

Tkáňový faktor a solubilní liganda CD40 u nemocných s akutním koronárním syndromem*

Jan Vojáček, Josef Bis, Jaroslav Dušek, Vladimír Palička**,
Čtírad Andrys***, Miroslav Pecka*, Jaroslav Malý*

I. interní klinika, *II. interní klinika, **Ústav klinické biochemie a diagnostiky,

***Ústav klinické imunologie a alergologie, Lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové, Hradec Králové, Česká republika

Vojáček J, Bis J, Dušek J, Palička V**, Andrys C***, Pecka M*, Malý J* (I. interní klinika, *II. interní klinika, **Ústav klinické biochemie a diagnostiky, ***Ústav klinické imunologie a alergologie, Lékařská fakulta Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice Hradec Králové, Hradec Králové, Česká republika). **Tkáňový faktor a solubilní liganda CD40 u nemocných s akutním koronárním syndromem.** *Cor Vasa* 2007;49(4):152–154.

Byly hodnoceny změny plazmatických koncentrací solubilní ligandy CD40 (sLCD40) a tkáňového faktoru (TF) v koronárním sinu (KS), v ústí věnčité tepny (VT) a periferní žíle u nemocných s akutním koronárním syndromem (skupina A) a se stabilní koronární nemocí (skupina B) a dále byly hodnoceny jejich vzájemné vztahy. Ve skupině A bylo celkem 28 osob (věk $62,6 \pm 10,3$ let, 19 mužů, 9 žen) a ve skupině B 24 nemocných (věk $62,3 \pm 8,1$ let, 21 mužů, 3 ženy). Koncentrace sLCD40 v KS u nemocných ve skupině A byla významně vyšší než u nemocných ve skupině B ($9\,070,5 \pm 4\,539,3$ pg/ml vs. $6\,841,4 \pm 3\,283,8$ pg/ml, $p = 0,026$). Rovněž rozdíl mezi plazmatickou koncentrací sLCD40 v koronárním sinu a v ústí levé věnčité tepny byl významně vyšší u nemocných skupiny A než u osob ve skupině B.

Byla nalezena významná lineární korelace mezi koncentrací TF a sLCD40. Plazmatická koncentrace sLCD40 u nemocných ve skupině A nevýznamně stoupala 7. den ve srovnání se dnem 0.

Klíčová slova: Akutní koronární syndrom – Tkáňový faktor – Solubilní liganda CD40

Vojáček J, Bis J, Dušek J, Palička V**, Andrys C***, Pecka M*, Malý J* (Department of Medicine I, *Department of Medicine II, **Institute of Clinical Biochemistry and Diagnosis, ***Institute of Clinical Immunology and Allergology, Charles University School of Medicine and Hradec Králové University Hospital, Hradec Králové, Czech Republic). **Tissue factor and the soluble ligand CD40 in patients with acute coronary syndrome.** *Cor Vasa* 2007;49(4):152–154.

The plasma levels of tissue factor (TF) and the soluble ligand CD40 (sLCD40) were assessed in the coronary sinus (CS), left coronary artery (LCA), and a peripheral vein (PV) of patients with acute coronary syndrome (Group A) and stable coronary artery disease (Group B). Altogether, 28 subjects (age 62.6 ± 10.3 years, 19 males, 9 females) were included into Group A and 24 patients (age 62.3 ± 8.1 years, 21 males, 3 females) into Group B. The plasma levels of sLCD40 were significantly higher in the CS of patients in Group A as compared to those in group B (9070.5 ± 4539.3 pg/mL vs. 6841.4 ± 3283.8 pg/mL, $p = 0.026$). Also the difference in sLCD40 between CS and LCA was significantly higher in Group A as compared to Group B (Figure 1). A significant linear correlation between the plasma levels of TF and sLCD40 was found (Figure 2). The plasma levels of sLCD40 in Group A showed a trend towards a non-significant increase on Day 7 as compared to Day 0 (Figure 3).

