

**Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové**



**Metabolická odezva na akutní koronární syndrom se zaměřením na
tkáňový faktor, metaloproteinázy a solubilní ligady CD40**

Josef Bis

Autoreferát disertační práce

Doktorský studijní program *vnitřní nemoci*

Hradec Králové

2011

Disertační práce byla vypracována v rámci distančního studia doktorského studijního programu vnitřní nemoci Katedře interních oborů Lékařské fakulty UK v Hradci Králové.

Autor: MUDr. Josef Bis
1. interní klinika Lékařské fakulty UK v Praze a Fakultní nemocnice
Hradec Králové

Školitel: Prof. MUDr. Jan Vojáček, DrSc.
1. interní klinika Lékařské fakulty UK a Fakultní nemocnice,
Hradec Králové

Školitel konzultant: Prof. MUDr. Zdeněk Zadák, DrSc.
Klinika gerontologická a metabolická Lékařské fakulty UK a Fakultní
nemocnice, Hradec Králové

Oponenti: Prof. MUDr. Jiří Vítovec, CSc.
1. interní kardiologická klinika, Fakultní nemocnice u Svaté
Anny, Brno
Doc. MUDr. Martin Mates, CSc.
Nemocnice na Homolce, Praha

*Obhajoba se bude konat dne 21.12.2011 od 14:30 h před Komisí pro obhajoby disertačních
prací OR Vnitřní nemoci*

Tato práce vznikla za podpory grantu IGA MZČR NR 9176-3.

S disertační prací je možno se seznámit na studijním oddělení děkanátu Lékařské fakulty
v Hradci Králové, Univerzity Karlovy v Praze, Šimkova 870, 500 38 Hradec Králové (tel.
495 816 131).

Prof. MUDr. Jan Bureš, CSc.
Předseda komise pro obhajoby disertačních prací
v doktorském studijním programu vnitřní nemoci

1. Obsah.....	3
2. Souhrn	4
3. Summary	Chyba! Záložka není definována.
4. Úvod do problematiky.....	6
4.1. Základní patogenetické děje akutního koronárního syndromu.....	6
4.2. Koronární ateroskleróza	6
4.3. Aterotrombóza	6
4.4. Tkáňové metaloproteinázy	7
4.5. Tkáňový faktor (TF)	7
4.6. Inhibitor tkáňového faktoru (TFPI)	7
4.7. Solubilní ligand CD40 (sCD40L).....	8
5. Cíle disertační práce	8
6. Materiál a metodika.....	8
6.1. Soubor pacientů	8
6.2. Kriteria zařazení do studie.....	8
6.3. Postup odběru vzorků a jejich zpracování	9
6.3.1. Odběr vzorků.....	9
6.3.2. Zpracování vzorků po odběru	9
6.4. Metody užití ke stanovení plasmatických hladin.....	9
6.5. Statistické zpracování výsledků.....	9
7. Výsledky.....	10
7.1. Demografické složení a klinická charakteristika souboru	10
7.2. Tkáňový faktor	10
7.3. Inhibitor tkáňového faktoru	11
7.4. Metaloproteináza 2 a 3	11
7.5. Metaloproteináza 9	11
7.6. Inhibitor tkáňových metaloproteináz-2	12
7.7. Vysoce senzitivní CRP	12
7.8. Solubilní ligand CD40	13
7.9. Korelační výsledky	14
8. Diskuse	16
8.1. Metaloproteinázy	18
8.2. sCD40L.....	19
9. Závěry.....	20
10. Použitá literatura	20
11. Přehled publikační činnosti	26

2. Souhrn

Úvod:

Příčinou akutního koronárního syndromu je ruptura nestabilního plátu, patogeneza je komplexní a předpokládá souběh řady mechanismů, a to složení plátu a nebo nerovnováhu trombotické aktivity krve.

Cíle:

Hlavním cílem práce bylo posouzení lokálních plasmatických hladin tkáňového faktoru (TF), inhibitoru tkáňového faktoru (TFPI), tkáňových metaloproteináz (MMP-2, 3 a 9) a inhibitoru tkáňových metaloproteináz-2 (TIMP-2), vysoce selektivního CRP (hsCRP) a solubilního ligandu CD40 (sCD40L) u pacientů s akutním koronárním syndromem, se stabilní anginou pectoris v systémové cirkulaci, v koronárním sinu a stanovit časový průběh hladin u pacientů s akutním koronárním syndromem.

Metodika a výsledky:

Předmětem klinického hodnocení byli pacienti s ischemickou chorobou srdeční (ICHS). U 24 pacientů se stabilní formou ICHS (SCAD) byly během diagnostické koronární angiografie provedeny odběry z koronárního sinu (CS), femorální žíly (VF) a kmene levé věnčité tepny (LMCA). U 29 pacientů s akutním koronárním syndromem (ACS) bylo toto stanovení rozšířeno o kontrolní odběr žilní krve za 24 hodin a za 7 dní od prvního měření. Ve vzorcích byly stanoveny hladiny TF, TFPI, MMP-2, 3 a 9, TIMP-2, hsCRP a sCD40L.

