

# Trombocyty a CD40/CD40-ligand-závislá signalizácia v procese aterotrombózy

<sup>1</sup>IVAN VARGA, <sup>2</sup>VILIAM BADA  
Bratislava, Slovenská republika

VARGA I, BADA V. **Trombocyty a CD40/CD40-ligand-závislá signalizácia v procese aterotrombózy.** *Cardiol* 2007;16(4):166–171

Aktivované trombocyty sú dôležitým činiteľom nielen v procese trombózy, ale podieľajú sa priamo aj na progresii systémového aterosklerotického zápalu. Trombocyty disponujú širokou škálou signálnych molekúl, ktorými aktivujú endotelové bunky, leukocyty a stimulujú bunky hladkej svaloviny ciev.

Jedným z prozápalových procesov je expresia receptora CD40 a jeho ligandu CD40L v membráne trombocytov po ich stimulácii rôznymi agonistami. Prostredníctvom týchto molekúl sa trombocyty zapájajú do procesu aterogenézy a aterotrombózy a spolu sa zúčastňujú na bezprostrednom vzniku závažných kardiovaskulárnych komplikácií. Rozpuštná forma CD40L – sCD40L je navyše možným novým prognostickým markerom kardiovaskulárneho rizika.

Pochopenie interakcie CD40/CD40L a nimi sprostredkovanej medzibunkovej signalizácie je možnou cestou na upresnenie miery kardiovaskulárneho rizika, zlepšenie diagnostiky a optimalizáciu liečebných postupov.

**Kľúčové slová:** trombocyty – aterotrombóza – receptor CD40 – CD40-ligand

VARGA I, BADA V. **Thrombocytes and CD40/CD40-ligand dependent signalling in atherothrombosis.** *Cardiol* 2007;16(4):166–171

Activated thrombocytes are important agents involved not only in thrombosis, but which participate also in the progress of systemic atherosclerotic inflammation. Thrombocytes contain a wide range of signal molecules, which activate endothelial cells, leukocytes and stimulate vascular smooth muscle cells.

The expression of receptor CD40 and its ligand CD40L in thrombocyte membranes after their stimulation by various agonists is one of the proinflammatory reactions. Through these molecules thrombocytes are involved in atherogenesis and atherothrombosis and take part in the prompt genesis of serious cardiovascular complications. A soluble form of CD40L – sCD40L – is moreover a possible new prognostic marker of cardiovascular risk.

Understanding of the CD40/CD40L interaction, and thereby induced intercellular signalling, is a potential strategy for elaboration of cardiovascular risk assessment, improving of diagnostics and optimization of therapeutic methods.

**Key words:** Thrombocytes – Atherothrombosis – Receptor CD40 – CD40-ligand

Ischemická choroba srdca sa označuje aj ako koronárna choroba srdca, ktorej príčinou môže byť jediný nestabilný, vulnerabilný aterosklerotický plak v jedinej koronárnej artérii. Takýto nestabilný plak, ktorý sa označuje právnickým termínom páchatel' (culprit), sa stáva podkladom pre vznik obturujúceho trombu, ktorý spôsobuje vznik akútneho infarktu myokardu. Riešením je lokálny zákrok formou perkutánnej koronárnej intervencie – dilatácia postihnutej časti koronárnej artérie, často s následným zavedením stentu. Vzniká tak však dojem, že celé ochorenie sa viaže výlučne na postihnutú koronárnu artériu a zostávajúce artérie sú bez závažnejších známok aterosklerotického postihnutia. Takýto pohľad je zjednodušujúci. Aterotrombóza a samotná ateroskleróza sa v súčasnosti chápu ako systémové zápalové ochorenia, ktoré v rozličnej miere a intenzite postihujú prakticky celé artériové riečisko. Objektívne merateľné známky zápalovej aktivity sú determinujúcim kritériom stability plaku (1).

