

## Hemostáza

Hemostáza je proces bránící tvorbou krevní sraženiny krevním ztrátám. Jedná se o velmi dynamický a komplexní mnohastupňový proces, který je přísně regulován. Jeho základními složkami je aktivace koagulační kaskády, kdy dochází k aktivaci faktorů koagulační kaskády kolující v inaktivní podobě (zymogeny) v krvi a aktivace destičkových funkcí. Aby organismus předešel úplnému uzavření cévy vznikajícím trombem a periferní ischemizaci, je spolu s aktivací koagulace spuštěn antikoagulační systém. Tyto jemně regulované systémy se vzájemně výrazně ovlivňují a jejich výsledná rovnováha vede k vzniku trombu, bránícího krevním ztrátám a zároveň zachovávající průtok cévou.

### Reakce na poškození cévy

Poškození cévy je následováno její konstrikcí - jednak v reakci na vlastní mechanický inzult a jednak pod vlivem vasokonstrikčních látek uvolněných aktivovanými trombocyty. Vasokonstrikce některých cév může být tak výrazná, že může na určitou dobu úplně zastavit krvácení. Příkladem může být například a. radialis. V místě poškození cévy adherují trombocyty. Dochází k jejich aktivaci a vystavení receptorů pro fibrin. Navázáním fibrinu na receptory IIb/IIIa dochází k zasíťování trombocytů, tedy jejich agregaci a vzniku bílého trombu. Červený trombus vzniká zachycením erytrocytů v síti destiček a fibrinu bílého trombu.

### Od poškození cévy k aktivaci destičky

Céva je vystlaná endotelem, nasedajícím na subendoteliální kolagen a tvořícím nesmáčivý vnitřní povrch. Ve zdravé cévě tedy fyziologicky nedochází k adhezi trombocytů na cévní povrch. Endotel ale není jen pasivní výstelka cévy, naopak jedná se o velmi aktivní tkáň produkující velké množství lokálně působících působků (parakrinie). Jeden z těchto působků je von Willebrandův faktor (vWF), který je uvolňován z poškozených endotelií a váže se na odhalený subendoteliální kolagen. K odhalení subendoteliálního kolagenu dochází právě poškozením a zánikem endotelií. K vWF se váže trombocyt přes Ib receptor a tato vazba jej aktivuje.

### Aktivace destičky

Trombocyty jsou fragmenty cytoplasmy megakaryocytů a mají tři základní funkce – adheze, aktivace a agregace. Adheze trombocytu k subendoteliálnímu kolagenu dochází reakcí Ib receptoru s vWF, což je jedna z možných cest aktivace trombocytů. Další cesty aktivace destiček jsou humorální, tedy pod vlivem hormonů. Jejich účinek je zprostředkován receptory asociovanými s G proteiny, jejichž podjednotka  $G_i$  (inhibiční) a  $G_s$  (stimulační) ovlivňuje činnost adenylátcyklázy, zatímco podjednotka  $G_q$  stimuluje aktivitu fosfolipázy C. Fosfolipáza C je enzym štěpící fosfolipid fosfatidyl-inositoldifosfát (PIP<sub>2</sub>) na diacylglycerol (DAG) a inositoltrifosfát (IP<sub>3</sub>). DAG zůstává součástí cytoplasmatické membrány a spouští vlastní intracytoplasmatickou kaskádu, zatímco IP<sub>3</sub> je z cytoplasmatické membrány uvolňován do cytoplasmy a zde ovlivňuje endoplasmatické retikulum. Vede k uvolnění vnitřních zásob  $Ca^{2+}$  ze sarkoplasmatického retikula a toto uvolnění  $Ca^{2+}$  vede k rychlému zvýšení intracelulární koncentrace  $Ca^{2+}$  a k aktivaci trombocytu. Adenylátcykláza je intracytoplasmatický enzym katalyzující přeměnu ATP (adenosintrifosfát) na cAMP (cyklický adenosinmonofosfát), který naopak ve vyšší koncentraci aktivuje protein kinázu A (PKA). PKA je enzym, který fosforylací inhibuje uvolnění  $Ca^{2+}$  iontů z cytoplasmatického retikula. cAMP je rozkládán fosfodiesterázou na adenosin a fosfát.

