.T.: Anti-aldosterone treatment and the prevention of myocardial fibrosis in primary and secondary hyperaldosteronism. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 1993; 25: 563–575
- [8] 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
- [9] Brown N.J., Kim K.S., Chen Y.Q., Blevins L.S., Nadeau J.H., Meranze S.G., Vaughan D.E.: Synergistic effect of adrenal steroids and angiotensin II on plasminogen activator inhibitor-1 production. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000; 85: 336–344
- [10] Brown N.J., Nakamura S., Ma L., Nakamura I., Donnert E., Freeman M., Vaughan D.E., Fogo A.B.: Aldosterone modulates plasminogen activator inhibitor-1 and glomerulosclerosis *in vivo*. *Kidney Int.*, 2000; 58: 1219–1227
- [11] Carey R.M.: Aldosterone and cardiovascular disease. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.*, 2010; 17: 194–198
- [12] Chander P.N., Rocha R., Ranaudo J., Singh G., Zuckerman A., Stier C.T. Jr.: Aldosterone plays a pivotal role in the pathogenesis of thrombotic microangiopathy in SHRSP. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2003; 14: 1990–1997
- [13] Charloux A., Gronfier C., Lonsdorfer-Wolf E., Piquard F., Brandenberger G.: Aldosterone release during the sleep-wake cycle in humans. *Am. J. Physiol.*, 1999; 276: 43–49
- [14] Christ M., Douwes K., Eisen C., Bechtner G., Theisen K., Wehling M.: Rapid effects of aldosterone on sodium transport in vascular smooth muscle cells. *Hypertension*, 1995; 25: 117–123
- [15] Christ M., Wehling M.: Rapid actions of aldosterone: lymphocytes, vascular smooth muscle and endothelial cells. *Steroids*, 1999; 64: 35–41
- [16] Chun T.Y., Pratt J.H.: Aldosterone increases plasminogen activator inhibitor-1 synthesis in rat cardiomyocytes. *Mol. Cell Endocrinol.*, 2005; 239: 55–61
- [17] Connell J.M., Davies E.: The new biology of aldosterone. *J. Endocrinol.*, 2005; 186: 1–20
- [18] Ebata S., Muto S., Okada K., Nemoto J., Amemiya M., Saito T., Asano Y.: Aldosterone activates Na⁺/H⁺ exchange in vascular smooth muscle cells by nongenomic and genomic mechanisms. *Kidney Int.*, 1999; 56: 1400–1412
- [19] El-Atat F.A., McFarlane S.L., Sowers J.R., Bigger J.T.: Sudden cardiac death in patients with diabetes. *Curr. Diab. Rep.*, 2004; 4: 187–193
- [20] Enomoto S., Yoshiyama M., Omura T., Matsumoto R., Kusuyama T., Kim S., Izumi Y., Akioka K., Iwao H., Takeuchi K., Yoshikawa J.: Effects of eplerenone on transcriptional factors and mRNA expression related to cardiac remodelling after myocardial infarction. *Heart*, 2005; 91: 1595–1600
- [21] Erem C., Nuhoglu I., Yilmaz M., Kocak M., Demirel A., Ucuncu O., Onder Ersoz H.: Blood coagulation and fibrinolysis in patients with Cushing's syndrome: increased plasminogen activator inhibitor-1, decreased tissue factor pathway inhibitor, and unchanged thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor levels. *J. Endocrinol. Invest.*, 2009; 32: 169–174
- [22] Farquharson C.A., Struthers A.D.: Aldosterone induces acute endothelial dysfunction *in vivo* in humans: evidence for an aldosterone-induced vasculopathy. *Clin. Sci.*, 2002; 103: 425–431
- [23] Farquharson C.A., Struthers A.D.: Spironolactone increases nitric oxide bioactivity, improves endothelial vasodilator dysfunction, and suppresses vascular angiotensin I/angiotensin II conversion in patients with chronic heart failure. *Circulation*, 2000; 15: 594–597
- [24] Fullerton M.J., Funder J.W.: Aldosterone regulates collagen output of cardiac fibroblasts by upregulation of endothelin receptors. *Endocrin. Soc. Proc.*, 1998; 93: 511
- [25] Garnier A., Bendall J.K., Fuchs S., Escoubet B., Rochais F., Hoerter J., Nehme J., Ambroisine M.L., De Angelis N., Morineau G., d'Estienne P., Fischmeister R., Heymes C., Pinet F., Delcayre C.: Cardiac specific increase in aldosterone production induces coronary dysfunction in aldosterone synthase-transgenic mice. *Circulation*, 2004; 110: 1819–1825