Súčasný diagnostický prostriedok umožňuje rozpoznať takmer vždy aj ďalšie nestabilné plaky v iných častiach cirkulácie. Jedným spôsobom je intravaskulárne ultrazvukové vyšetrenie (IVUS). Táto metóda je invazívna a ekonomicky náročná. Ruptúru plaku determinuje IVUS morfológicky, podľa nálezu diskontinuity fibróznej čiapočky. Týmto spôsobom sa potvrdilo, že až 80 % pacientov s prvou akútnou koronárnou príhodou má nie jeden, ale súčasne viacero vulnerabilných plakov. Ani jeden z klasických rizikových faktorov (RF) nepôsobí len lokálne, ale pôsobí vždy systémovo, pričom vzájomné pôsobenie RF sa nespočítava, ale potencuje a znásobuje. Spoločným menovateľom pôsobenia RF je tvorba voľných kyslíkových radikálov, ktoré modifikujú medzibunkové reakcie na úrovni cievneho endotelu, hladkej svaloviny ciev a jednotlivých krvných elementov. Dôkazom je prítomnosť niektorých signálnych molekúl HLA-systému (systému histokompatibilných antigénov leukocytov) v rámci imunitnej – zápalovej aktivácie, ktoré bezprostredne odrážajú známky nestability aterómového plaku. Poznanie patofyziologických interakcií môže pomôcť pri definovaní nových markerov nestability a zvýšeného rizika aterotrombotických komplikácií. Stále významnejšiu funkciu v tomto smere zaujímajú trombocyty, ktorých úloha sa neobmedzuje len

Z <sup>1</sup>Oddelenia všeobecnej kardiológie Kardiologickej kliniky NÚSCH v Bratislave a <sup>2</sup>III. internej kliniky LFUK, FNsP Bratislava – Kramáre, Slovenská republika

Do redakcie došlo dňa 21. mája 2007; prijaté dňa 25. júna 2007

**Adresa pre korešpondenciu:** MUDr. Ivan Varga, Račianske myto 1/c, 831 02 Bratislava, e-mail: ivan\_varga@stonline.sk

na vytvorenie trombotického uzáveru po disrupcii nestabilných plakov. Je naopak oveľa komplexnejšia a má jasné črty systémovej zápalovej reakcie.

**Tabuľka 1** Typy a funkcia prozápalových molekúl produkovaných trombocytmi (modifikované podľa 2, 3)

**Table 1** Types and function of proinflammatory molecules produced by thrombocytes (modified according to 2, 3)

Prozápalové molekuly (Proinflammatory molecules)	Zápalová funkcia (Inflammatory function)
Membránové fosfolipidy a produkty TXA <sub>2</sub> , PAF, PECAM-1 (Membrane phospholipids and products)	Zvyšujú produkciu chemotaktických molekúl – chemokínov, podporujú interakciu leukocytov s trombocytmi a endotelovými bunkami (Increase production of chemotactic molecules – chemokines, support leucocyte interaction with thrombocytes and endothelial cells)
Cytokíny IL-1 (Cytokines)	Zvyšujú adhéziu – priľnavosť – endotelu voči leukocytom (Increase adhesion of endothelium to leucocytes)
Chemokíny (Chemokines) RANTES, PF4, β-TG, serotonin (Serotonin), PDGF, histamin (Histamine), MIP-1α a MCP-1	Podporujú chemotaxiu (cieľný pohyb v smere pôsobenia chemokínu) buniek v zápalovom procese (monocyty, polymorfonukleárne leukocyty, lymfocyty), niektoré aj ich diferenciáciu (Support chemotaxis of cells in the inflammatory process – monocytes, polymorphonuclear leucocytes, lymphocytes: some of them also their differentiation)
Adhezívne molekuly (Adhesion molecules) P-selektín (P-selectin), GP IIb/IIIa	Uľahčujú interakciu trombocytov s endotelovými bunkami a tiež leukocytmi, GP IIb/IIIa tiež umožňuje agregáciu trombocytov prostredníctvom fibrinogénových mostíkov medzi dvoma molekulami GP IIb/IIIa navzájom (Facilitate interaction of thrombocytes with endothelial cells and also leucocytes through fibrinogen bindings between two GP IIb/IIIa molecules)
Transmembránové proteíny (Transmembrane proteins) CD40L, AT <sub>1</sub> -receptor	Podporujú expresiu adhezívnych molekúl na povrchu endotelových buniek a trombocytov, CD40L zvyšuje hladinu prozápalových chemokínov (Support adhesion molecules expression on surface of endothelial cells and thrombocytes, CD40L increases level of proinflammatory chemokines)
Lyzozomálne enzýmy (Lysosomal enzymes) katepsín, heparináza a iné (Catepsin, heparinase etc.)	Podporujú zápal a diapedézu buniek cytotoxickou a lytickou aktivitou v zápalom remodelovanom tkanive (Support inflammation and diapedesis of cells through cytotoxic and lytic activity in inflammatory remodelled tissue)
TXA <sub>2</sub> – tromboxán A <sub>2</sub> (Thromboxan A <sub>2</sub> ), PAF – faktor aktivujúci trombocyty (Platelet-activating factor), PECAM-1 – trombocytovo-endotelová adhezívna molekula-1 (Platelet-endothelial adhesion molecule), IL – interleukín (Interleukin), RANTES – chemotaktický polypeptid (Chemotactic polypeptide – Regulation upon Activated Normal T Expressed and presumably Secreted chemokine), PF4 – trombocytový faktor 4 (Platelet factor 4), β-TG – betatromboglobulín (Betathromboglobulin), MIP-1α – makrofágový zápalový proteín (Macrophage inflammatory protein), MCP-1 – chemotaktický proteín monocytov (Monocyte chemoattractant protein), PDGF – rastový faktor odvodený od trombocytov (Platelet derived growth factor), GP – glykoproteín (Glycoprotein), CD – diferenciačný antigén (Cluster of differentiation), AT <sub>1</sub> -receptor – receptor 1 pre angiotenzin II (Receptor 1 for angiotensin II)	