Aktivace destičky je podmíněna zvýšením intracelulární koncentrace  $Ca^{2+}$ , vedoucí k vystavení receptoru IIb/IIIa na povrchu trombocytu, translokaci fosfatidylserinu z vnitřní vrstvy fosfolipidové membrány do vnější vrstvy a uvolnění destičkových granul. Obsahem granul jsou TXA<sub>2</sub> (tromboxan A<sub>2</sub>), vznikající z kyseliny arachidonové reakcí katalyzovanou COX<sub>2</sub> (cyklooxygenázou 2), PGE<sub>2</sub>

(prostaglandin E2), trombin, vWF a serotonin. TXA2 a serotonin kromě aktivace dalších destiček stimulují vazokonstrikci snižující další krvácení. Trombin podporuje eskalaci koagulační kaskády.

Nicméně trombin (aktivovaný faktor II) je také nejsilnější aktivátor destiček, mimo jeho účasti v koagulační kaskádě. Receptor trombinu je asociovaný s Gq proteinem, stejně jako receptory pro ADP a TXA2. Důležitá je také aktivace receptoru Ib vazbou s vWF spouštějící aktivaci Gq proteinu.

Mezi receptory asociované s Gs řadíme receptor pro PGI2 a PGD2 – prostaglandiny produkované zdravým endotelem cévy. Kromě bránění aktivace trombocytů způsobují také vasodilataci cév. Dalším receptorem asociovaným s Gs je receptor pro adenosin (A) – lokálně aktivní terminální metabolit ATP, který je uvolňovaný z buněk při ischemii a stejně jako PGI2 a PGD2 způsobuje vazokonstrikci. Inhibici adenylátcyklázy Gi proteinem spouští aktivace receptoru  $\alpha_2$  (adrenergní receptor sympatiku). S tímto typem G proteinu je asociovaný také receptor pro PGE2.

### Koagulační kaskáda

Koagulační kaskáda je postupná aktivace neaktivních proteinů vznikajících v játrech a volně kolujících v krvi. Celá tato kaskádovitá reakce probíhá na povrchu aktivované destičky. Takzvané K-dependentní koagulační faktory jsou skupina proteinů, pro jejichž plnohodnotnou funkci je potřeba vitamín K, fungující v játrech jako kofaktor karboxylace těchto proteinů. Hypovitaminóza vede tedy k poruše krevního srážení a zvýšené krvácivosti. Mezi K-dependentní koagulační faktory řadíme protrombin, prokonvertin, Christmas faktor, Stuart-Proverové faktor (II., VII., IX., X.), protein C a protein S. Aktivace koagulační kaskády je možná vnitřní a vnější cestou, které se spojují aktivací faktoru X.

**Vnější cesta aktivace** je spuštěna odhalením faktoru III (tkáňový faktor neboli tromboplastin), což je protein nacházející se na povrchu subendoteliálních tkání. Jedná se o receptor pro faktor VII (prokonvertin), který aktivuje na VIIa (konvertin). Tkáňový faktor, konvertin, fosfatidylserin destiček a faktor IV ( $\text{Ca}^{2+}$  ionty) vytvářejí komplex aktivující faktor X (Stuart-Proverové faktor) na faktor Xa.

**Vnitřní cesta aktivace** je spuštěna aktivací faktoru XII (Hagemanův faktor) kontaktem se smáčivým nebo negativně nabitým povrchem (například prasklý aterosklerotický plát) na faktor XIIa. Tato reakce je katalyzována vysokomolekulárním kininogenem a kalikreinem. Faktor XIIa aktivuje faktor XI (PTA = plasma tromboplastin antecedent) na faktor XIa. Faktor XIa štěpí faktor IX (Christmas faktor) na faktor IXa. Faktor IXa aktivuje faktor VIII (antihemolytický faktor A) na faktor VIIIa. Aktivované faktory VIIIa a IXa spolu s fosfatidylserinem destiček a  $\text{Ca}^{2+}$  ionty vytvářejí komplex zvaný tenása. Tenásový komplex štěpí faktor X (Stuart-Proverové faktor) na faktor Xa.

