

Hemokoagulační mechanizmy v procesu aterotrombózy

T. Kvasnička

Trombotické centrum, vedoucí lékař doc. MUDr. Tomáš Kvasnička, CSc., Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. lékařské fakulty UK a VFN Praha, přednosta prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc.

Souhrn: Hemostáza v organismu plní svou základní roli, tj. ochranu cévní integrity a udržování normálního průtoku krve. Vedle toho je anatomicky i funkčně propojena s cévním systémem. Klasické koncepce aterosklerózy ukazují klíčovou roli zánětu při vzniku a progresi tohoto onemocnění. Shromažďované údaje ukazují i velmi úzký vztah mezi hemostázou a zánětem, což podtrhuje význam obou systémů v mnoha složitých dějích i onemocněních, včetně procesu aterotrombózy. Bohaté experimentální údaje ukazují, že krevní destičky a koagulační systém jsou důležitými faktory jak aterogeneze, tak i aterotrombózy. Hemostatický systém je významným faktorem v cévním systému a může ovlivnit molekulární i buněčné složení arteriální stěny. Současné pojetí vulnerabilního plátu ukazuje, že opakované mikroruptury plátu, následované subklinickou trombózou, jsou tím kritickým mechanismem pro růst plátu a jeho vulnerabilitu.

Klíčová slova: aterotrombóza – zánět – hemostatický systém – krevní destičky – antikoagulační terapie

Haemostatic mechanisms in the process of atherothrombosis

Summary: Hemostasis play an essential role in protecting of vascular integrity and maintaining normal blood flow, and anatomically and functionally is entwined with the vasculature. The classic concept of atherosclerosis assigns a pivotal role to inflammation in the onset and progression of this disease. Accumulating data suggest an intimate cross-talk between hemostasis and inflammation, underscoring the role of both systems in many complex diseases, including atherothrombosis. An experimental data indicate that platelets and the coagulation system are important determinants of both atherogenesis and atherothrombosis. The hemostatic system is well known for its capacity to exert a multitude of actions on the vasculature. The current concept of a vulnerable plaque suggests that repeated plaque microruptures, followed by subclinical thrombosis, are critical for plaque growth and vulnerability.

Key words: atherothrombosis – inflammation – hemostatic system – platelets – anticoagulant therapy

Hemostáza

Hemostáza je komplexní proces, který brání ztrátám krve při poškození krevních cév a který v sobě zahrnuje několik podjednotek (systém krevních destiček, cévní reaktivitu, koagulaci a cesty antikoagulační a fibrinolytické), které jsou za fyziologických podmínek v dynamické rovnováze [1,2]. Tento evoluční proces udržuje krev v tekutém stavu za fyziologických podmínek a způsobuje zástavu krvácení po narušení cévní integrity. Zdravý organismus dovede složitými vzájemnými vazbami mezi jednotlivými procesy účinně regulovat míru jejich aktivity tak, aby nedošlo k nadbytečné aktivaci srážení a hrozbě vzniku nežádoucích sraženin a zároveň aby se maximálně udržela možnost zástavy krvácení. Jakýkoli zásah do rovnováhy těchto procesů se pak může projevit krvácením nebo

zvýšenou srážlivostí krve. Údaje, které jsou v současné době k dispozici, ukazují na další velmi úzký vztah mezi hemostázou a zánětem, což podtrhuje roli obou systémů v mnoha složitých dějích i onemocněních organismu, včetně procesu aterotrombózy.

Krevní destičky v procesu aterogeneze

Průkopnické studie dokumentovaly významnou roli krevních destiček v experimentálních studiích procesu aterogeneze [3,4]. Krevní destičky dokážou vyvinout nepřeborné množství proaterogenních činností a vytvořit rozhraní mezi hemostázou, přirozenou imunitou a zánětem v aterosklerotickém procesu [5]. Systémové zánětlivé prostředí, nezávislé na narušení cévní stěny, vyvolává fenotypovou přeměnu endotelu do proaterogenní podoby.

Výsledkem je zvýšená exprese cytoadhezivních molekul, jako je P-selektin a E-selektin. Primární adheze krevních destiček na narušeném vaskulárním endoteliálním povrchu je dosaženo díky vazbě destičkových glykoproteinových receptorů $\text{Ib } \alpha$ na von Willebrandův faktor, zatímco pevná adheze je zprostředkována přes $\beta 3$ integriny. Adherované destičky současně také uvolňují proaterogenní mediátory, jako jsou cytokiny, chemokiny, růstové faktory, adhezivní molekuly a koagulační faktory. Zvýšená exprese P-selektinu na povrchu krevních destiček i endoteliálních buněk zesiluje interakci s P-selektivním glykoproteinovým ligandem 1, který je exprimován na membráně leukocytů. Tato vazba mezi destičkami a cirkulujícími leukocyty (monocyty a neutrofily), dendritickými buňkami a progenitorovými buňkami