- [26] Gomez-Sanchez E.P., Ahmad N., Romero D.G., Gomez-Sanchez C.E.: Origin of aldosterone in the rat heart. *Endocrinology*, 2004; 145: 4796–4802
- [27] Gomez-Sanchez E.P., Gomez-Sanchez C.M., Plonczynski M., Gomez-Sanchez C.E.: Aldosterone synthesis in the brain contributes to Dahl salt-sensitive rat hypertension. *Exp. Physiol.*, 2010; 95: 120–130
- [28] Gromotowicz A., Stankiewicz A., Osmólska O., Wojewódzka-Żeleźniakowicz M., Chabielska E.: Prozakrzepowe działanie aldosteronu u szczurów. *Udział płytek krwi i komponenty naczyniowej. Kardiologia Polska*, 2009; Supl. VI: 465
- [29] Gromotowicz A., Szmraj J., Stankiewicz A., Skrzypkowski P., Wojewódzka-Żeleźniakowicz M., Chabielska E.: Short-term aldosterone infusion disturbs endothelium-dependent haemostatic balance during experimental thrombosis in rats. *Basic Clin. Pharmacol.*, 2008; 102(Supl.1): 22
- [30] Gromotowicz A., Szmraj J., Stankiewicz A., Zakrzaska A., Mantur M., Jaroszewicz E., Rogowski F., Chabielska E.: Study of the mechanisms of aldosterone prothrombotic effect in rats. *JRAAS*, 2010; (w druku)
- [31] Hackl J.M., Skrabal F.: Plasma renin activity, plasma aldosterone and electrolyte balance in the postoperative period. *Anaesthesist*, 1975; 24: 477–482
- [32] Harada E., Yoshimura M., Yasue H., Nakagawa O., Nakagawa M., Harada M., Mizuno Y., Nakayama M., Shimasaki Y., Ito T., Nakamura S., Kuwahara K., Saito Y., Nakao K., Ogawa H.: Aldosterone induces angiotensin-converting-enzyme gene expression in cultured neonatal rat cardiocytes. *Circulation*, 2001; 104: 137–139
- [33] Hirono Y., Yoshimoto T., Suzuki N., Sugiyama T., Sakurada M., Takai S., Kobayashi N., Shichiri M., Hirata Y.: Angiotensin II receptor type 1-mediated vascular oxidative stress and proinflammatory gene expression in aldosterone-induced hypertension: the possible role of local renin-angiotensin system. *Endocrinology*, 2007; 148: 1688–1696
- [34] Huang L.Q., Whitworth J.A., Chesterman C.N.: Effects of cyclosporin A and dexamethasone on haemostatic and vasoactive functions of vascular endothelial cells. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 1995; 6: 438–445
- [35] Iglarz M., Touyz R.M., Viel E.C., Amiri F., Schiffrin E.L.: Involvement of oxidative stress in the profibrotic action of aldosterone. Interaction with the renin-angiotensin system. *Am. J. Hypertens.*, 2004; 17: 597–603
- [36] Ikeda U., Kanbe T., Nakayama I., Kawahara Y., Yokoyama M., Shimada K.: Aldosterone inhibits nitric oxide synthesis in rat vascular smooth muscle cell induced by interleukin-1 β . *Eur. J. Pharmacol.*, 1995; 290: 69–73
- [37] Iuchi T., Akaike M., Mitsui T., Ohshima Y., Shintani Y., Azuma H., Matsumoto T.: Glucocorticoid excess induces superoxide production in vascular endothelial cells and elicits vascular endothelial dysfunction. *Circ. Res.*, 2003; 92: 81–87
- [38] Kastelan D., Dusek T., Kraljevic I., Polasek O., Giljevic Z., Solak M., Salek S.Z., Jelcic J., Aganovic I., Korsic M.: Hypercoagulability in Cushing's syndrome: the role of specific haemostatic and fibrinolytic markers. *Endocrine*, 2009; 36: 70–74
- [39] Kayes-Wandover K.M., White P.C.: Steroidogenic enzyme gene expression in the human heart. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2000; 85: 2519–2525
- [40] Keidar S., Hayek T., Kaplan M., Pavlotzky E., Hamoud S., Coleman R., Aviram M.: Effect of eplerenone, a selective aldosterone blocker, on blood pressure, serum and macrophage oxidative stress, and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 2003; 41: 955–963