Key words: Acute coronary syndrome – Tissue factor – Soluble ligand CD40

Adresa: prof. MUDr. Jan Vojáček, DrSc., I. interní klinika, LF UK a FN Hradec Králové, Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, Česká republika, e-mail: vojacek@fnhk.cz

V poslední době se výrazně změnily názory na vznik akutního koronárního syndromu. Některé údaje naznačují, že dochází k aktivaci cirkulujících elementů a produkci některých molekul, které by se mohly podílet na mnohočetné aktivaci plátů v koronárním řečišti a na vzniku a propagaci intrakoronární trombózy. V naší práci jsme se zaměřili na stanovení změn plazmatických hodnot solubilní ligandy CD40 (sLCD40), extracelulární matrixové metaloproteinázy 2, 3 a 9 (MMP-2, MMP-3 a MMP-9), tkáňové-

ho inhibitoru metaloproteinázy 2 (TIMP-2), tkáňového faktoru (TF), jeho inhibitoru (TFPI), vysoce senzitivního C-reaktivního proteinu (hs-CRP), von Willebrandova faktoru, tumor necrosis faktoru α a „pregnancy associated plasma protein A“ (PAPP-A) u nemocných s akutním koronárním syndromem a se stabilní koronární nemocí; dále jsme zhodnotili vzájemné vztahy uvedených působků. V tomto sdělení chceme informovat o předběžných výsledcích hodnocení sLCD40 a jejího vztahu k dalším působkům.

*Podporováno grantem IGA MZ ČR NR/8131-3.

SOUBOR NEMOCNÝCH A POUŽITÉ METODY

Do studie byli zařazeni nemocní, kteří podstoupili selektivní koronarografii před plánovanou revaskularizací myokardu. Byli zařazeni do jedné ze dvou skupin: ve skupině A byli nemocní s akutním koronárním syndromem (nemocní s infarktem myokardu nebo s nestabilní anginou pectoris) a ve skupině B nemocní se stabilní ischemickou chorobou srdeční. Nemocní s kardiogenním šokem, maligními arytmiemi nebo s klinickými známkami zánětlivého onemocnění nebyli do studie zařazeni.

Ve skupině A bylo celkem 28 osob (věk $62,6 \pm 10,3$ let, 19 mužů, 9 žen) a ve skupině B 24 nemocných (věk $62,3 \pm 8,1$ let, 21 mužů, 3 ženy). Všichni nemocní zařazení do studie podepsali informovaný souhlas a studie byla schválena etikou komisí.

U všech nemocných byly zaznamenány základní klinické údaje, klidové EKG a bylo provedeno základní biochemické vyšetření. Odběr krve pro stanovení koncentrace sledovaných působků byl proveden nalačno (kromě několika nemocných s akutním infarktem myokardu) na začátku katetrizace. Ve studii byli pouze nemocní, kterým nebyl v posledních 24 hodinách podán heparin (vzhledem k popsanému ovlivnění hodnot některých sledovaných působků heparinem). Před katetrizací bylo nemocným podáno 10 mg diazepam a 4 mg bisulepinu. Amplatzův koronární katetr 5 F nebo 6 F byl zaveden přes pravou stehenní žílu pod skiaskopickou kontrolou do sinus coronarius, byla zde odebrána krev; další odběr byl proveden z ústí levé věnčité tepny a konečně poslední odběr byl proveden z periferní žíly.

Solubilní CD40 liganda

Sérové koncentrace sLCD40 byly stanoveny pomocí komerčně dostupných kitů (sandwich enzyme-linked immunosorbent assay) Quantikine human sCD40 Ligand (R&D Systems, Minnesota, MN, USA). Vzorky byly před měřením skladovány zmrazené na -40°C . Opakované mražení a rozmražení bylo vyloučeno. Všechna měření byla provedena dvojmo.

Tkáňový faktor

Měření sérové koncentrace TF bylo provedeno pomocí ELISA (IMUBIND® Tissue Factor ELISA Kit, American Diagnostica, Inc., Stanford, CA, USA), s využitím murinních monoklonálních protilátek, vážících antigen lidského TF. Vzorky byly před měřením skladovány zmrazené na -40°C . Opakované mražení a rozmražení bylo vyloučeno. Všechna měření byla provedena dvojmo.

Statistická analýza

Statistický rozbor byl proveden pomocí analýzy rozptylu a Studentova *t*-testu pro posouzení rozdílů u kontinuálních proměnných. Korelace byly hodnoceny pomocí lineární regrese. Hodnota $p < 0,05$ byla považována za významnou.