podporuje další aktivaci leukocytů, jejich adhezi a migraci, tj. procesy, které jsou považovány za rozhodující při tvorbě a progresi aterosklerotického plátu [6]. Aktivované krevní destičky exprimují a secernují CD154 (také známý jako CD40L), který dokáže aktivovat endotel a účastnit se řady buněčných procesů, a to včetně prozátnětlivé reakce, která zvyšuje nárůst trombu, ale zároveň snižuje jeho stabilitu, což může následně vést k ruptuře a následné embolizaci. CD154 destičkového původu může podporovat proces aterogeneze tím způsobem, že zabrání migraci regulačních T-buněk (T_{reg}) do místa trombu. T_{reg} produkují TGF β , transformující růstový faktor β , který má protizánětlivý vliv a podílí se na stabilizaci trombu [7].

Proaterotrombotické složky koagulačního systému

Lokální syntéza několika funkčně aktivních koagulačních proteinů ukazuje na aktivní buněčnou koagulační síť, která se účastní rozvoje aterosklerotických lézí u lidí. Role těchto koagulačních bílkovin v procesu aterogeneze je patrná podle zvýšení aktivity generace trombinu u včasných stadií aterosklerotických lézí ve srovnání se stabilními pokročilejšími stadii aterosklerotického procesu [8]. Množství koagulačních faktorů v časných stadiích aterosklerózy cév a lokální generace trombinu nebo fibrinu mohou být projevem primárních ochranných mechanismů proti poranění cévy. Přetrvávající zánětlivé prostředí v oblasti cévní stěny, částečně podporované koagulačním systémem, může podporovat lokální generace trombinu, což se může nakonec změnit v bludný kruh, který přispívá k tvorbě trombu v místě plátu [9], a tak nakonec vést i k jeho nestabilitě.

Tkáňový faktor

Tkáňový faktor (TF) je transmembránový cytokinový receptor 2. třídy, který je považován za primární fyziologický spouštěcí faktor koagulační kaskády [10] a je rovněž nezbytný pro proces

vaskularizace. Za fyziologických podmínek, v normálních krevních cévách, vnitřní povrch endotelií neexprimuje tkáňový faktor, zatímco okolní vrstvy, sestávající z buněk hladké svaloviny (VSMC), adventicie fibroblastů a pericytů, vykazují hojnou syntézu tkáňového faktoru. Tato specifická cévní lokalizace tkáňového faktoru je obecně přiřítána k jeho roli v prevenci krvácení po narušení cévní integrity [11]. V rámci aterosklerotické léze je tkáňový faktor převážně lokalizován v makrofázích, VSMC a v detritech pěnových buněk v nekrotickém jádru plátu [12,13]. Aktivita tkáňového faktoru je významně vyšší v lézích pacientů s nestabilní anginou pectoris nebo infarktem myokardu než u pacientů se stabilní formou kardiovaskulárních onemocnění [14], což může ukazovat na důležitou roli tohoto koagulačního proteinu v trombogenicitě plátu. Na rozdíl od jeho koagulačních vlastností je komplex TF-F VIIa multifunkční, se schopností podpory buněčné signalizace, transkripce genů a následné syntézy proteinů. Aktivace PAR-2 je nezbytná při zprostředkování signalizace komplexu TF-F VIIa. Později se pak mohou zapojit i některé proaterosklerotické procesy, jako je chemotaxe monocytů a fibroblastů, zánět, migrace VSMC, proliferace (vaskulární remodelace), angiogeneze (přispívající k destabilizaci plátu), indukce oxidačního stresu v makrofázích a apoptóza [15]. Existuje jen velmi málo klinických údajů, pokud jde o roli komplexu TF-F VIIa v progresi aterosklerózy. Hladiny antigenu plazmatického tkáňového faktoru, ovlivněné známými polymorfizmy genu tkáňového faktoru, jsou pozitivně asociovány jak se zvýšeným rizikem úmrtí na kardiovaskulární příhody, tak i se zvýšenou tloušťkou intimy-medie karotických tepen, která je považována za ukazatel subklinické aterosklerózy [16].

Faktor Xa

Po své aktivaci zahajuje faktor Xa intracelulární signalizaci různých buněk

kardiovaskulárního systému, a to přednostně zprostředkovanou PAR-2 nebo v trojici s komplexem TF-F VIIa, a to jak prostřednictvím PAR-1, tak i PAR-2 [17], které jsou hojně přítomny na endoteliálních buňkách, leukocytech, VSMC, fibroblastech a dendritických buňkách. Na faktoru Xa závislá, pomocí PAR zprostředkovaná, signalizace přispívá k produkci prozátnětlivých cytokinů, včetně interleukinu-6, interleukinu-8 a chemokinového (C-C) ligandu 2 (CCL2), a k expresi cytoadhezivních molekul, E-selektinu, intracelulární adhezivní molekuly 1 (ICAM-1) a vaskulární adhezivní molekuly 1 (VCAM-1). Dále spolu se zvýšeným tkáňovým faktorem přispívá k proliferaci VSMC a uvolňování růstových faktorů (jako je vaskulární endoteliální růstový faktor, z destiček odvozený růstový faktor a transformující růstový faktor β) [17]. Všechny tyto děje pak mohou přispět k progresi aterosklerotického plátu, k zánětu, transmigraci leukocytů, k restenóze a k angiogenezi. Jako významný se ukázal fakt, že cévní remodelace byla menší po cíleném zásahu nespecifických inhibitorů faktoru Xa (heparinu a nízkomolekulárního heparinu) [18].