- [41] Kotlyar E., Vita J.A., Winter M.R., Awtry E.H., Siwik D.A., Keane J.F. Jr., Sawyer D.B., Cupples L.A., Colucci W.S., Sam F.: The relationship between aldosterone, oxidative stress, and inflammation in chronic, stable human heart failure. *J. Card. Fail.*, 2006; 12: 122–127
- [42] Lariviere R., Deng L.Y., Day R., Sventek P., Thibault G., Schiffrin E.L.: Increased endothelin-1 gene expression in the endothelium of coronary arteries and endocardium in the DOCA-salt hypertensive rat. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 1995; 27: 2123–2131
- [43] Leite-Dellova D.C., Oliveira-Souza M., Malnic G., Mello-Aires M.: Genomic and nongenomic dose-dependent biphasic effect of aldosterone on Na⁺/H⁺ exchanger in proximal S3 segment: role of cytosolic calcium. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2008; 295: F1342–F1352
- [44] Lin H., Young D.B.: Interaction between plasma potassium and epinephrine in coronary thrombosis in dogs. *Circulation*, 1994; 89: 331–338
- [45] Mangos G.J., Walker B.R., Kelly J.J., Lawson J.A., Webb D.J., Whitworth J.A.: Cortisol inhibits cholinergic vasodilation in the human forearm. *Am. J. Hypertens.*, 2000; 13: 1155–1160
- [46] Matsumura M., Kakishita H., Suzuki M., Banba N., Hattori Y.: Dexamethasone suppresses iNOS gene expression by inhibiting NF- κ B in vascular smooth muscle cells. *Life Sci.*, 2001; 69: 1067–1077
- [47] Michel F., Ambroisine M.L., Duriez M., Delcayre C., Levy B.J., Silvestre J.S.: Aldosterone enhances ischemia-induced neovascularization through angiotensin II-dependent pathway. *Circulation*, 2004; 109: 1933–1937
- [48] Miyata K., Rahman M., Shokoji T., Nagai Y., Zhang G.X., Sun G.P., Kimura S., Yukimura T., Kiyomoto H., Kohno M., Abe Y., Nishiyama A.: Aldosterone stimulates reactive oxygen species production through activation of NADPH oxidase in rat mesangial cells. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2005; 16: 2906–2912
- [49] Mizuno Y., Yoshimura M., Yasue H., Sakamoto T., Ogawa H., Kugiyama K., Harada E., Nakayama M., Nakamura S., Ito T., Shimasaki Y., Saito Y., Nakao K.: Aldosterone production is activated in failing ventricle in humans. *Circulation*, 2001; 103: 72–77
- [50] Moraes L., Paul-Clark M.J., Rickman A., Flower R.J., Goulding N.J., Perretti M.: Ligand-specific glucocorticoid receptor activation in human platelets. *Blood*, 2005; 106: 4167–4175
- [51] Nagata D., Takahashi M., Sawai K., Tagami T., Usui T., Shimatsu A., Hirata Y., Naruse M.: Molecular mechanism of the inhibitory effect of aldosterone on endothelial NO synthase activity. *Hypertension*, 2006; 48: 165–171
- [52] Nolan J., Batin P.D., Andrews R., Lindsay S.J., Brooksby P., Mullen M., Baig W., Flapan A.D., Cowley A., Prescott R.J., Neilson J.M., Fox K.A.: Prospective study of heart rate variability and mortality in chronic heart failure: results of the United Kingdom heart failure evaluation and assessment of risk trial (UK-HEART). *Circulation*, 1998; 98: 1510–1516
- [53] Parry G.C., Erlich J.H., Carmeliet P., Luther T., Mackman N.: Low levels of tissue factor are compatible with development and hemostasis in mice. *J. Clin. Invest.*, 1998; 101: 560–569
- [54] Peire M.A., Puig-Parellada P.: Oxygen-free radicals and nitric oxide are involved in the thrombus growth produced by iontophoresis of ADP. *Pharmacol. Res.*, 1998; 38: 353–356
- [55] Pergher P.S., Leite-Dellova D., de Mello-Aires M.: Direct action of aldosterone on bicarbonate reabsorption in *in vivo* cortical proximal tubule. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2009; 296: F1185–F1193
- [56] Rapaport S.I., Rao L.V.: The tissue factor pathway: how it has become a "Prima Ballerina". *Thromb. Haemost.*, 1995; 74: 7–17
- [57] Redlitz A., Nicolini F.A., Malycky J.L., Topol E.J., Plow E.F.: Inducible carboxypeptidase activity. A role in clot lysis *in vivo*. *Circulation*, 1996; 93: 1328–1330