Plasmatické hladiny tkáňového faktoru byly signifikantně vyšší u pacientů s akutním koronárním syndromem než u pacientů se stabilní ICHS ($239,0 \pm 99,3$ pg/ml vs $164,3 \pm 114,2$ pg/ml; $p=0,016$). Hladiny ve skupině ACS měly statisticky nesignifikantní trend k poklesu poklesu. Hladiny MMP-9 byly signifikantně vyšší u pacientů s ACS než SCAD ($815,5 \pm 451,8$ mg/l vs $504,8 \pm 245,7$ mg/l; $p=0,004$). Hladiny sCD40L v CS byly u nemocných s ACS než u nemocných s SCAD ($9070,5 \pm 4539,3$ pg/ml vs $6841,4 \pm 3283,8$ pg/ml; $p=0,026$). Transkoronární gradient – rozdíl hladin sCD40L mezi CS a LMCA byl signifikantně vyšší u pacientů s ACS ($p=0,041$). Hladiny hsCRP byly signifikantně zvýšeny ve skupině ACS ($14,7 \pm 20,9$ ng/ml vs $3,99 \pm 7,05$ ng/ml; $p=0,013$) s trendem nesignifikantního vzestupu první ($20,9 \pm 26,6$ ng/ml) a sedmý den ($24,4 \pm 42,7$ ng/ml). Hladiny TFPI, MMP-2, MMP-3 a TIMP-2 se statisticky nelišily mezi skupinami.

Mezi hladinami tkáňového faktoru a hladinou vysoce senzitivního CRP byla nalezena středně silná pozitivní korelace ($r=0,34$; $p=0,016$). Mezi hladinami tkáňového faktoru a hladinou solubilního ligandu CD40 byla nalezena středně silná pozitivní korelace ($r=0,49$; $p<0,005$). Mezi hladinami metaloproteinázy 9 a hladinou vysoce senzitivního CRP byla nalezena středně silná pozitivní korelace ($r=0,32$; $p=0,02$).

Závěry:

Potvrdili jsme významnou funkci tkáňového faktoru ve fyziologii a patofyziologii akutního koronárního syndromu, který může sloužit jako potenciální cíl k ovlivnění patogenetického procesu stojícího na počátku koagulační kaskády. Hladiny sCD40 souvisí s aktivitou destiček, transkoronární gradient ukazuje na výraznou zvýšenou aktivitu aterotrombotického procesu a dokládá nutnost maximální blokády destiček při akutním koronárním syndromu. Hladiny TF, sCD40 a hsCRP korelují a souvisí s aktivitou aterotrombotického procesu. Korelace MMP-9 a hsCRP může spojovat zánětlivý a protrombotický proces.

3. The metabolic response to acute coronary syndrome focusing on tissue factor, metalloproteinases and soluble CD40 ligand

Introduction:

The cause of acute coronary syndrome is unstable plaque and its rupture. Pathogenesis is complex and requires various mechanisms and depends both on the composition of plaque and thrombotic activity of blood.

Objectives:

The main goal of this work was to assess local levels of plasma tissue factor (TF), tissue factor inhibitor (TFPI), tissue metalloproteinases (MMP-2, 3 and 9) and inhibitor of metalloproteinases-2 (TIMP-2), a highly selective C-reactive protein (CRP) and soluble CD40 ligand (sCD40L) in patients with acute coronary syndrome and with stable angina pectoris in the systemic circulation, the coronary sinus and to determine the time course of blood levels in patients with acute coronary syndrome.

Methods and results:

Study population include patients with coronary artery disease (CAD). In 24 patients with stable CAD (SCAD) at time of diagnostic coronary angiography, we withdrew samples from the coronary sinus (CS), femoral vein (VF) and left coronary artery (LMCA). In 29 patients with acute coronary syndrome (ACS) we took samples of venous blood also 24 hours and 7 days from the start. The samples were fixed levels of TF, TFPI, MMP-2, 3 and 9, TIMP-2, CRP, and sCD40L.

Plasma tissue factor levels were significantly higher in patients with acute coronary syndrome than in patients with stable coronary heart disease ($239,0 \pm 99,3$ pg/ml vs. $164,3 \pm 114,2$ pg/ml, $p = 0,016$). Levels in the ACS group had a statistically insignificant trend toward decrease on day 7. Levels of MMP-9 were significantly higher in patients with ACS than SCAD ($815,5 \pm 451,8$ mg/l vs. $504,8 \pm 245,7$ mg/l, $p = 0,004$). Levels of sCD40L were higher in CS in ACS group than in SCAD patients ($9070,5 \pm 4539,3$ pg/ml vs. $6841,4 \pm 3283,8$ pg/ml; $p=0,026$). Transcoronary gradient - the difference of sCD40L levels between LMCA and CS was significantly higher in patients with ACS ($p=0,041$). hsCRP levels were significantly increased in the ACS group ($14,7 \pm 20,9$ ng/ml vs. $3,99 \pm 7,05$ ng/ml, $p=0,013$) with the trend on insignificant rise 24 h ($20,9 \pm 26,6$ ng/ml) and the seventh day ($24,4 \pm 42,7$ ng/ml). The levels of TFPI, MMP-2, MMP-3 and TIMP-2 did not differ statistically between groups.

There is a moderate positive correlation between the levels of tissue factor and highly sensitive CRP ($r=0.34$, $p=0.016$). We found moderately strong positive correlation between the levels of tissue factor and the level of soluble CD40 ligand ($r=0.49$, $p<0.005$), and between the levels of metalloproteinase 9 and highly sensitive CRP levels were found moderate positive correlation ($r=0.32$, $p=0.02$).

Conclusions:

We confirmed the important role of tissue factor in the physiology and pathophysiology of acute coronary syndrome, TF can serve as a potential target to influence the thrombotic process at the beginning of the coagulation cascade. Levels of sCD40 are related to platelet activity, transcoronary gradient indicates a significant increase of activity thrombocytes and demonstrates the need for sufficient blockade of thrombocytes in acute coronary syndrome. Levels of TF, sCD40 and CRP correlate and relate with atherothrombotic activity. Correlation of MMP-9 and CRP may connect inflammatory and thrombotic process.

4. Úvod do problematiky

Akutní koronární syndrom je stále jednou z hlavních příčin mortality a morbidit ve všech rozvinutých zemích. V jeho terapii se dosáhlo v posledních letech významných úspěchů zavedením zejména direktní balonkové koronární angioplastiky, s cílem minimalizovat ložisko výsledné nekrózy a zlepšit prognózu pacientů.