Trombin

Trombin má rozhodující roli v procesu koagulace. Řídí interakci a proteolytickou aktivaci svých přímých buněčných cílů (PAR-1, -3 a -4) [19], navíc je zapojen i do cévní regulace za fyziologických i patofyziologických podmínek. Trombin je dalším příkladem mnohostranné molekuly se širokým spektrem vlastností. Trombin, vazbou na trombomodulin, podporuje přeměnu proteinu C na aktivovaný protein C, tedy částici se silným antikoagulačním a protizánětlivým účinkem. Kromě toho může trombin snížit uvolňování interleukinu-12 a podporovat zvýšenou produkci interleukinu-10 v monocytech, což navozuje imunosupresivní a protizánětlivou reakci. Trombin může také hrát roli ve vazomotorické regulaci [20]. Endoteliální rozpad trombomodu-

linu během procesu aterogeneze dovoluje trombinu zesílit aterogenní procesy, jako jsou endoteliální dysfunkce, oxidační stres, apoptóza, zánět (zvýšená exprese cytokinů a chemokinů), aktivace krevních destiček a leukocytů, migrace a šíření VSMC a aterogeneze, což opět ukazuje na jeho důležitou roli v patogenezi kardiovaskulárních onemocnění [20]. Trombin, faktor Xa, faktor XIa, faktor IXa a plazmin také vykazují enzymatickou aktivitu při štěpení komplementu C3 a C5 do jejich aktivních forem [21]. Proteiny C3 a C5 indukují zánět a chemotaxi zánětlivých buněk. Podáním specifických inhibitorů trombinu se snižuje výskyt restenózy u králíků s aterosklerózou po provedení angioplastik [22]. Hemostáza působí různými účinky na cévy, a to tím způsobem, že působí na různé regulační orgány, což může nakonec ovlivňovat vlastnosti plátu. Klinické důkazy v tomto ohledu zůstávají nekonzistentní. Určité protrombotické genetické varianty [mutace F V Leiden (1691A), protrombinu (20210A)] jsou spojeny nejen se zvýšeným rizikem žilního tromboembolismu [23], ale i s progresí kardiovaskulárních onemocnění [16]. Klinická data dále ukazují pozitivní souvislost mezi markery generace trombinu a rozvojem aterosklerotického plátu [24].

Faktor VIII

U pacientů s hemofilií nízké hladiny faktoru VIII neprokázaly anti-aterogenní účinky [16], přestože je klinicky prokázáno, že zvýšená hladina faktoru VIII podporuje vznik kardiovaskulárních onemocnění [25]. V plazmě faktor VIII cirkuluje v komplexu s von Willebrandovým faktorem, který ovlivňuje aktivitu faktoru VIII v cirkulaci. Vzhledem k tomu, že myši, které trpí nedostatkem von Willebrandova faktoru, mají výrazně méně aterosklerotických plátů než kontrolní skupina, můžeme se domnívat, že i von Willebrandův faktor hraje důležitou roli v aterosklerotickém procesu. Podobně jako údaje o faktoru VIII a dalších koagulačních

proteázách, nejsou ani klinické údaje o souvislosti mezi von Willebrandovým faktorem a kardiovaskulárními onemocněními konzistentní [26].

Fibrinogen, fibrin a faktor XIII

V řadě provedených klinických studií byly nalezeny velmi silné vztahy mezi zvýšenou hladinou fibrinogenu v plazmě a rizikem kardiovaskulárních onemocnění, což ukazuje, že hyperfibrinogenemie je nezávislý prediktor cévních postižení [27]. Navíc bylo jasné dokumentováno rozložení fibrinogenu v aterosklerotických lézích v průběhu progresu aterogeneze [28]. Z hlediska předčasné aterosklerózy je významné, že zvýšené hladiny fibrinogenu v plazmě úzce souvisí s větší rychlostí kalcifikace a zvýšením tloušťky intimy-media koronárních tepen [29]. Z buněčného a molekulárního hlediska může mít fibrinogen vliv na fenotyp plátu, a to několika odlišnými mechanismy: zvýšením propustnosti endoteliálních buněk, extracelulární akumulací low-density lipoprotein (LDL) cholesterolu a tvorbou pěnových buněk, navozením migrace monocytů a VSMC, zvýšením reaktivity a agregace krevních destiček a zvýšením zánětu [30]. Jsou známy stavy, při kterých je vlivem geneticky podmíněné odchylky změněna struktura fibrinogenu nebo vlivem změn v regulačních genech jeho hladina. Polymorfizmy v genu pro β řetězec fibrinogenu jsou spojovány se zvýšenými hladinami fibrinogenu a koronární chorobou. Zvýšená tvorba izoformy γ řetězce fibrinogenu, který obsahuje přídatné vazebné místo pro trombin a faktor XIII a zvyšuje odolnost fibrinu vůči štěpení plazminem, patří mezi rizikové faktory ICHS. Zvýšené plazmatické hladiny fragmentů D-dimerů jsou také spojeny se zvýšeným zánětem a zvýšeným výskytem kardiovaskulárních onemocnění, a jsou tedy považovány za biomarkery aterosklerózy [31]. Účinek fibrinu degradačních produktů na genotyp cévní stěny není úplně vyjasněn. Výsledky jedné studie ukázaly, že oba fragmenty