Trombocyty svojimi prozápalovými a rast regulujúcimi vlastnosťami zvyšujú progresiu a destabilizáciu aterosklerotických plakov. Aktivujú endotel, podporujú peroxidáciu lipidov a lipoproteínov, sprostredkujú interakciu leukocytov s endotelovými bunkami a stimulujú proliferáciu hladkých svalových buniek v cievnej stene (2). Trombocyty disponujú širokou škálou prozápalových molekúl, ktorými sú schopné aktivovať ostatné bunky, ktoré sa zúčastňujú aterosklerotického procesu (**tabuľka 1**) (3).

## Súčasný stav problematiky

Za ostatných približne 10 rokov sa čoraz viac prác sústreďuje na problematiku interakcie receptora CD40 a jeho ligandu CD40L. Potvrdil sa totiž ich význam v procese aterosklerózy pri destabilizácii aterosklerotického plaku, navodení protrombotických, respektíve prokoagulačných reakcií a pri rozvoji restenózy (4).

Receptor CD40 je proteín, ktorý patrí do veľkej skupiny receptorov pre TNF (faktor nekrotizujúci nádor). Podobne CD40L je transmembránový proteín zo skupiny TNF-α, ktorý bol pôvodne identifikovaný na bunkách imunitného systému – napríklad CD4<sup>+</sup> T-lymfocytoch. Úloha tohto proteínu v imunitnej odpovedi spočíva vo väzbe na CD40 receptor B-lymfocytov, ktorá následne vyústi do syntézy protilátok (5). Postupne sa prítomnosť receptora CD40 i jeho ligandu dokázala na veľkom počte buniek, čo sa prejavuje aj v komplexnosti nimi sprostredkovaných reakcií (**tabuľka 2**). Ich vzájomná interakcia

**Tabuľka 2** Bunky exprimujúce receptor CD40 a CD40L (modifikované podľa 6, 7)

**Table 2** Cells expressing receptor CD40 and CD40L (modified according to 6, 7)

CD40	CD40L
B- a niektoré T-lymfocyty (CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> ) [B- and some T-lymphocytes (CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> )]	T-lymfocyty (T-lymphocytes)
Bazofilné a eozinofilné granulocyty (Basophil and eosinophil granulocytes)	Bazofilné a eozinofilné granulocyty (Basophil and eosinophil granulocytes)
Monocyty, makrofágy (Monocytes, macrophages)	Žirne bunky (Mastocytes)
Dendritické (Langerhansove) bunky (Dendritic – Langerhans – cells)	Imunocyty, makrofágy (Imunocytes, macrophages)
Epitelové bunky (Epithelial cells)	NK-bunky (prirodzené zabičácké bunky) (NK-cells – natural killers)
Endotelové bunky (Endothelial cells)	Dendritické (Kupfferove) bunky (Dendritic – Kupffer – cells)
Hladké svalové bunky (cievne, bronchiálne) (Smooth muscle cells – vascular, bronchial)	Epitelové bunky (Epithelial cells)
Keratinocyty (Keratinocyte)	Endotelové bunky (Endothelial cells)
Fibroblasty (Fibroblasts)	Hladké svalové bunky (Smooth muscle cells)
Trombocyty (Thrombocytes)	Trombocyty (Thrombocytes)

zvyšuje expresiu adhezívnych molekúl, tvorbu a uvoľňovanie prozápalových mediátorov (cytokínov, chemokínov), rastových faktorov, degradačných enzýmov (metalo-proteináz) a prispieva k rozvoju prokoagulačného stavu. Výsledkom je akcelerácia aterosklerotického procesu vo všetkých jeho fázach – od vzniku iniciálnych lézií až po rozrušenie aterosklerotického plaku a rozvoj trombózy (tabuľka 3) (6).