- [58] Reyers I., De Gaetano G., Donati M.B.: Venostasis-induced thrombosis in rats is not influenced by circulating platelet or leukocyte number. *Agents Actions*, 1989; 28: 137–141
- [59] Robert V., Silvestre J.S., Charlemagne D., Sabri A., Trouvé P., Wassef M., Swynghedauw B., Delcayre C.: Biological determinants of aldosterone-induced cardiac fibrosis in rats. *Hypertension*, 1995; 26: 971–978
- [60] Rocha R., Chander P.N., Khanna K., Zuckerman A., Stier C.T. Jr.: Mineralocorticoid blockade reduces vascular injury in stroke-prone hypertensive rats. *Hypertension*, 1998; 31: 451–458
- [61] Rocha R., Chander P.N., Zuckerman A., Stier C.T. Jr.: Role of aldosterone in renal vascular injury in stroke-prone hypertensive rats. *Hypertension*, 1999; 33: 232–237
- [62] Rocha R., Rudolph A.E., Friedrich G.E., Nachowiak D.A., Kecek B.K., Blomme E.A., McMahon E.G., Delyani J.A.: Aldosterone induces a vascular inflammatory phenotype in the rat heart. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2002; 283: 1802–1810
- [63] Rossol-Haseroth K., Zhou Q., Braun S., Boldyreff B., Falkenstein E., Wehling M., Lösel R.M.: Mineralocorticoid receptor antagonists do not block rapid ERK activation by aldosterone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2004; 318: 281–288
- [64] Sawathiparnich P., Kumar S., Vaughan D.E., Brown N.J.: Spironolactone abolishes the relationship between aldosterone and plasminogen activator inhibitor-1 in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002; 87: 448–452
- [65] Schäfer A., Fraccarollo D., Hildemann S., Christ M., Eigenthaler M., Kobsar A., Walter U., Bauersachs J.: Inhibition of platelet activation in congestive heart failure by aldosterone receptor antagonism and ACE inhibition. *Thromb. Haemost.*, 2003; 89: 1024–1030
- [66] Schlaich M.P., Schobel H.P., Hilgers K., Schieder R.E.: Impact of aldosterone on left ventricular structure and function in young normotensive and mildly hypertensive subjects. *Am. J. Cardiol.*, 2000; 85: 1199–1206
- [67] Silvestre J.S., Heymes C., Oubénaïssa A., Robert V., Aupetit-Faisant B., Carayon A., Swynghedauw B., Delcayre C.: Activation of cardiac aldosterone production in rat myocardial infarction: effect of angiotensin II receptor blockade and role in cardiac fibrosis. *Circulation*, 1999; 99: 2694–2701
- [68] Silvestre J.S., Robert V., Heymes C., Aupetit-Faisant B., Mouas C., Moalic J.M., Swynghedauw B., Delcayre C.: Myocardial production of aldosterone and corticosterone in the rat. *Physiological regulation*. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 4883–4891
- [69] Stankiewicz A., Gromotowicz A., Szemraj J., Osmólska U., Mikita J., Chabińska E.: Podwójna blokada układu renina-angiotensyna-aldosteronu a parametry hemostazy szczura z nadciśnieniem naczyniowo-nerkowym. *Kardiologia Polska*, 2008; Supl. III: 385
- [70] Stankiewicz A., Gromotowicz A., Szemraj J., Wojewódzka-Żeleznikowicz M., Skrzypkowski P., Chabińska E.: Acute aldosterone infusion enhances thrombosis development in normotensive rats. *Thromb. Haemost.*, 2007; 98: 697–699
- [71] Stier C.T. Jr., Chander P.N., Rocha R.: Aldosterone as a mediator in cardiovascular injury. *Cardiol. Rev.*, 2002; 10: 97–107
- [72] Sun Y., Ratajska A., Weber K.T.: Bradykinin receptor and tissue ACE binding in myocardial fibrosis: response to chronic angiotensin II or aldosterone administration in rats. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 1995; 27: 813–822
- [73] Sun Y., Weber K.T.: Angiotensin-converting enzyme and wound healing in diverse tissues of the rat. *J. Lab. Clin. Med.*, 1996; 127: 94–101
- [74] Sun Y., Zhang J., Lu L., Chen S.S., Quinn M.T., Weber K.T.: Aldosterone-induced inflammation in the rat heart. Role of oxidative stress. *Am. J. Pathol.*, 2002; 161: 1773–1781