Podstatou akutního koronárního syndromu je ruptura ateromového plátu. V patogenezi nestability koronárního plátu se předpokládá souběh řady mechanismů. Za klíčový mechanismus se kromě obsahu lipidů v jádru plátu považuje nerovnováha trombotické aktivity krve a proteolytických enzymů cévní stěny. Stabilní koronární pláty vlivem lytických enzymů podléhají změnám se vznikem křehké čepičky s rizikem ruptury a následné trombózy. Vedle lytických enzymů spolupůsobí i protrombotická aktivita krve prezentovaná destičkami a tkáňovým faktorem.

4.1. Základní patogenetické děje akutního koronárního syndromu

Základním mechanismem vzniku akutního koronárního syndromu je ruptura ateromového plátu bohatého na lipidy s nasedající trombózou. Tradiční pojetí akceptuje nestabilní koronární plát jako příčinu akutního koronárního syndromu, který vede k jednomu lokálnímu poškození v koronární tepně – používáme výraz „culprit“ léze. V posledních letech se ale ukazuje, že nestabilní koronární pláty jsou převážně multifokální¹ a zánětlivý proces v koronárních tepnách je generalizovaný². Klíčovými ději v tomto procesu mohou být jak lokální degradace pojivové tkáně systémem aktivovaných tkáňových metaloproteináz, který vede k nestabilitě plátu³, tak protrombotický proces v koronární cirkulaci. Tyto procesy se zdají vzájemně závislé, a proto by měl být používán termín „aterotrombotické“ děje⁴.

Původní termín vulnerabilní plát byl specificky užíván k popisu plátu náchylného k ruptuře. Ruptura plátu tak není jediným nálezem, který vede ke vzniku trombózy, a proto by měl být vulnerabilní (nestabilní) plát definován jako plát náchylný k trombóze vedoucí k akutnímu koronárnímu syndromu se vznikem akutního infarktu myokardu nebo nestabilní anginy vznikem permanentního nebo tranzitorního uzávěru tepny. Koncept vulnerability musí být tedy spojen s výskytem tvorby trombu⁵.

4.2. Koronární ateroskleróza

Ateroskleróza je charakterizována ztluštěním intimy následkem akumulace buněk a lipidů, způsobené nerovnováhou mezi přísunem a výstupem (odsunem) lipidů⁶. Normálně fungující endotelové buňky hrají klíčovou roli v homeostáze cévní stěny a zabraňují vývoji aterosklerózy. Endotel reguluje cévní tonus, trombogenicitu, funkci destiček, proliferaci a migraci hladkých svalových buněk a tonus cévní stěny. Za normálních okolností uvolňuje endotel řadu působků, které zajišťují rovnováhu mezi vasodilací a vasokonstrikcí cévní stěny, brání excesivní agregaci destiček a zajišťují rovnováhu hemokoagulační kaskády regulací tvorby fibrinu komplexem tkáňového faktoru (TF) a inhibitoru tkáňového faktoru (TFPI) a aktivace fibrinolýzy komplexem tkáňového aktivátoru plasminogenu (tPA) a inhibitoru tkáňového aktivátoru plasminogenu-1 (PAI-1)⁷.

4.3. Aterotrombóza

Ruptura plátu a následná tvorba trombu je zodpovědná za vznik akutního koronárního syndromu, jehož závažnost je ovlivňována množstvím a stabilitou trombu. Trombogenicita léze koreluje s obsahem tkáňového faktoru; lokální TFPI snižuje trombogenicitu⁸. Asi jedna třetina akutních koronárních syndromů vznikne bez ruptury plátu nebo pouze na podkladě drobné povrchové eroze fibrosního plátu, který tepnu významně stenozuje. V těchto případech tvorba trombu závisí na zvýšené trombogenicitě spouštěné systémovými faktory. K těmto faktorům patří zvýšené hladiny LDL cholesterolu, snížené hladiny HDL cholesterolu, kouření

cigaret, diabetes mellitus a některé poruchy hemokoagulace zvyšující trombotické komplikace⁹.

4.4. Tkáňové metaloproteinázy

Metaloproteinázy jsou velkou rodinou endopeptidáz s obsahem zinku, které rozkládají mezibuněčnou hmotu (matrix). Souhrnně celou skupinu nazýváme tkáňové metaloproteinázy (MMPs). Jejich společnou vlastností je schopnost degradace složek mezibuněčné hmoty (extracelulární matrix) a inhibice jejich aktivity specifickými inhibitory tkáňových metaloproteináz.

Zdrojem metaloproteináz jsou monocyty, makrofágy a hladké svalové buňky. Jejich klíčovou funkcí je degradace extracelulární matrix, akcelerace angiogeneze, indukce leukocytární infiltrace a indukce apoptózy¹⁰. Metaloproteinázy a jejich inhibitory ovlivňují remodelaci cévní stěny a migraci hladkých svalových buněk přes bazální membránu¹¹.

U aterosklerotického plátu je popisována zvýšená koncentrace metaloproteináz (MMP) a jejich aktivity, zvláště v oblastech s vysokým obsahem pěnových buněk, které jsou spojeny s vyšším rizikem nestability plátu. V makrofázích nestabilních plátů byla zjištěna zejména vysoká produkce a obsah MMP-9 (gelatinasy B) a MMP-3 (stromelysinu)¹², současně s výraznou převahou aktivních lytických enzymů nad jejich přirozenými inhibitory. Nejvyšší absolutní koncentrace i rozdíly koncentrace jsou ve vulnerabilních oblastech čepičky¹³.