Henn a spolupracovníci (7) objavili prítomnosť receptora CD40 i jeho ligandu CD40L (spočiatku nazvaného CD154) v membráne i v cytoplazme trombocytov. CD40L je v neaktivovaných trombocytoch v tzv. kryptickej forme a je translokovaný do ich membrány až po ich stimuláciu. Táto membránová forma sa následne počas minút až hodín odbúrava, pričom vzniká rozpustný fragment – tzv. sCD40L, ktorý si zachováva biologickú aktivitu. Po infúzii rekombinantného sCD40L u pokusných zvierat geneticky zbavených CD40L začala normalizácia interakcie CD40/CD40L a následne sa obnovila stabilita trombov prostredníctvom interakcie sCD40L s GP IIb/IIIa. Uvedený jav je dôkazom protrombotického charakteru týchto proteínov (8).

Jestvujú dôkazy, že vyše 95 % sCD40L v systémovej cirkulácii pochádza z trombocytov (9). Po väzbe na zodpovedajúce receptory je trombocytový CD40L schopný indukovať expresiu prozápalových adhezívnych receptorov (napríklad E-selektínu, VCAM-1 – cievnej bunkovo adhezívnej molekuly, ICAM-1 – medzibunkovej adhezívnej molekuly, a pod. endotelovými bunkami), tkanivového faktora (napríklad monocytmi), či uvoľnenie chemokínov (napríklad z makrofágov – MCP-1, IL-6 a IL-8) (5).

Výskumy z ostatných rokov dokazujú, že trombocytový CD40L sa mobilizuje v priebehu akútnych vaskulárnych komplikácií. Ide nielen o akútne koronárne syndrómy, akútne uzávěry periférnych artérií a náhle cievne mozgové príhody, ale aj o liečebné výkony, napríklad perkutánne koronárne intervencie a revaskularizačné

kardiochirurgické zákroky. Navyše zvýšené hladiny sCD40L sú rizikovým faktorom schopným predpovedať ďalšie kardiovaskulárne komplikácie (5). U 130 zdanlivo zdravých žien zo súboru 28 263 sledovaných účastníčok Women's Health Study (10) sa potvrdila významná korelácia najvyšších hodnôt sCD40L (vyše 3,71 ng/ml) s rozvojom vaskulárneho postihnutia (vznik infarktu myokardu, náhlej cievnej mozgovej príhody či úmrtia z kardiovaskulárnych príčin) pri štvorročnom sledovaní. Podobne v skupine 195 pacientov zo štúdie OPUS-TIMI 16 sa zistila korelácia zvýšených hodnôt sCD40L s vysokým rizikom úmrtia alebo reinfarktu myokardu. Hladina sCD40L bola pritom lepším prediktívnym parametrom ako hodnoty C-reaktívneho proteínu či troponínu (cTnI) (11). Zvýšená hladina sCD40L je prognostickým RF predpovedajúcim vznik ďalších vaskulárnych komplikácií. Súčasne pacienti s vyššími hodnotami sCD40L a teda s najvyšším rizikom kardiovaskulárnych komplikácií najlepšie profitujú z intenzívnej antitrombotickej liečby (10).

Okrem indukcie prozápalovej a prokoagulačnej aktivity iných typov buniek je sCD40L schopný aktivovať aj susedné trombocyty. Po väzbe rekombinantného sCD40L na receptor CD40 v membráne trombocytov sa zaznamenali prejavy ich aktivácie – zmena tvaru, expresia P-selektínu a uvoľnenie obsahu intracelulárnych granúl. Väzba CD40 s rekombinantným sCD40L tiež korelovala so zvýšenou adhéziou medzi trombocytmi a leukocytmi. Je vysoko pravdepodobné, že dostatočné koncentrácie sCD40L sú prítomné lokálne v mieste aktívneho zápalového či trombotického procesu (12).