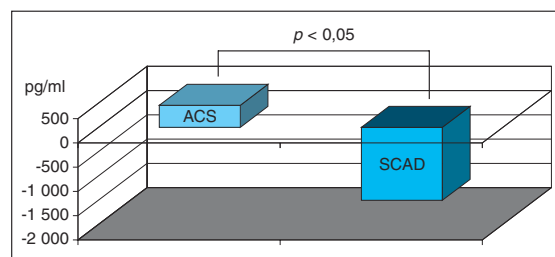
VÝSLEDKY

Koncentrace sLCD40 v sinus coronarius u nemocných skupiny A byla významně vyšší než u nemocných ve skupině B ($9\,070,5 \pm 4\,539,3$ pg/ml vs.

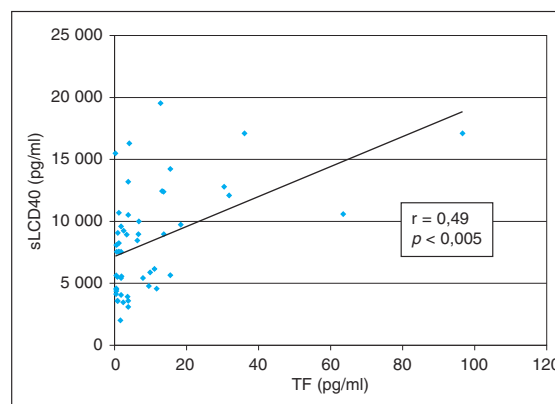
$6\,841,4 \pm 3\,283,8$ pg/ml, $p = 0,026$). Rovněž transmyokardiální produkce sLCD40 (vypočtená jako rozdíl mezi plazmatickou koncentrací v koronárním sinu a koncentrací v ústí levé věnčité tepny) byla významně vyšší u nemocných skupiny A než u osob ve skupině B (obrázek 1).

Byla nalezena významná lineární korelace mezi koncentrací TF a sLCD40 (obrázek 2).

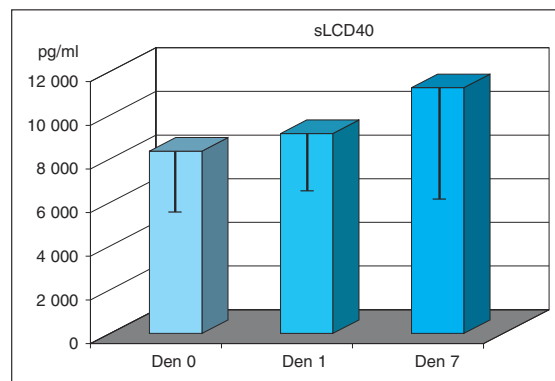
Časový průběh koncentrací sLCD40 u nemocných s akutním koronárním syndromem (AKS) byl sledo-



Obr. 1 Transmyokardiální změny plazmatické koncentrace δ sLCD40 (vypočtené jako rozdíl mezi plazmatickou koncentrací v koronárním sinu /CS/ a koncentrací v ústí levé věnčité tepny – LVT) u nemocných s akutním koronárním syndromem (ACS) a stabilní ischemickou chorobou srdeční (SCAD)



Obr. 2 Vztah mezi plazmatickou koncentrací tkáňového faktoru (TF) a solubilní ligandy CD40 (sLCD40)



Obr. 3 Časový průběh plazmatické koncentrace solubilní ligandy CD40 (sLCD40)

ván odběrem z periferní žíly za jeden den a za sedm dní po hodnocené příhodě. Plazmatická koncentrace sLCD40 nevýznamně stoupla 7. den ve srovnání se dnem 0 (obrázek 3).

DISKUSE

V poslední době je sledována řada biomarkerů ve vztahu ke vzniku akutního koronárního syndromu.⁽¹⁾ Některé biomarkery ukazují na proběhlou ischemii či nekrózu, jiné jsou nespecifickým projevem zánětu a ukazují zvýšené riziko u nemocných s AKS. Některé novější biomarkery jsou odrazem probíhající interakce destiček, leukocytů a monocytů a spíše vyjadřují probíhající proces aktivace destiček v systémové cirkulaci, s rizikem vzniku koronární nestability a akutního koronárního syndromu, než aby jejich zvýšená koncentrace informovala o již proběhlých rupturách koronárních plátů, ischemii či nekróze myokardu.⁽²⁾ Mezi kandidáty biomarkerů, které by mohly informovat o hrozící nestabilitě patří metaloproteinázy, tkáňový faktor či solubilní liganda receptoru CD40.