4.5. Tkáňový faktor (TF)

Tkáňový faktor je klíčovou molekulou aktivace koagulační kaskády. Uvolnění tkáňového faktoru vede ke spuštění koagulační kaskády tzv. zevní cestou a facilituje aktivaci koagulační kaskády. Slouží také jako signální receptor v průběhu hemokoagulace¹⁴. Tkáňový faktor je běžně tvořen monocytami, fibroblasty a destičkami, na jejichž membránách je exprimován. Při stimulaci (poranění nebo ateroskleróza, CD40L) je exprimován na povrchu aktivovaných endotelií, monocytů a také subendoteliálně uloženými buňkami hladkého svalstva a fibroblasty¹⁵. V jádru aterosklerotického plátu je velké množství tkáňového faktoru tvořeno makrofágy. Naopak v normálních tepnách je tvorba tkáňového faktoru omezena na adventicii, kromě sporadického výskytu v medii¹⁶.

V krvi je část aktivního TF vázán na mikropartikule (fragmenty membrán) vzniklé apoptózou buněk aterosklerotického plátu. TF cirkulující v této podobě má vysokou prokoagulační aktivitu¹⁷. Mikropartikule na sebe váží TF původně vytvořený monocytami, polymorfonukleárními leukocyty, lymfocyty, destičkami, endoteliemi a hladkými svalovými buňkami¹⁸.

Infiltrace intimálních vrstev monocytami a jejich transformace na makrofágy a pěnové buňky reprezentuje zánětlivý původ aterosklerózy. Tvorba zánětlivých cytokinů vede k uvolnění a zvýšení indukce exprese TF. TF je také přítomen v nekrotickém jádru plátu, zejména ve vazbě na mikropartikule ze zaniklých pěnových buněk, makrofágů a lymfocytů. Exprese TF je úzce spojena s apoptózou makrofágů v plátech bohatých na lipidy, což ukazuje, že nejen zánět, ale také apoptóza může určovat trombogenicitu plátu¹⁹.

4.6. Inhibitor tkáňového faktoru (TFPI)

Inhibitor tkáňového faktoru je přirozeným mechanismem bránícím prokoagulačnímu efektu způsobenému komplexem tkáňový faktor/faktor VIIa a faktoru Xa²⁰. TFPI je ve více než polovině svého množství vázán na endotel, zbylá část je v destičkách a plazmě²¹. Malé množství TFPI je exprimováno i hladkými svalovými buňkami, megakaryocyty, monocytami, fibroblasty a kardiomyocyty^{22, 23}. TFPI zajišťuje regulaci prokoagulačních stimulů tak, aby malý podnět nevyvolal nekontrolovanou tvorbu trombinu. TFPI je zásadní v regulaci koagulace spouštěné komplexem TF:VIIa²⁴. Exprese TFPI je v podmínkách in-vitro

stimulována endotoxiny, interleukinem-1, TNF- α , PDGF, heparinem, BFGF a střížným napětím²⁵.

V normální tepně je TFPI soustředěn v endoteliálních buňkách a v buňkách hladkých svalů medie. V tepnách postižených aterosklerózou je TFPI přítomen v endoteliích nad plátem, ale i v endoteliích mikrotepen plátu, v hladkých svalových buňkách medie a i v neointimě. Navíc je obsažen v makrofázích/pěnových buňkách a T-buňkách obklopujících nekrotické jádro. Aktivita TFPI je vyšší v místech s nižším obsahem TF. Celkové množství TFPI je vyšší v aterosklerotických lézích než ve zdravých tepnách, zejména u komplikovaného plátu s přítomností trombu²⁶.

4.7. Solubilní ligand CD40 (sCD40L)

CD40 ligand (CD40L/CD154) je transmembránový proteinový komplex strukturou blízký tumor nekrosis faktoru- α . Systém CD40/CD40 ligand je zastoupen jak na T i B leukocytech, tak na edoteliích a buňkách hladkých svalů²⁷, aktivovaných monocytech, makrofázích a dendritických buňkách^{28, 29}. Nejvíce je přítomen zejména na aktivovaných destičkách³⁰. Liganda CD40 je přítomna ve vázané i v solubilní formě, obě formy jsou stejně biologicky aktivní ve vztahu k receptoru CD40³¹. Solubilní forma je aktivně uvolňována po aktivaci destiček a nebo po stimulaci lymfocytů³². CD40 ligand působí prozánětlivě na endoteliální buňky a napomáhá hemokoagulaci stimulací tvorby tkáňového faktoru na monocycytech³³ a na endoteliálních buňkách³⁴.

Membránová i solubilní forma má stejné biologické účinky. Vazbou na ateromový plát spouští tvorbu metaloproteináz produkovaných buňkami hladkého svalu cévní stěny a makrofágy³⁵ a zvyšuje tvorbu tkáňového faktoru³⁶.

5. Cíle disertační práce

Základním cílem studie je průkaz zvýšené hladiny tkáňového faktoru a změn inhibitoru tkáňového faktoru, změny hladin solubilní ligandy CD40, tkáňových metaloproteináz a jejich inhibitorů u pacientů s akutním koronárním syndromem (skupina ACS) v porovnání s pacienty se stabilní ischemickou chorobou srdeční (skupina SCAD). Obě skupiny budou léčeny standardním způsobem.

Dílčí cíle:

1. Zjištění systémově detekovatelných projevů změn tkáňového faktoru, inhibitoru tkáňového faktoru, metaloproteinázy 2, 3, 9 a inhibitoru tkáňových metaloproteináz-2, solubilní ligandy CD40, vysoce senzitivního CRP (hsCRP).
2. Sledování kinetiky výše uvedených markerů u pacientů s akutním koronárním syndromem během prvního týdne.
3. Stanovení rozdílu markerů sledovaných dle bodu 1 v odběru z kmene levé věnčité tepny, femorální žíly a koronárního sinu a zjištění rozdílu hladin.