D a E mají preventivní vliv na proliferaci VSMC v podmínkách in vitro [32]. Koagulační faktor XIII také souvisí s aterogenezí. Má vliv nejen na přeměnu fibrinových vláken na fibrin, což přispívá k stabilitě vzniklého trombu, ale také zvyšuje funkčnost hyperaktivních dimer-receptorů typu 1 angiotenzinu II, což vede k chronické senzibilizaci cirkulujících monocytů a prohloubení procesu aterosklerózy [33].

Faktor XII

Experimentální data jasně ukázala, že myši s nedostatkem faktoru XII jsou chráněny proti vzniku arteriální trombózy a cévní mozkové příhody [34]. Nicméně data z několika epidemiologických studií, ohledně asociace mezi faktorem XII a rizikem kardiovaskulárních onemocnění, nejsou konzistentní [35]. Přesto však farmakologická inhibice aktivace faktoru XII představuje potenciální terapeutický cíl [36]. Dědičný nedostatek faktoru XII sice není spojen s manifestními poruchami srážlivosti krve nebo jinými patologickými stavy, na molekulární úrovni však ovlivňuje faktor XII další procesy (vazodilataci a propustnost cév) a také indukuje aktivaci komplementu a fibrinolytického systému, většinou přes plazmatický kallikrein-kininový systém. Hladiny tkáňového kallikreinu a plazmatického prekallikreinu jsou spojeny se závažností kardiovaskulárních onemocnění a mají zásadní význam v procesu reparace cév. Vzhledem k prozánětlivé povaze faktoru XII a plazmatického kallikrein-kininového systému, může jejich chronická stimulace podporovat proaterogenní intraarteriální prostředí v delším časovém horizontu [37].

PAI-1

Inhibitor aktivátoru plazminogenu typ 1 (PAI-1) je serinová proteáza, která, po vazbě na vitronektin, představuje jeden z nejvýznamnějších inhibitorů fibrinolytického systému. Je zřejmé, že fibrinolytická aktivita pravděpodobně ovlivňuje progresi atero-

sklerotických lézí. V aterosklerotických plátech byl prokázán zvýšený obsah PAI-1, což může mít vliv i na samotné složení plátů. PAI-1 zpomaluje migraci VSMC inhibicí vazby vitronektinu na integrin [38]. Promotor genu PAI-1 obsahuje 4G/5G inzerční/deleční polymorfismus. Varianta 4G vede ke zvýšenému přepisu genu, a tím dochází k zvýšení PAI-1 proteinu v plazmě (jedinci s 4G/4G genotypem mají hladinu plazmatického PAI-1 o 25 % vyšší než jedinci s 5G/5G genotypem). Přítomnost 4G varianty v promotoru genu PAI-1 zvyšuje riziko vzniku trombózy v případě, že jsou přítomny další rizikové faktory, jako je leidská mutace faktoru V nebo antifosfolipidový syndrom. Jedinci s 4G alelou mají vyšší riziko vzniku koronárních syndromů a infarktu myokardu. Výsledek stanovení polymorfismu PAI-1 genu představuje podstatně spolehlivější metodu než stanovení plazmatické aktivity PAI-1, která může být ovlivněna mnoha faktory.

Antiatrotrombotické složky koagulačního systému

Inhibitor cesty tkáňového faktoru

Inhibitor cesty tkáňového faktoru (TFPI) je široce zastoupen ve zdravých arteriálních cévách a má tendenci být exprimován i v aterosklerotických lézích [39]. Přestože je TFPI exprimován na endoteliálních buňkách, VSMC a makrofázích fibrózního krytu plátu, je také společně lokalizován s tkáňovým faktorem v aterosklerotických lézích a zmírňuje tam jeho aktivitu [40]. Tato zjištění naznačují, že role TFPI není pouze v regulaci prokoagulační aktivity tkáňového faktoru, ale také v oblasti kontroly tkáňovým faktorem indukované proaterogenní signalizace. Podáváním rekombinantního TFPI se snížila úroveň zánětu a výskyt smrti na zvířecím modelu, a to snížením exprese tumor nekrotizujícího faktoru α (TNF- α), chemokinu a myeloperoxidázy [41]. Navíc je TFPI i silným inhibitorem metaloproteinázových matrix, které jsou