Aktivovaný faktor Xa štěpí faktor V (proakcelerin) na faktor Va (akcelerin). Aktivované faktory Xa a Va spolu s fosfatidylserinem destiček a  $\text{Ca}^{2+}$  ionty vytváří protrombinásový komplex štěpící faktor II (protrombin) na trombin (faktor IIa). Trombin je serinová proteáza štěpící faktory XI a X – takto vytváří **pozitivní zpětnou vazbu**, vedoucí k eskalaci kaskády a vytvoření dostatečného množství fibrinu. Fibrin monomer (faktor Ia) vzniká rozštěpením fibrinogenu (faktor I) trombinem. Monomerní fibrin se váže na receptor IIb/IIIa na povrchu aktivovaných destiček a pod vlivem aktivovaného faktoru XIIIa dochází k jeho polymeraci. Faktor XIIIa vzniká také pod vlivem trombinu z faktoru XIII (faktor stabilizující fibrin).

Výsledkem aktivace koagulační kaskády je dostatečné množství fibrinu k zesíťování adherovaných destiček a **vzniku bílého trombu**. Izolovaná aktivace jedné cesty koagulační kaskády probíhá pouze in vitro. In vivo dochází k aktivaci obou cest. Jak bylo zmíněno již výše, **červený trombus** vzniká z bílého trombu zachycením erytrocytů do sítě fibrinových vláken.

## Inhibice koagulační kaskády

Protisrážlivé mechanismy inhibující koagulační kaskádu se zapojují do její jemné regulace a brání její přemrštěné aktivaci. Řadíme zde tři látky – TFPI (tissue factor pathway inhibitor), antitrombin III a protein C a S. TFPI je protein volně cirkulující v plasmě a inhibující komplex tkáňového faktoru s VIIa,  $Ca^{2+}$  ionty a fosfatidylserinem trombocytů. Kromě tohoto komplexu inhibuje TFPI i aktivovaný faktor Xa.

Antitrombin III je SERPIN, tedy inhibitor serinových proteáz. Již samotný má určitou aktivitu, kterou až 1000krát zvyšuje vazba heparinu nebo heparansulfátu, který se fyziologicky vyskytuje na povrchu endotelií jako součást glykokalyx. Antitrombin III tedy inhibuje všechny serinové proteázy – XIIa, XIa, IXa, Xa, IIa.

Další z důkazů, že endotel není jen pasivní výstelka cévy je jeho schopnost regulovat vznik trombu a koagulační kaskádu vystavením trombomodulinu na svůj povrch. Tento protein váže protein C, který běžně volně cirkuluje v oběhu. K vznikajícímu komplexu se připojí i protein S, který je stejně jako protein C je K-dependentní a aktivuje protein C. Aktivovaný protein C štěpí aktivované koagulační faktory VIIIa a Va, a tím inhibuje funkci tenásového a protrombinásového komplexu.

## Fibrinolýza

Jak bylo naznačeno v úvodu, nově vznikající trombus je fibrinolýzou již v průběhu jeho vzniku destruován. Tato destrukce brání úplnému uzavření cévy trombem. Aktivní složkou fibrinolytického systému je **plazmin**, enzym štěpící fibrinová vlákna za vzniku fibrinových degradačních produktů, mezi které patří **D-dimery**. Plazmin vzniká štěpením jeho zymogenu, **plazminogenu**. Tato reakce je aktivována **tkáňovým aktivátorem plazminogenu (tPA)** uvolňujícího se z endotelu při jeho poškození spolu s vWF. Aktivovat plazminogen může i uPA (urokinasový aktivátor plazminogenu). Nicméně jeho hlavní funkce v organismu není stále objasněna. Metabolit uPA, urokináza je vylučován močí a je schopná také aktivovat plazminogen.

Stejně jako koagulační kaskáda i fibrinolýza je regulována inhibitory fibrinolýzy. PAI-1 (plazminogen aktivátor inhibitor – 1) je protein produkovaný endoteliemi inhibující tkáňový aktivátor plazminogenu. Aktivní plazmin je ve své funkci rozkládání fibrinového koagula inhibován  $\alpha 2$  antiplazminem.

Jak je zjevné, jedná se o velmi komplexní a složitý systém spojený s řadou patologických stavů, stejně jako řadou možností farmakologického zásahu. Hlavně proto je tento systém popsán velmi detailně.

Přeji mnoho úspěchů ve studiu!

Michal Hendrych