6. Materiál a metodika

6.1. Soubor pacientů

Sledovaná sestava pacientů představuje pacienty s ischemickou chorobou srdeční hospitalizované na I. interní klinice Fakultní nemocnice v Hradci Králové. Pacienti byli seznámeni s povahou studie, byl vyplněn informovaný souhlas schválený Etickou komisí Lékařské Fakulty v Hradci Králové. Soubor pacientů byl rozdělen do dvou skupin, podle typu manifestace ischemické choroby srdeční na pacienty s akutní nebo stabilní formou.

6.2. Kriteria zařazení do studie

Do skupiny s akutním koronárním syndromem byli zařazení pacienti s anamnézou bolesti na hrudi do 24 hodin od vzniku obtíží a přítomnosti jasných známek infarktu myokardu na EKG nebo positivity troponinu T nebo CK_MB.

Do skupiny se stabilní ischemickou chorobou srdeční byli zařazeni pacienti podstupující diagnostickou koronarografií z důvodu symptomatické anginy pectoris s nálezem alespoň 50% stenozy na jedné věnčité tepně nebo pacienti po proběhlém akutním infarktu myokardu před více než 6 měsíci indikovaní k diagnostické koronarografií z jiného důvodu.

Do sledování nebyli zařazeni nemocní, kterým byl podán heparin 4 hodiny před nebo nízkomolekulární heparin 24 hodin před vyšetřením. Byli vyloučeni nemocní, kteří měli závažné limitující onemocnění, které by mohlo samo o sobě ovlivňovat hladiny sledovaných ukazatelů.

6.3. Postup odběru vzorků a jejich zpracování

6.3.1. Odběr vzorků

Během rutinní diagnostické katetrizace byl do kmene levé věnčité tepny byl zaveden diagnostický Judgkinsův katetr, do koronárního sinu byl zaveden upravený diagnostický Amplatzův katetr s bočními otvory 0,5 cm od distálního konce. Během 20 sec byl proveden odběr z kmene levé věnčité tepny, z koronárního sinu a z femorální vény v obou skupinách pacientů. Ve skupině pacientů s akutním koronárním syndromem byl proveden kontrolní odběr z periferní žíly za 24 hodin a za 7 dní.

6.3.2. Zpracování vzorků po odběru

Vzorky krve k biochemickému zpracování (MMP-2, MMP-3, MMP-9, TIMP-2) byly do 30 minut transportovány na Ústav klinické biochemie a diagnostiky FN Hradec Králové, kde byly centrifugovány rychlostí 3000 otáček/min a poté zamraženy na teplotu $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vzorky krve ke zpracování hematologických parametrů (TF, TFPI) byly do 30 minut transportovány na Oddělení klinické hematologie FN Hradec Králové, kde byly centrifugovány na 6000 otáček/min a zamraženy. Vzorky krve ke zpracování imunologických parametrů (hsCRP, sCD40L) byly do 16 hodin transportovány, po 16 hodině uloženy do teploty $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ a zpracovány následující den. Zpracované vzorky byly centrifugovány na 3.000 otáček/min a zamraženy na $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Opakované rozmražení a zamražení vzorků bylo vyloučeno.

6.4. Metody užitě ke stanovení plasmatických hladin

Plasmatické koncentrace hladiny tkáňového faktoru a inhibitoru tkáňového faktoru byly stanoveny komerčně dostupnými ELISA kity (IMUBIND[®], fy American diagnostica inc.). Sérové koncentrace metaloproteinázy 2, 3, 9, inhibitoru tkáňových metaloproteináz 2 a solubilního ligandu CD40 byly stanoveny komerčními kity Quantikine[®] Human Immunoassay (R&D Systems, Inc., Minneapolis, USA). Sérové koncentrace vysoce senzitivního CRP byly stanoveny chemiluminiscenci pomocí standardního kitu (DPC, USA).

6.5. Statistické zpracování výsledků

Statistické zhodnocení výsledků bylo provedeno statistickým programem SigmaStat v. 3.1 (fy Systat Software Inc. USA). Bylo otestováno normální rozdělení dat Kolmogorov-Smirnovovým testem. Testování u normálně rozdělených dat bylo provedeno pomocí t-testu, v případě statistického zhodnocení vývoje hladin byl použit párový t-test nebo test ANOVA pro vícečetné párové porovnávání. Při nesplnění normálního rozdělení dat byl použit Mann-Whitney znaménkový test pro porovnání dvou skupin, ke statistickému zhodnocení vývoje hladin byl použit Wilcoxonův test. K analýze korelace byl v případě normálního rozdělení použit Pearsonův korelační koeficient, nebyla-li normalita splněna byl použit Spearmanův korelační koeficient. Za statisticky významné byly považovány hodnoty $p < 0,05$.

7. Výsledky

7.1. Demografické složení a klinická charakteristika souboru.

Skupina pacientů s akutním koronárním syndromem (ACS) zahrnovala 29 pacientů, z toho 20 mužů (69%) a 9 (31%) žen. Průměrný věk skupiny byl 64±11 let. Charakteristiky souboru viz tabulka 1.