- [75] Swedberg K., Eneroth P., Kjekshus J., Wilhelmsen L.: Hormones regulating cardiovascular function in patients with severe congestive heart failure and their relation to mortality. CONSENSUS Trial Study Group. *Circulation*, 1990; 82: 1730–1736
- [76] Takeda Y., Yoneda T., Demura M., Miyamori I., Mabuchi H.: Cardiac aldosterone production in genetically hypertensive rats. *Hypertension*, 2000; 36: 495–500
- [77] Tasatargil A., Tekcan M., Celik-Ozenci C., Ece Gungor N., Dalkiran B.: Aldosterone-induced endothelial dysfunction of rat aorta: role of poly(ADP-ribose) activation. *J. Renin Angiotensin Aldosterone Syst.*, 2009; 10: 127–137
- [78] Trachtman H., Weiser A.C., Valderrama E., Morgado M., Palmer L.S.: Prevention of renal fibrosis by spironolactone in mice with complete unilateral ureteral obstruction. *J. Urol.*, 2004; 172: 1590–1594
- [79] Van Tilburg N.H., Rosendaal F.R., Bertina R.M.: Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor and the risk for deep vein thrombosis. *Blood*, 2000; 95: 2855–2859
- [80] Virdis A., Neves M.F., Amiri F., Viel E., Touyz R.M., Schiffrin E.L.: Spironolactone improves angiotensin-induced vascular changes and oxidative stress. *Hypertension*, 2002; 40: 504–510
- [81] Wang D., Liu Y.H., Yang X.P., Rhaleb N.E., Xu J., Peterson E., Rudolph A.E., Carretero O.A.: Role of a selective aldosterone blocker in mice with chronic heart failure. *J. Card. Fail.*, 2004; 10: 67–73
- [82] Weber K.T., Brilla C.G., Campbell S.E., Zhou G., Matsubara L., Guarda E.: Pathologic hypertrophy with fibrosis: the structural basis for myocardial failure. *Blood Press.*, 1992; 1: 75–85
- [83] Wildling L., Hinterdorfer P., Kusche-Vihrog K., Treffner Y., Oberleitner H.: Aldosterone receptor sites on plasma membrane of human vascular endothelium detected by a mechanical nanosensor. *Pflügers Arch.*, 2009; 458: 223–230

- [84] Wilson E.M., Gunasinghe H.R., Coker M.L., Sprunger P., Lee-Jackson D., Bozkurt B., Deswal A., Mann D.L., Spinale F.G.: Plasma matrix metalloproteinase and inhibitor profiles in patients with heart failure. *J. Card. Fail.*, 2002; 8: 390–398
- [85] Xiao F., Puddefoot J.R., Barker S., Vinson G.P.: Mechanism for aldosterone potentiation of angiotensin II-stimulated rat arterial smooth muscle cell proliferation. *Hypertension*, 2004; 44: 340–345
- [86] Yalcin A.I., Dincer M., Aslan V., Gulbas Z.: Effect of spironolactone on impaired fibrinolysis of hypertensive patients. *Kidney Blood Press Res.*, 2002; 25: 260–264
- [87] Yang Y., Loscalzo J.: Regulation of tissue factor expression in human microvascular endothelial cells by nitric oxide. *Circulation*, 2000; 101: 2144–2148
- [88] Yao S.K., Ober J.C., Gonenne A., Clubb F.J. Jr., Krishnaswami A., Ferguson J.J., Anderson H.V., Gorecki M., Buja L.M., Willerson J.T.: Active oxygen species play a role in mediating platelet aggregation and cyclic flow variations in severely stenosed and endothelium-injured coronary arteries. *Circ. Res.*, 1993; 73: 952–967
- [89] Yoshimura M., Nakamura S., Ito T., Nakayama M., Harada E., Mizuno Y., Sakamoto T., Yamamuro M., Saito Y., Nakao K., Yasue H., Ogawa H.: Expression of aldosterone synthase gene in failing human heart: quantitative analysis using modified real-time polymerase chain reaction. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002; 87: 3936–3940
- [90] Young D.B., Ma G.: Vascular protective effects of potassium. *Semin. Nephrol.*, 1999; 19: 477–486
- [91] Yuan J., Jia R., Bao Y.: Aldosterone up-regulates production of plasminogen activator inhibitor-1 by renal mesangial cells. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 2007; 40: 180–188
- [92] Zakrzeska A., Gromotowicz A., Szemraj J., Szoka P., Dąbrowska M., Chabińska E.: Przeciwzakrzepowy efekt eplerenonu u szczurów z cukrzycą. *Kardiologia Polska*, 2010; (w druku)

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.