Potvrdený je aj vzťah sCD40L a oxidačného stresu. Oxidačný stres je fenomén, kedy dochádza k zvýšenej tvorbe voľných radikálov, antioxidantná ochrana je nedostatočná a dôsledkom toho vzniká oxidačné poškodenie biologicky významných molekúl (napríklad proteínov), porušenie integrity buniek a orgánov (13). Voľné kyslí-

**Tabuľka 3** Procesy indukované interakciou CD40/CD40L v priebehu aterotrombózy (modifikované podľa 6, 7)

**Table 3** Processes induced by CD40/CD40L interaction in development of atherothrombosis (modified according to 6, 7)

Včasná štádiá aterosklerózy (Early stages of atherosclerosis)	Progresia aterosklerózy (Progression of atherosclerosis)	Rozrušenie plaku a trombóza (Plaque disruption and thrombosis)
Zvýšená adhézia buniek (Increased cell adhesion)	Migrácia a proliferácia hladkých svalových buniek (Migration and proliferation of smooth muscle cells)	Degradácia extracelulárnej matrix (Extracellular matrix degradation)
Modifikácia imunitných reakcií vedených pomocnými T-lymfocytmi (Th) – indukcia Th1 a supresia Th2 riadených reakcií (Modification of immune reactions maintained by T-lymphocytes – induction of Th1 and suppression of Th2 controlled reactions)	Angiogenéza, podpora zväčšovania aterosklerotických lézií (Angiogenesis, support of atherosclerotic lesion extension)	Navodenie prokoagulačného stavu – predovšetkým zvýšením uvoľnenia tkanivového faktora (Induction of procoagulant state – mostly by increased release of tissue factor)
Chemotaxia prozápalových buniek do aterosklerotických plakov (Chemotaxis of proinflammatory cells into atherosclerotic plaques)	Prehĺbovanie zápalovej reakcie (Progress of proinflammatory reaction)	Aktivácia trombocytov a uvoľnenie CD40L do krvného obehu (Thrombocyte activation and CD40L release into circulation)

kové radikály, ktoré vznikajú pri aktivácii CD40/CD40L signalizácie, sú schopné zabrzdiť migráciu endotelových buniek a angiogénu, čo môže prispievať napríklad k vzniku restenózy po intervenčných výkonoch v kardiológii. Predpokladaným mechanizmom je inaktivácia oxidu dusnatého, látky s antiaterogénnym a anti-trombogénnym pôsobením (14). CD40L na povrchu trombocytov po kontakte s endotelovými bunkami tiež indukuje expresiu ich proteolytických enzýmov (napríklad metaloproteináz), ktoré svojou aktivitou prispievajú k destabilizácii aterosklerotických plakov (15). V podmienkach zvýšeného oxidačného stresu, napríklad u fajčiarov, sa taktiež zvyšuje tvorba agregátov trombocytov s monocytmi. Toto zvýšenie súvisí s nárastom receptora CD40 v ich membránach, CD40L a sCD40L. Výskumy naznačili zvýšenú aktivitu CD40/CD40L aj v podmienkach diabetes mellitus a hypercholesterolémie. CD40/CD40L-závislá signalizácia je teda možným kľúčovým priesečníkom zdanlivo nesúrodých priamok tradičných RF v patogeneze aterosklerózy (16).

V podmienkach metabolického syndrómu alebo diabetes mellitus 2. typu (hyperinzulinémie a hyperglykémie) sa zaznamenala zvýšená expresia CD40L na povrchu trombocytov. Podobne to bolo aj v izolovaných podmienkach hyperinzulinémie a hyperglykémie (17). U diabetikov 2. typu sa dokázalo, že uvoľnenie sCD40L trombocytmi priamo koreluje s tvorbou TXA<sub>2</sub> (prozápalovej, proagregačnej a vazokonstrikčnej látky syntetizovanej trombocytovou cyklooxygenázou 1). Nárast sCD40L taktiež súvisel so zvýšenou hladinou izoprostánu 8-iso-PGF<sub>2α</sub> (18). Izoprostány sú špecifické produkty neenzýmovej oxidácie kyseliny arachidónovej, ktoré zvyšujú agregáciu trombocytov u diabetikov po rozličných agonistoch (kolagén a podobne), hoci tieto dosahujú len podprahové hodnoty (19). Nekontrolovaná tvorba superoxidových aniónových radikálov (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) zapríčiňuje deštrukciu vazodilatačnej, antiadhezívnej a antiagregačnej pôsobiaceho oxidu dusnatého (NO) za vzniku nitrózoperoxidového aniónu (ONOO<sup>-</sup>). Ten navodzuje poškodenie endotelových buniek (tzv. endotelovú dysfunkciu) nitráciou a tým inhibíciou syntézy prostacyklínu, ktorá vyústi do: a) poklesu hladiny prostacyklínu (vazodilatačnej a antiagregačnej látky); b) zvýšenej hladiny jej nezmobilizovaného substrátu – prostaglandínu H<sub>2</sub>. Ten aktivuje receptor pre tromboxán A<sub>2</sub> s následným rozvojom nežiaducich reakcií (20). U diabetikov 2. typu došlo tiež po stimulácii glykoproteínu VI (receptor pre kolagén) špecifickou protilátkou k nárastu CD40L v membráne trombocytov, ktorý sa hneď prejavil zvýšenou expresiou adhezívnych molekúl endotelovými bunkami (21). Všeobecne možno konšta-

