

P-selektin - nový protein v hemostáze

RNDr. Ingrid Hrachovinová

ABSTRAKT

P-selektin je znám jako adhezivní glykoprotein se vztahem k zánětlivé reakci organismu. První práce o možném vztahu P-selektinu ke krevnímu srážení byly publikovány v polovině devadesátých let. Popisovaly pokusy, kde inhibující protilátky P-selektinu způsobily blokování vzniku fibrinu a potlačily růst krevních sraženin. Bylo prokázáno, že P-selektin zvyšoval expresi tkáňového faktoru (TF) na monocytech. K potvrzení úlohy P-selektinu v hemostáze také přispělo naše zjištění, že nadprodukce solubilního P-selektinu (sP-sel) vede k hyperkoagulačnímu stavu krevní plazmy. Ve své disertační práci jsem se zabývala patofyziologií sP-sel a funkcí mikroparticulí s navázaným TF.

Podrobnou studii účinku sP-sel jsme zjistili, že za hyperkoagulační stav plazmy jsou zodpovědné prokoagulační mikroparticule (MPs), z nichž část nese na svém povrchu TF. Potvrdili jsme, že nedávno popsáný „blood-borne TF“, tj. cirkulující aktivní TF, může být indukován sP-sel. Produkce MPs byla potlačena „inhibující“ protilátkou proti PSGL-1, což je transmembránový receptor P-selektinu přítomný na monocytech a granulocytech. Tím jsem prokázala, že MPs se rekrutují z monocytárních buněk při vazbě P-selektinu na receptor PSGL-1. Zjištěných skutečností, že sP-sel produkuje MPs, jsem využila u pokusů, které měly zvrátit krvácivé projevy u transgenních zvířat s defektním genem pro FVIII. Po intravenózní aplikaci sP-sel došlo u myši s hemofilií A k významnému zkrácení krvácivosti ve srovnání s kontrolami. Výrazně se také zkrátil čas srážení plné krve. *In vitro* pokusy s krví pacientů s těžkou formou hemofilie A prokázaly významné zvýšení množství MPs a aktivity TF. Sledovala jsem také, co se děje s MPs, které vznikly působením sP-sel. Mikroparticule, které jsem separovala z krve myši, jsem obarvila fluorescenčním barvivem a injikovala *i.v.* Označené MPs se okamžitě inkorporovaly do rostoucího trombu, který byl uměle indukován v mikrocirkulaci *m.cremaster* myši.

Přetrvávající zvýšená koncentrace sP-sel byla prokázána u pacientů s kardiovaskulárním onemocněním. Proto jsem se také zabývala kvantifikací MPs a TF u pacientů s koronárním syndromem. Ve studii bylo prokázáno významně nižší množství MPs a aktivity TF u pacientů s akutním stavem koronárního syndromu ve srovnání s nemocnými ve stabilním stavu, nebo s jinou kardiovaskulární poruchou. Výsledek výrazně koreloval s dřívějším poznatkem, že MPs se rychle inkorporují do míst, kde vznikají destičkové agregáty, které jsou velmi časté u akutního koronárního syndromu

Výsledky mé disertační práce přispěly k vysvětlení funkce sP-sel v hemostáze a staly se podkladem dalších studií, které na ni navázaly a vysvětlily intracelulární mechanismus vzniku monocytárních MPs působením P-selektinu.