Aktivované T-lymfocyty v aterosklerotickém plátu exprimují ligandu CD40. Receptor CD40 a liganda CD40 je exprimována též endoteliálními buňkami, buňkami hladké cévní svaloviny a lidskými makrofágy. Interakce receptoru a ligandy CD40 aktivuje procesy vedoucí k expresi metaloproteináz, tkáňového faktoru a některých cytokinů. Během interakce receptoru a ligandy CD40 dochází k odštěpení části LCD40, která může být stanovována jakožto její solubilní frakce, a její zvýšené hodnoty ukazují na probíhající interakci destiček s monocyty a leukocyty. Krevní destičky totiž exprimují ligandu CD40 během vteřin po aktivaci *in vitro* a rovněž *in vivo* během tvorby trombu.⁽³⁻⁷⁾

U nemocných s AKS byly nalézány zvýšené koncentrace sLCD40 a u nemocných se zvýšenou koncentrací sLCD40 byla opakovaně prokazována na jedné straně zhoršená prognóza a na druhé straně možnost ovlivnění některými léky, jako např. blokátory destičkových dihydropyridinových receptorů nebo statiny.⁽⁸⁻¹¹⁾

Zvýšené koncentrace některých biomarkerů (tkáňového faktoru, metaloproteináz, sLCD40) navíc představují spojkou mezi systémově probíhající aktivací cirkulujících elementů a nespecifickými známkami zánětu,⁽¹²⁾ jejichž zvýšení bývá prokazováno u nemocných s AKS a bývá rovněž spojeno se zhoršenou prognózou.

V naší studii jsme se zaměřili na otázku, zda interakce destiček s dalšími cirkulujícími elementy je omezena spíše na koronární cirkulaci či zda probíhá

i systémově. Naše výsledky v tomto směru svědčí spíše pro lokální průběh interakce destiček s monocyty a leukocyty, se vznikem sLCD40 u nemocných s AKS, i když aktivace jiných působků (tkáňový faktor, metaloproteinázy) probíhá systémově.

LITERATURA

1. Vojáček J. Aktivace cirkulujících působků a elementů – klíč k patofyziologii akutního koronárního syndromu. *Cor Vasa* 2005;47:265–7.
2. Freedman JE. CD40 ligand - assessing risk instead of damage? *New Engl J Med* 2003;348:1163–5.
3. Mach F, Schonbeck U, Libby P. CD40 signaling in vascular cells: a key role in atherosclerosis? *Atherosclerosis* 1998;137 Suppl:S89–S95.
4. Bavendiek U, Libby P, Kilbride M, Reynolds R, Mackman N, Schonbeck U. Induction of tissue factor expression in human endothelial cells by CD40 ligand is mediated via activator protein 1, nuclear factor kappa B, and Egr-1. *J Biol Chem* 2002;277:25032–9.
5. Henn V, Slupsky JR, Grafe M, et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature* 1998;391:591–4.
6. May AE, Kalsch T, Massberg S, Herouy Y, Schmidt R, Gawaz M. Engagement of glycoprotein IIb/IIIa (alpha (IIb) beta3) on platelets upregulates CD40L and triggers CD40L-dependent matrix degradation by endothelial cells. *Circulation* 2002;106:2111–7.
7. Inwald DP, McDowall A, Peters MJ, Callard RE, Klein NJ. CD40 is constitutively expressed on platelets and provides a novel mechanism for platelet activation. *Circ Res* 2003;92:1041–8.
8. Aukrust P, Muller F, Ueland T, et al. Enhanced levels of soluble and membrane-bound CD40 ligand in patients with unstable angina. Possible reflection of T lymphocyte and platelet involvement in the pathogenesis of acute coronary syndromes. *Circulation* 1999;100:614–20.
9. Garlichs CD, Eskafi S, Raaz D, et al. Patients with acute coronary syndromes express enhanced CD40 ligand/CD154 on platelets. *Heart* 2001;86:649–55.
10. Varo N, de Lemos JA, Libby P, et al. Soluble CD40L: risk prediction after acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;108:1049–52.
11. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *New Engl J Med* 2003;348:1104–11.
12. Freedman JE, Loscalzo J. Platelet-monocyte aggregates: bridging thrombosis and inflammation. *Circulation* 2002;105:2130–2.

Došlo do redakce 30. 1. 2007

Přijato k otištění 21. 2. 2007