tovať zvýšenú aktivitu signalizácie CD40/CD40L, respektíve sCD40L u pacientov s diabetes mellitus, pričom je zdokumentovaná dobrá korelácia týchto markerov s glykemickou kompenzáciou (priamoúmerne stúpajú s hladinou glykovaného hemoglobínu a produktmi neskej glykácie) (22).

### **Aké sú terapeutické možnosti vzhľadom na CD40/CD40L signalizáciu?**

Aké sú liečebné možnosti vzhľadom na redukciu prozápalového, protrombotického a restenózu podporujúceho CD40/CD40L pôsobenia? V skupine pacientov s akútnym koronárnym syndrómom bez ST-elevácie a s hladinou sCD40L presahujúcou jeho medián sa potvrdila redukcia rizika infarktu myokardu pri liečbe heparínom s nízkou molekulovou hmotnosťou – dalteparínom (23). Zo štandardných antiagregačných látok sa potvrdil inhibičný účinok kyseliny acetylsalicylovej na uvoľnenie sCD40L trombocytmi, ale len v prípade, ak sa ako induktor ich agregácie použil kolagén. Ten totiž vyžaduje pre svoj efekt syntézu TXA<sub>2</sub>, ktorú blokuje práve kyselina acetylsalicylová. CD40L je tiež stimulatorom expresie cyklooxygenázy 2 a tým syntézy TXA<sub>2</sub> (napríklad v mononukleárných bunkách), čo môže byť podkladom zlyhania liečebného účinku kyseliny acetylsalicylovej (tzv. aspirínovej rezistencie) (24). Antagonisty GP IIb/IIIa (abciximab, tirofiban, eptifibatid) dosiahli inhibíciu uvoľnenia sCD40L, len ak sa použili v dávkach, ktoré mali antiagregačný efekt. Paradoxne pri dávkach nižších ako antiagregačných sa zaznamenala pri ich pôsobení zvýšená hladina sCD40L (25). Inhibičné účinky antagonistov glykoproteínu IIb/IIIa sa potvrdili aj v ďalších prácach, pričom sa dokázal ich protektívny vplyv na CD40L indukovanú aktiváciu endotelových buniek. Z tienopyridínových derivátov blokoval uvoľnenie sCD40L klopidogrel, avšak len ak bol agonistom agregácie trombocytov adenosíndifosfát (9). V štúdiu CAPTURE (10) dokázal abciximab signifikantne redukovať výrazne zvýšené hodnoty sCD40L u pacientov s akútnym koronárnym syndrómom vo zvýšenom riziku úmrtia a nefatálneho infarktu myokardu. Zvýšené hodnoty sCD40L korelovali tiež s väčším počtom novo vzniknutých agregátov trombocytov s monocytmi (10).

U pacientov s hypercholesterolémiou sa potvrdil priamoúmerný vzťah koncentrácie sCD40L s hladinou celkového a LDL cholesterolu. Navyše jestvovala pozitívna súvislosť s aktiváciou trombocytov (dokumentovanou prostredníctvom zvýšenej plazmatickej hladiny P-selektínu a odpadu 11-dehydro-TXB<sub>2</sub> – metabolitu TXA<sub>2</sub>

v moči) a ďalšími parametrami prokoagulačného stavu. Po podaní statínov sa zaznamenala redukcia koncentrácie sCD40L a prokoagulačných faktorov (24). V štúdiu MIRACL (26) eliminovalo skoré nasadenie atorvastatínu u pacientov s akútnym koronárnym syndrómom riziko rekurentných kardiovaskulárnych príhod (úmrtie, nefatálny infarkt myokardu, zastavenie srdcovej činnosti, či zhoršenie anginózných ťažkostí, ktoré vyžaduje rehospitalizáciu). Tento priaznivý efekt nezávisí od hypolipidemického účinku statínov, možno ho skôr pripísať ich tzv. pleiotropnému pôsobeniu. U pacientov s hypercholesterolémiou atorvastatín dokázal priamy antitrombotický vplyv. Inhiboval expresiu trombocytového CD40L a ním navodenú tvorbu trombinu, nezávisle od redukcie hladiny cholesterolu (27).