považovány za klíčové hráče v procesu destabilizace plátu atherotrombotickými komplikacemi. Snížená exprese TFPI byla spojena se zvýšenou syntézou metaloproteinázových matrix v plátech vulnerabilního charakteru. TFPI potlačuje endoteliální migraci a angiogenezi u myši. Několik dalších studií na zvířatech ukázalo, že TFPI zeslabuje neointimální hyperplazii a vznik stenóz, ale také potlačuje uvolňování proaterogenních destičkových růstových faktorů (BB, CCL2) metaloproteinázových matrix [42]. V souladu s těmito nálezy bylo u myši s deficitem TFPI nalézáno výrazně více aterosklerotických plátů než u kontrolní skupiny myši [43], zatímco se zdá, že nadměrná vaskulární exprese TFPI reguluje lipoproteinovou clearance a dočasně snižuje hladinu cholesterolu v plazmě a také vývoj aterosklerotického plátu. Klinické údaje naznačují, že plazmatický TFPI je markerem endoteliální dysfunkce. Nízké hladiny celkového TFPI jsou asociovány se zvýšeným rizikem atherotrombózy [44].

Protein C, S a trombomodulin

Protein C je kromě svých antikoagulačních vlastností znám i svými projektními vlivy, jako je antiapoptotické a protizánětlivé působení, a stejně tak i svým působením na stabilizaci endoteliální bariéry [45]. Jiné studie ukázaly značný pokles lokální exprese endoteliálního receptoru proteinu C a trombomodulinu u aterosklerotických cév, což svědčí o narušené aktivaci proteinu C, a tudíž i o snížení antiaterogenní odpovědi. Existuje několik mechanismů, jako je zvýšené uvolňování trombomodulinu z nefunkčního endotelu, zvýšené ukládání partikul LDL-cholesterolu a místní zánět v cévní stěně, které mohou být zodpovědné za útlum antikoagulační činnosti proteinu C v aterosklerotickém plátu. Výsledky z různých klinických studií, které zkoumaly vztah mezi trombomodulinem a rozsahem aterosklerotické zátěže, nebyly konzistentní [46]. U opic je progresivní ateroskleróza spojena s poruchou tvorby

aktivovaného proteinu C, zatímco po restrikci aterosklerózy dietou bylo zjištěno, že se zvyšuje antikoagulační odpověď. Myši s heterozygotní formou deficitu proteinu C mají větší fokální arteriální zánět a trombózu, což vede ke zvýšené tvorbě neointimy a lokalizované trombóze [47]. V souladu s těmito závěry i několik dalších klinických studií potvrdilo významný vztah mezi nízkými hladinami cirkulujícího aktivovaného proteinu C a větším rozsahem nebo závažností aterosklerotického postižení.

Protein S, který byl popsán jako faktor propojení procesů hemostázy, zánětu a apoptózy, tvoří komplex s regulátorem komplementového systému C4b-vázajícím proteinem (C4BP), hlavním inhibitorem klasické dráhy komplementu, lokalizovaného na povrchu apoptotických buněk, čímž podporuje fagocytární aktivitu mikrofágů. Je zajímavé, že protein S výrazně zpomaluje expresi scavengerového receptoru typu A mikrofágů a snižuje absorpci LDL-cholesterolu zprostředkovanou tímto receptorem, což vede k snížení intracelulárního obsahu lipidů v mikrofázích [48]. Mimoto hraje protein S roli v ochraně integrity bariéry mezi krví a mozkovou tkání. Ve srovnání s jedinci se stabilní anginou pectoris je exprese proteinu S snížena v aterosklerotických plátech získaných od pacientů s nestabilní anginou pectoris. Dědičný deficit obou proteinů C a S byl spojen se zvýšeným výskytem arteriálních tromboembolických příhod a onemocněním periferních tepen [49].

Annexin V

Annexin V je protein s vysokou afinitou k fosfolipidům, který působí jako účinný inhibitor koagulačních pochodů závislých na fosfolipidech. Je hojně zastoupen v placentě a je významný při udržování její normální funkce. Pravděpodobný mechanismus, kterým může annexin V souviset s kardiovaskulárním onemocněním, je to, že interferuje s fosfolipázou A2 (PLA2), zánětlivým enzymem, který

má zásadní roli při syntéze prostaglandinů a ve vytváření zánětlivých fosfolipidů a lysofosfatidylcholinu. Annexin V se váže na proteoglykany arteriální stěny, což může být důležitý krok v časných stádiích aterogeneze. Rovněž je významné, že annexin V omezuje vazbu LDL-cholesterolu k arteriální stěně, což je další významný mechanismus, jehož prostřednictvím může annexin V snižovat riziko aterotrombózy [50].