Tabulka 1: Demografická a klinická charakteristika souboru pacientů

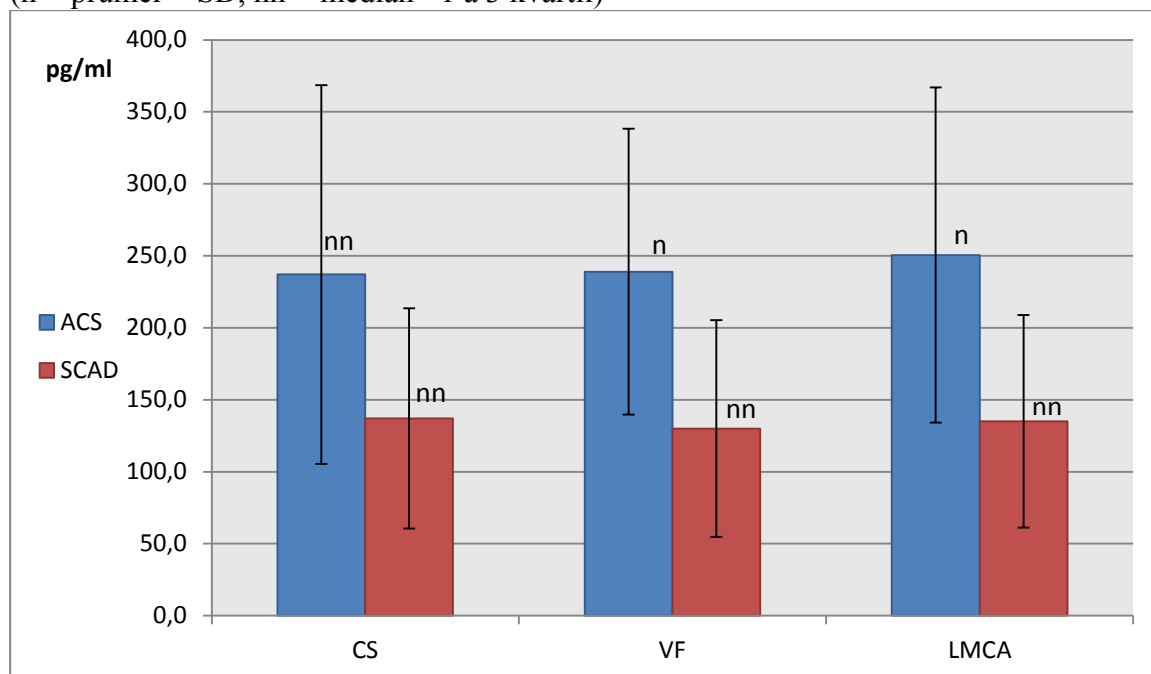
	<i>Akutní koronární syndrom (ACS)</i>		<i>Stabilní ICHS (SCAD)</i>	
	<i>N</i>	<i>%</i>	<i>N</i>	<i>%</i>
Celkem	29		24	
- muži	20	69	21	88
- ženy	9	31	3	12
Prům. věk (±SD)	64 (±11)		62 (±8)	
Rizikové faktory				
- pozit. RA	4	14	6	25
- BMI > 25	22	76	22	92
- art. hypertenze	18	62	16	67
- hyperlipidémie	19	66	23	96
- diabetes mellitus	10	34	10	42
z toho insulin	2	7	2	8
- kouření	2	7	6	25
Anam. ICHS	10	34	13	54
Akutní koron.sy				
- STEMI	9	31		
- NSTEMI/NAP	16	55	NA	NA
- subak. Q-IM	4	14		
EF (±SD)	51 (±10)		52 (±15)	
Medikace:				
- ASA	26	90	24	100
- thienopyridiny	8	28	7	29
- β-blokátory	21	72	24	100
- ACEI/ATII.bl.	11	38	20	83
- Ca-blokátory	6	21	5	21
- diuretika	8	28	16	67
- statiny	10	34	22	92

7.2. Tkáňový faktor

Plasmatické hladiny TF byly signifikantně vyšší u pacientů s akutním koronárním syndromem než u pacientů se stabilní ICHS (239,0± 99,3 pg/ml vs 164,3±114,2 pg/ml; p=0,016) – viz graf č.1. Mezi CS, venosní krvi a kmenem LCA nebyl signifikantní rozdíl v hladinách plasmatického TF. Plasmatické hladiny TF měly sedmý den statisticky nesignifikantní trend k poklesu (239,0± 99,3 pg/ml vs 224,4±109,8 pg/ml).

Graf č. 1: Porovnání hladin tkáňového faktoru u pacientů s akutní (n=29) a chronickou (n=24) ICHS

ACS = akutní koronární syndrom, SCAD = stabilní ischemická choroba srdeční, CS = koronární sinus, VF = femorální žíla, LMCA = kmen levé věnčité tepny (n= průměr ± SD, nn = median ±1 a 3 kvartil)



7.3. Inhibitor tkáňového faktoru

Plasmatické hladiny inhibitoru tkáňového faktoru se statisticky významně nelišily mezi koronárním sinem, žilní krví a kmenem levé koronární tepny v obou skupinách. Nebyl zjištěn rozdíl mezi skupinou s akutní a s chronickou ischemickou chorobou srdeční. Ve skupině s akutním koronárním syndromem nebyl statisticky významný rozdíl ve vývoji hladiny za 24 hodin a 7 den.