Význam inhibície signalizácie CD40/CD40L vzhľadom na blokádu účinku angiotenzínu II zatiaľ nemožno považovať za vyriešený. Podštúdiá štúdie EUROPA – PERTINENT potvrdila priaznivé pôsobenie lipofilného inhibítora enzýmu konvertujúceho angiotenzín (ACE) – perindoprilu – na endotelovú dysfunkciu. Zaznamenal sa pokles angiotenzínu II a markerov endotelového poškodenia a súčasne sa zvýšila hladina priaznivo pôsobiaceho bradykinínu. Znížila sa koncentrácia TNF- $\alpha$  a ako je uvedené v úvode tejto práce, CD40 je transmembránový proteín práve zo skupiny TNF- $\alpha$  (28). Pokles hladiny sCD40L, ako aj ďalších trombogénnych parametrov (rozpuštný variant P-selektínu, tkanivový faktor), sa dosiahol u pacientov s diabetes mellitus 2. typu pri liečbe, ktorej štandardnou súčasťou bol ACE inhibítor (29). Pre diabetikov 2. typu je dôležitá redukcia koncentrácie sCD40L pri užívaní tiazolidíndiónov (glitazónov). Troglitazón, predovšetkým rozigitazón, znížili signifikantne hladinu sCD40L, čo je zrejme dôsledok ich možných protizápalových a antiaterogénnych vlastností (30).

## Záver

Využitie monitoringu interakcie CD40/CD40L a najmä stanovovanie sCD40L nie je doposiaľ súčasťou rutínnej diagnostickej praxe. Potrebné sú ďalšie presvedčivé výsledky z veľkých randomizovaných štúdií. Objav a postupné objasňovanie významu tejto medzibunkovej signalizácie sa však už teraz stáva perspektívnym spôsobom posudzovania stupňa zápalovej aktivity, prítomnosti známok nestability aterómového plaku a tým prognózy aterosklerotického procesu. Upresnenie miery rizika vzniku život ohrozujúcich aterotrombotických komplikácií

nám pomôže iste definovať účinnejšie antiaterogénne a antitrombotické liečebné postupy.

V súčasnosti možno určiť prítomnosť receptora CD40 na povrchu buniek prietokovou cytometriou s využitím monoklonálnych protilátok. Hladinu sCD40L v plazme stanovujeme enzymoimunoanalytickými metódami pomocou komerčne dostupných diagnostických setov (výrobca – spoločnosť Bender MedSystems®, distribútor v Slovenskej Republike – PROPHARMA, s. r. o.).

## Literatúra

- Galajda P, Mokáň M. Imunitný a hemostatický systém v patogenéze metabolického syndrómu a aterosklerózy. *Ateroskleróza* 2003;7:S17–S21.
- Gresele P, Page C, Fuster V, et al. Platelets in thrombotic and non-thrombotic disorders. Cambridge: Cambridge University Press 2002:1101.
- Granger DN, Vowinkel T, Petnehazy T. Modulation of the inflammatory response in cardiovascular disease. *Hypertension* 2004;43:924–931.
- Aukrust P, Waehre T, Damas JT, et al. Inflammatory role of platelets in acute coronary syndromes. *Heart* 2001;86:605–606.
- Andre P, Nannizzi-Alamo L, Prasad, SK, et al. Platelet-derived CD40L. The switch-hitting player of cardiovascular disease. *Circulation* 2002;106:896–899.
- Schonbeck U, Libby P. CD40 signaling and plaque instability. *Circ Res* 2001;89:1092–1103.
- Henn V, Steinbach S, Buchner K, et al. The inflammatory action of CD40 ligand (CD154) expressed on activated human platelets is temporally limited by coexpressed CD40. *Blood* 2001;98:1047–1054.
- Andre P, Prasad SK, Denis CV, et al. CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta-3 integrin-dependent mechanism. *Nat Med* 2002;8:247–252.
- Aukrust P, Damas JK, Solum NO. Soluble CD40 ligand and platelets: self-perpetuating pathogenic loop in thrombosis and inflammation. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:2326–2328.
- Heeschen Ch, Dimmeler S, Hamm ChW for the CAPTURE study investigators. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2003;348:1104–1111.
- Varo N, de Lemos JA, Libby P, et al. Soluble CD40L. Risk prediction after acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;108:1049–1052.
- Inwald DP, McDowall A, Peters MJ, et al. CD40 is constitutively expressed on platelets and provides a novel mechanism for platelet activation. *Circ Res* 2003;92:1041–1048.
- Đuračková Z. Volné radikály a antioxidanty v medicíne (I). Bratislava: SAP 1998:285.
- Urbich C, Dernbach E, Aicher A, et al. CD40 ligand inhibits endothelial cell migration by increasing production of endothelial reactive oxygen species. *Circulation* 2002;106:981–986.