Závěr a perspektivy

Hemostáza je anatomicky i funkčně propojena s cévním systémem. Její základní rolí je ochrana cévní integrity a udržování normálního průtoku krve. Shromažďované údaje ukazují i velmi úzký vztah mezi hemostázou a zánětem, což podtrhuje roli obou systémů v mnoha složitých dějích a onemocněních, včetně procesu aterotrombózy. Mnoho studií na zvířecích modelech dokládá, že hemostáza je úzce spjata s procesem aterogeneze a aterotrombózy. V současnosti je tento vztah doložen především na základě experimentálních dat, zatím méně klinickými údaji. Současné pojetí vulnerabilního plátu ukazuje, že opakované mikroruptury plátu, následované subklinickou trombózou, jsou tím kritickým místem v růstu plátu a jeho vulnerabilitě [49]. V souhlasu s těmito nálezy histopatologické studie ukázaly, že 2/3 nálezů koronárních trombóz ve vzorcích získaných od pacientů, kteří zemřeli náhlou smrtí z kardiovaskulárních příčin, byl nález pozdějších stadií maturace plátu, což naznačuje existenci trombů ještě dlouho před případnou rupturou plátu [9]. Kromě toho současné chápání aterotrombózy prošlo významným vývojem, který ukazuje nový význam hemostatického systému. Existuje významný vliv hemostatického procesu ve vztahu k fenotypu aterosklerotické cévní stěny, což pravděpodobně souvisí i se stabilitou aterosklerotického plátu. Antitrombotická terapie s použitím protidestičkové nebo antikoagulační léčby je klíčem k prevenci aterotrombózy v různých

klinických situacích. Metaanalýzy primárních preventivních studií ukázaly, že užívání aspirinu je spojeno se snížením rizika infarktu myokardu přibližně o 30 %, menší dopad je pak ve snížení rizika cévní mozkové příhody [51]. Vedle antiagregačního působení aspirinu může být účinnost podávání tohoto léku podtržena ještě jeho protizánětlivým působením [52]. Také u více selektivní protidestičkové léčby, jakou je léčba klopidogrelem, prasugrelem nebo ticagrelorem, které se zaměřují na receptory destiček, a tím na poruchy jejich aktivace, je i u těchto preparátů popisován protizánětlivý i antiaterosklerotický účinek [53]. Avšak klinické studie s inhibitory krevních destiček v prevenci progresu aterosklerózy konzistentně neprokázaly snížení rozvoje aterosklerotického plátu. Studie s heparinem [54] a antagonisty vitamínu K ukázaly, že krátkodobé užívání těchto léků pravděpodobně nemá významný vliv na chronická onemocnění, včetně aterosklerózy [55]. Navzdory tomu, že dlouhodobé podávání antagonistů vitamínu K nemělo žádné viditelné účinky na angiograficky verifikovanou progresi aterosklerózy u pacientů, kteří podstoupili koronární by-pass, dlouhodobější hodnocení po 3 letech léčby ukázalo významné 35% snížení celkové úmrtnosti ve skupině pacientů léčených warfarinem [56]. Význam role hemostatického systému v procesech aterotrombózy a aterosklerózy u člověka vyžaduje další výzkum. Stávající léky jsou zaměřeny pouze na část z molekul účastnících se hemostázy. Se zavedením nových perorálních antikoagulancií (např. přímých inhibitorů faktoru Xa a trombinu) [57], což jsou malé molekuly, které mají přístup k cévní stěně, bude možné sledovat účinky těchto léků na tvorbu, a zejména na stabilitu aterosklerotického plátu. S ohledem na potenciál hemostatického systému ovlivnit v cévách molekulární a buněčné pochody jsou nezbytně nutné nové vědecké přístupy (např. vyšetřování progresu plátu) k většímu objasnění role

hemostatického systému a cévní stěny v procesu aterotrombózy.

Práce vznikla za podpory grantu IGA MZ ČR NT 11176-5 a MZO VFN 2005.