7.4. Metaloproteináza 2 a 3

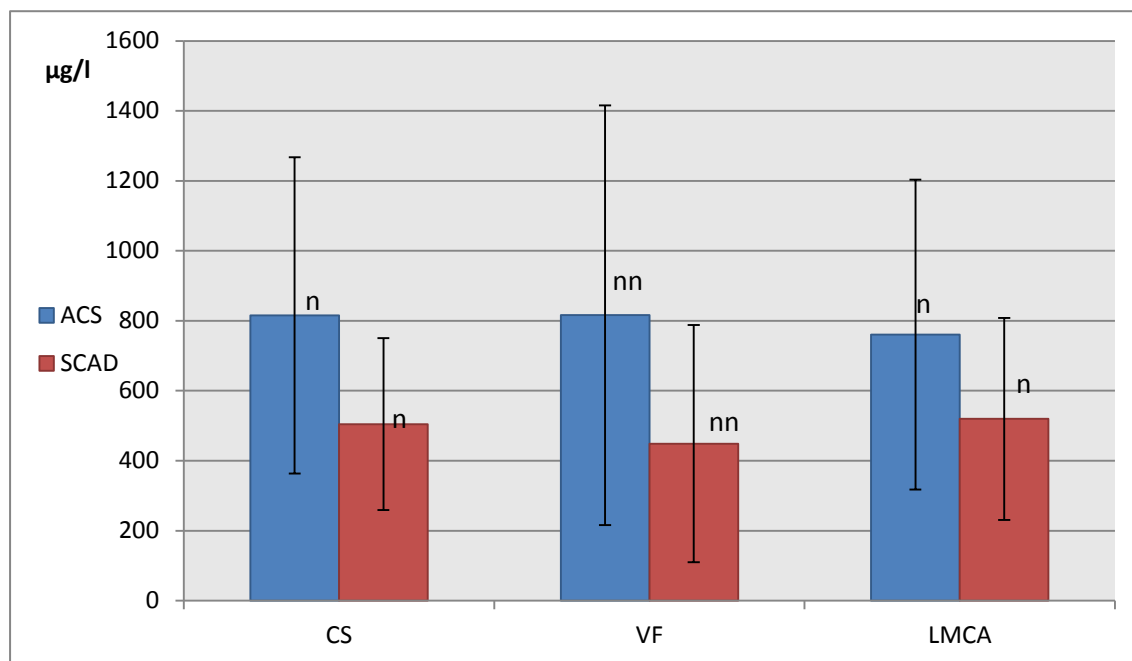
Sérové hladiny metaloproteinázy 2 a 3 se statisticky významně nelišily mezi koronárním sinem, žilní krví a kmenem levé koronární tepny v obou skupinách. Nebyl pozorován rozdíl v hladinách vstupně, za 24 hodin a za 7 dní. Nebyl zjištěn rozdíl mezi skupinou akutní a s chronickou ischemickou chorobou srdeční.

7.5. Metaloproteináza 9

Plasmatické hladiny MMP-9 byly signifikantně vyšší u pacientů s akutním koronárním syndromem než u pacientů se stabilní ICHS (815,5+451,8 mg/l vs 504,8+245,7 mg/l; p=0,004) – viz graf č. 2. Mezi CS, venosní krví a kmenem LCA nebyl singnifikantní rozdíl v hladinách MMP-9. Ve skupině pacientů s akutním koronárním syndromem se hladiny metaloproteinázy 9 statisticky nelišily v porovnání vstupně, za 24 hodin a 7 dní.

Graf č. 2: Vývoj hladin metaloproteinázy-9 u pacientů s akutní (n=29) a chronickou (n=24) ICHS

ACS = akutní koronární syndrom, SCAD = stabilní ischemická choroba srdeční, CS = koronární sinus, VF = femorální žíla, LMCA = kmen levé věnčité tepny
(n = průměr ± SD, nn = median ±1 a 3 kvartil)



7.6. Inhibitor tkáňových metaloproteináz-2

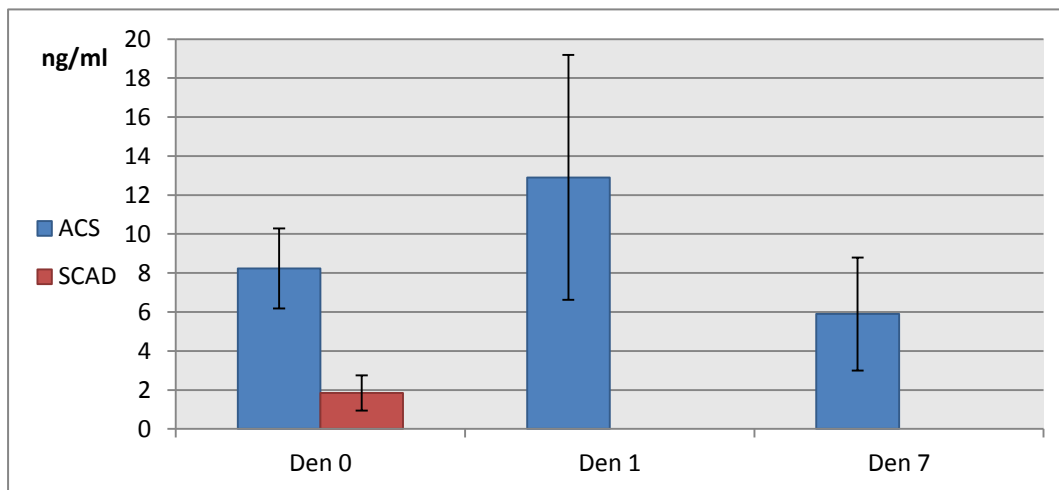
Hladiny inhibitoru tkáňových metaloproteináz (TIMP-2) se statisticky nelišily u pacientů s akutním koronárním syndromem od pacientů se stabilní ICHS. Mezi CS, venosní krví a kmenem LCA nebyl singnifikanční rozdíl v hladinách TIMP-2. U pacientů s akutním koronárním syndromem došlo ke statisticky signifikantnímu poklesu hladin TIMP-2 za 24 hodin ($82,0 \pm 15,8$ vs. $74,4 \pm 12,8$; $p=0,23$), která se upravila sedmý den ($74,4 \pm 12,8$ vs. $90,9 \pm 19,8$; $p<0,001$). Hladiny TIMP-2 vstupně a sedmý den nebyly statisticky významně rozdílné.

7.7. Vysoce senzitivní CRP

Hladiny vysoce senzitivního CRP (hsCRP) byly signifikantně zvýšeny ve skupině akutní proti stabilní ICHS ($14,7 \pm 20,9$ ng/ml vs. $3,99 \pm 7,05$ ng/ml; $p=0,013$) s trendem nesignifikantního vzestupu první ($20,9 \pm 26,6$ ng/ml) a sedmý den ($24,4 \pm 42,7$ ng/ml) – viz graf č. 3.