- 
15. May AE, Kalsch T, Massberg S, et al. Engagement of glycoprotein IIb/IIIa ( $\alpha_{IIb}\beta_3$ ) on platelets upregulates CD40L and triggers CD40L-dependent matrix degradation by endothelial cells. *Circulation* 2002;106:2111–2117.
  16. Harding SA, Sarma J, Josephs DH, et al. Upregulation of the CD40/CD40 ligand dyad and platelet-monocyte aggregation in cigarette smokers. *Circulation* 2004;109:1926–1929.
  17. Vajdyla VR, Rao AK, Mozzoli M, et al. Effects of hyperglycemia and hyperinsulinemia on circulating tissue factor procoagulant activity and platelet CD40 ligand. *Diabetes* 2006;55:202–208.
  18. Santilli F, Davi G, Consoli A, et al. Thromboxane-dependent CD40 ligand release in type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:391–397.
  19. Varga I. Oxidačný stres – proagregačný faktor u pacientov s diabetes mellitus 2. typu. *Ateroskleróza* 2006;10:37–40.
  20. Davis B, Zou M-H. CD40 ligand-dependent tyrosine nitration of prostacyclin synthase in vivo. *Circulation* 2005;112:2184–2192.
  21. Cabeza N, Li Z, Schulz C, et al. Surface expression of collagen receptor Fc receptor- $\gamma$ /glycoprotein VI is enhanced on platelets in type 2 diabetes and mediates release of CD40 ligand and activation of endothelial cells. *Diabetes* 2004;53:2117–2121.
  22. Jinchuan Y, Zonggui W, Jinming C, et al. Upregulation of CD40-CD40 ligand system in patients with diabetes mellitus. *Clin Chim Acta* 2004;339:85–90 (abstract).
  23. Malarstig A, Lindahl B, Wallentin L, et al. Soluble CD40L levels are regulated by the –3459 A>G polymorphism and predict myocardial infarction and the efficacy of antithrombotic treatment in non-ST elevation acute coronary syndromes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1667–1673.
  24. Cippolone F, Mezzetti A, Porreca E, et al. Association between enhanced soluble CD40L and prothrombotic state in hypercholesterolemia: effects of statin therapy. *Circulation* 2002;106:399–402.
  25. Nannizzi-Alaimo L, Alves VL, Phillips DR. Inhibitory effects of glycoprotein IIb/IIIa antagonists and aspirin on the release of soluble CD40 ligand during platelet stimulation. *Circulation* 2003;107:1123–1128.
  26. Kinlay S, Schwartz GG, Olsson AG, et al. Effects of atorvastatin on risk of recurrent cardiovascular events after an acute coronary syndrome associated with high soluble CD40 ligand in the Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering (MIRACL) study. *Circulation* 2004;110:386–391.
  27. Sanguigni V, Pignatelli P, Lenti L, et al. Short-term treatment with atorvastatin reduces platelet CD40 ligand and thrombin generation in hypercholesterolemic patients. *Circulation* 2005;111:412–419.
  28. Ceconi C, Fox KM, Remme WJ, et al. on behalf of the EUROPA Investigators; on behalf of the PERTINENT Investigators and the Statistical Committee. ACE inhibition with perindopril and the endothelial function. Results of a substudy of the EUROPA study: PERTINENT. *Cardiovasc Res* 2006;10:Accepted manuscript.
  29. Lim HS, Blann AD, Lip GY. Soluble CD40 ligand, soluble P-selectin, interleukin-6, and tissue factor in diabetes mellitus: relationships to cardiovascular disease and risk factor intervention. *Circulation* 2004;109: 2524–2528.
  30. Varo N, Vicent D, Libby P, et al. Elevated plasma levels of the atherogenic mediator soluble CD40 ligand in diabetic patients: a novel target of thiazolidinediones. *Circulation* 2003;107:2664–2669.