Literatura

1. Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. *N Engl J Med* 2007; 357: 2482–2494.
2. Furie B, Furie BC. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med* 2008; 359: 938–949.
3. Massberg S, Brand K, Gruner S et al. A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. *J Exp Med* 2002; 196: 887–896.
4. Huo Y, Schober A, Forlow SB et al. Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E. *Nat Med* 2003; 9: 61–67.
5. Gawaz M, Langer H, May AE. Platelets in inflammation and atherogenesis. *J Clin Invest* 2005; 115: 3378–3384.
6. Weber C. Platelets and chemokines in atherosclerosis: partners in crime. *Circ Res* 2005; 96: 612–616.
7. Semple JW, Italiano JE Jr, Freedman J. Platelets and the immune continuum. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 264–274.
8. Borissoff J, Heeneman S, Kiliç E et al. Early atherosclerosis exhibits an enhanced procoagulant state. *Circulation* 2010; 122: 821–830.
9. Kramer MC, Rittersma SZ, de Winter RJ et al. Relationship of thrombus healing to underlying plaque morphology in sudden coronary death. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 122–132.
10. Rosenberg RD, Aird WC. Vascular-bed – specific hemostasis and hypercoagulable states. *N Engl J Med* 1999; 340: 1555–1564.
11. Mackman N. Role of tissue factor in hemostasis, thrombosis, and vascular development. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1015–1022.
12. Annex BH, Denning SM, Channon KM et al. Differential expression of tissue factor protein in directional atherectomy specimens from patients with stable and unstable coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 619–622.
13. Moreno PR, Bernardi VH, López-Cuellar J et al. Macrophages, smooth muscle cells, and tissue factor in unstable angina: implications for cell-mediated thrombogenicity in acute coronary syndromes. *Circulation* 1996; 94: 3090–3097.
14. Ardissino D, Merlini PA, Ariens R et al. Tissue-factor antigen and activity in human coronary atherosclerotic plaques. *Lancet* 1997; 349: 769–771.
15. Monroe DM, Key NS. The tissue Factor-factor VIIa complex: procoagulant activity, regulation, and multitasking. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 1097–1105.
16. Ye Z, Liu EH, Higgins JP et al. Seven hemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66,155 cases and 91,307 controls. *Lancet* 2006; 367: 651–658.
17. Borensztajn K, Peppelenbosch MP, Spek CA. Factor Xa: at the crossroads between coagulation and signaling in physiology and disease. *Trends Mol Med* 2008; 14: 429–440.

18. Thomas AC, Campbell JH. Targeted delivery of heparin and LMWH using a fibrin antibody prevents restenosis. *Atherosclerosis* 2004; 176: 73–81.
19. Coughlin SR. Thrombin signalling and protease-activated receptors. *Nature* 2000; 407: 258–264.
20. Borisoff JJ, Spronk HM, Heeneman S et al. Is thrombin a key player in the "coagulation-atherogenesis" maze? *Cardiovasc Res* 2009; 82: 392–403.
21. Huber-Lang M, Sarma JV, Zetoune FS et al. Generation of C5a in the absence of C3: a new complement activation pathway. *Nat Med* 2006; 12: 682–687.
22. Chen X, Ren S, Ma MG et al. Hirulog-like peptide reduces restenosis and expression of tissue factor and transforming growth factor-beta in carotid artery of atherosclerotic rabbits. *Atherosclerosis* 2008; 169: 31–40.
23. Kvasnicka J. Recommended approach in indications for genetic examination in the diagnosis of thrombophilic states in the vascular system. *Vnitř Lék* 2010; 56: 1251.
24. Di Tullio MR, Homma S, Jin Z et al. Aortic atherosclerosis, hypercoagula, and stroke the APTIS (Aortic Plaque and Risk of Ischemic stroke) study. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52: 855–861.
25. Folsom AR, Wu KK, Rosamond WD et al. Prospective study of hemostatic factors and incidence of coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 1997; 96: 1102–1108.
26. Methia N, André P, Denis CV et al. Localized reduction of atherosclerosis in von Willebrand factor-deficient mice. *Blood* 2001; 98: 1424–1428.
27. Danesh J, Lewington S, Thompson SG et al. Fibrinogen Studies Collaboration. Plasma fibrinogen level and the risk of cardiovascular diseases and non-vascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA* 2005; 294: 1799–1809.
28. Bini A, Fenoglio JJ Jr., Mesa-Tejada R et al. Identification and Distribution of fibrinogen, fibrin, and fibrin(ogen) degradation products in atherosclerosis: use of monoclonal antibodies. *Arteriosclerosis* 1989; 9: 109–121.
29. Green D, Chang C, Kang J et al. Longitudinal assessment of fibrinogen in relation to subclinical cardiovascular disease: the Cardia study. *J Thromb Haemost* 2008; 6: 125–131.
30. de Moerloose P, Boehlen F, Neerman-Arbez M. Fibrinogen and the risk of thrombosis. *Semin Thromb Haemost* 2010; 8: 489–495.
31. Folsom AR. Hemostatic risk factors for atherothrombotic disease: an epidemiologic view. *Thromb Haemost* 2001; 86: 366–373.
32. Zhou D, Yang PY, Zhou B et al. Fibrin D-dimer fragments enhance inflammatory responses in macrophages: role in advancing atherosclerosis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34: 185–190.
33. Abdalla S, Lothar H, Langer A et al. Factor XIIIa transglutaminase crosslink AT1 receptor dimers of monocytes at the onset of atherosclerosis. *Cell* 2004; 119: 343–354.
34. Gailani D, Renné T. Intrinsic pathway of coagulation and arterial thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27: 2507–2513.
35. Zito F, Lowe GD, Rumley A et al. WOSCOPS Study Group West of Scotland Coronary Prevention Study. Association of the factor XII 46C>T polymorphism with risk of coronary heart disease (CHD) in the WOSCOPS study. *Atherosclerosis* 2002; 165: 153–158.
36. Hagedorn I, Schmidbauer S, Pleines I et al. Factor XIIa inhibitor recombinant human albumin Infestin-4 abolishes occlusive arterial thrombus formation without affecting bleeding. *Circulation* 2010; 121: 1510–1517.
37. Stone OA, Richer C, Emanueli C et al. Critical role of tissue kallikrein in vessel formation and maturation: implications for therapeutic revascularization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29: 657–664.
38. Degryse B, Neels JG, Czekay RP et al. The low density lipoprotein receptor-related protein is a mitogenic receptor for plasminogen activator inhibitor-1. *J Biol Chem* 2004; 279: 22595–22604.
39. Crawley J, Lupu F, Westmuckett AD et al. Expression, localization, and activity of tissue factor pathway inhibitor in normal and atherosclerotic human vessels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1362–1373.
40. Badimon JJ, Lettino M, Toschi V et al. Local inhibition of tissue factor reduces the thrombogenicity of disrupted human atherosclerotic plaques: effects of tissue factor pathway inhibitor on plaque thrombogenicity under flow conditions. *Circulation* 1999; 99: 1780–1787.
41. Okajima K. Regulation of inflammatory responses by natural anticoagulants. *Immunol Rev* 2001; 184: 258–274.
42. Zoldhelyi P, Chen ZQ, Shelat HS et al. Local gene transfer of tissue factor pathway inhibitor regulates intimal hyperplasia in atherosclerotic arteries. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 4078–4083.
43. Westrick RJ, Bodary PF, Xu Z et al. Deficiency of tissue factor pathway inhibitor promotes atherosclerosis and thrombosis in mice. *Circulation* 2001; 103: 3044–3046.
44. Blann AD, Amiral JJ, McCollum CN et al. Differences in free and total tissue factor pathway inhibitor, and tissue factor in peripheral artery disease compared to healthy controls. *Atherosclerosis* 2000; 152: 29–34.
45. Mosnier LO, Zlokovic BV, Griffin JH. The cytoprotective protein C pathway. *Blood* 2007; 109: 3161–3172.
46. Waugh JM, Li-Hawkins J, Yuksel E et al. Thrombomodulin overexpression to limit neointima formation. *Circulation* 2000; 102: 332–337.
47. Castellino FJ, Ganopoulos JG, Noria F et al. Focal arterial inflammation is augmented in mice with a deficiency of the protein C gene. *Thromb Haemost* 2006; 96: 794–801.
48. Liao D, Wang Y, Li M et al. Human protein S inhibits the up-take of ACLDL and expression of SR-A through Mer receptor tyrosine kinase in human macrophages. *Blood* 2009; 113: 165–174.
49. Randi AM, Biguzzi E, Falciani F et al. Identification of differentially expressed genes in coronary atherosclerotic plaques from patients with stable or unstable angina by cDNA array analysis. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 829–835.
50. Cederholm A, Svenungsson E, Jensen-Ustad K et al. Decreased binding of annexin V to endothelial cells: a potential mechanism in atherothrombosis of patients with systemic lupus erythematosus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 198–203.
51. Patrono C, García Rodríguez LA, Landolfi R et al. Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis. *N Engl J Med* 2005; 353: 2373–2383.
52. Ferroni P, Martini F, Cardarelli CM et al. Enhanced interleukin-1beta in hypercholesterolemia: effects of simvastatin and low-dose aspirin. *Circulation* 2003; 108: 1673–1675.
53. Muhlestein JB. Effect of antiplatelet therapy on inflammatory markers in atherothrombotic patients. *Thromb Haemost* 2010; 103: 71–82.
54. Kvasnicka J, Horák J, Zenáhlíková Z et al. Reduced thrombin generation and soluble P-selectin after intravenous enoxaparin during PCI. *Cardiovasc Drugs Ther* 2011; 25: 243–250.
55. The Post Coronary Artery Bypass Graft Trial Investigators. The effect of aggressive lowering of low-density lipoprotein cholesterol levels and low-dose anticoagulation on obstructive changes in saphenous vein coronary-artery bypass grafts. *N Engl J Med* 1997; 336: 153–162.
56. Knatterud GL, Rosenberg Y, Campeau L et al. Long-term effects on clinical outcomes of aggressive lowering of low-density lipoprotein cholesterol levels and low-dose anticoagulation in the post coronary artery bypass graft trial. *Post CABG Investigators. Circulation* 2000; 102: 157–165.
57. Schulman S, Kearon C, Kakkar AK et al. RECOVER Study Group. Dabigatran versus warfarin in the treatment of acute venous thromboembolism. *N Engl J Med* 2009; 361: 2342–2352.

doc. MUDr. Tomáš Kvasnicka, CSc.

www.vfn.cz

e-mail: tomas.kvasnicka@vfn.cz

Doručeno do redakce: 8. 6. 2011

Přijato po recenzi: 2. 8. 2011