Graf č. 3: Vývoj hladin hsCRP u pacientů s akutní (n=29) a chronickou (n=24) ICHS

ACS = akutní koronární syndrom, SCAD = stabilní ischemická choroba srdeční, CS = koronární sinus, VF = femorální žíla, LMCA = kmen levé věnčité tepny (hodnoty udávají median \pm 1 a 3 kvartil)

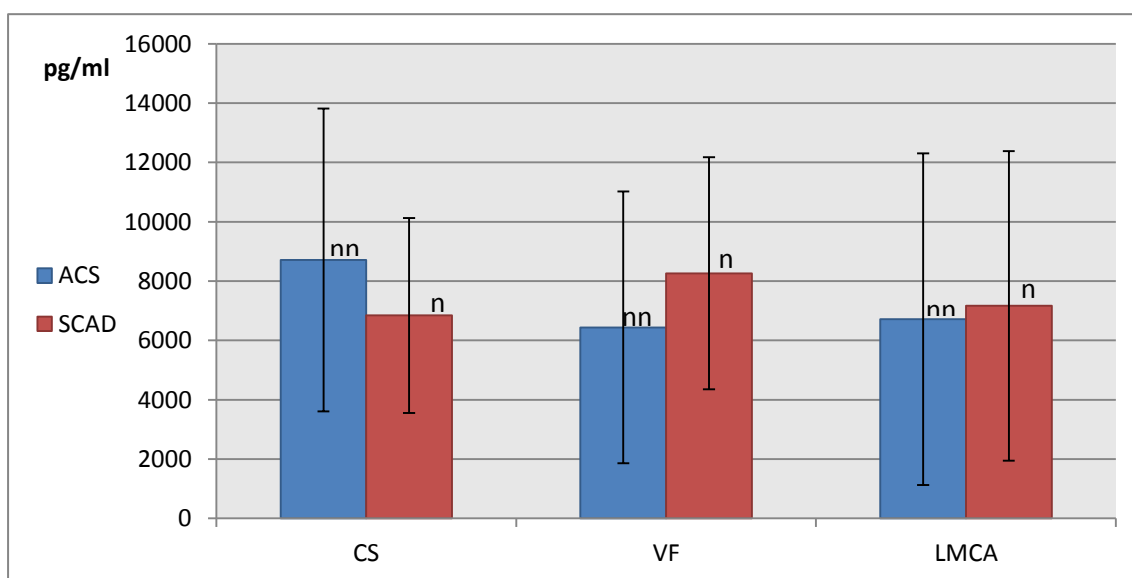


7.8. Solubilní ligand CD40

Plasmatické hladiny solubilního ligandu CD40 (sCD40L) v koronárním sinu byly u nemocných s akutním koronárním syndromem významně vyšší než u nemocných ve skupině se stabilní ICHS ($9070,5 \pm 4539,3$ pg/ml vs $6841,4 \pm 3283,8$ pg/ml; $p=0,026$) – viz graf č. 4. Hladiny sCD40L měly ve skupině akutního koronárního syndromu trend k nesignifikantnímu vzestupu sedmý den ($9679,6 \pm 4195,0$ pg/ml v.s. $11254,1 \pm 6528$ pg/ml).

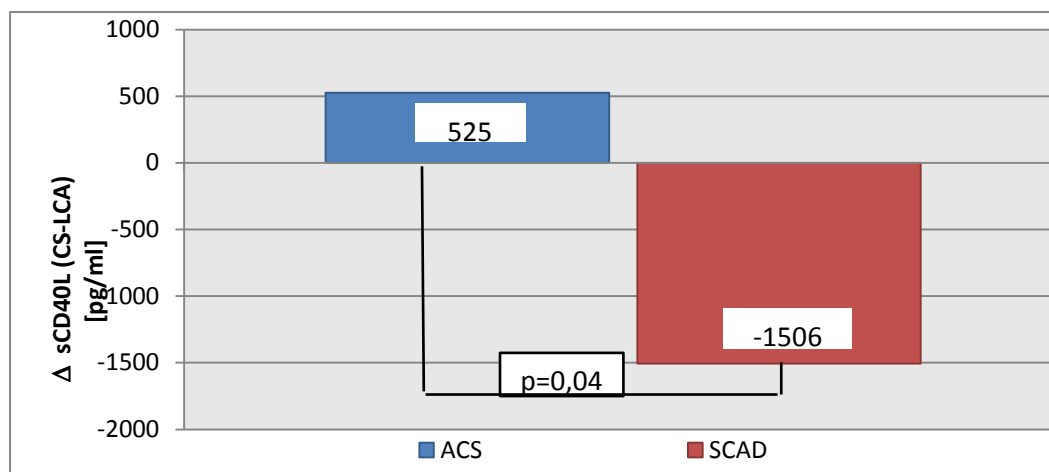
Graf č. 4: Vývoj hladin solubilního ligandu CD40 u pacientů s akutní (n=29) a chronickou (n=24) ICHS

ACS = akutní koronární syndrom, SCAD = stabilní ischemická choroba srdeční, CS = koronární sinus, VF = femorální žíla, LMCA = kmen levé věnčité tepny (n= průměr \pm SD, nn = median \pm 1 a 3 kvartil)



Transkoronární gradient – rozdíl hladin sCD40L mezi CS a kmenem levé věnčité tepny byl signifikantně vyšší u pacientů s akutním koronárním syndromem ($p=0,041$) – viz graf č. 5.

Graf č. 5: Transkoronární gradient hladin solubilního ligandu CD40 mezi koronárním sinem a kmenem levé věnčité tepny



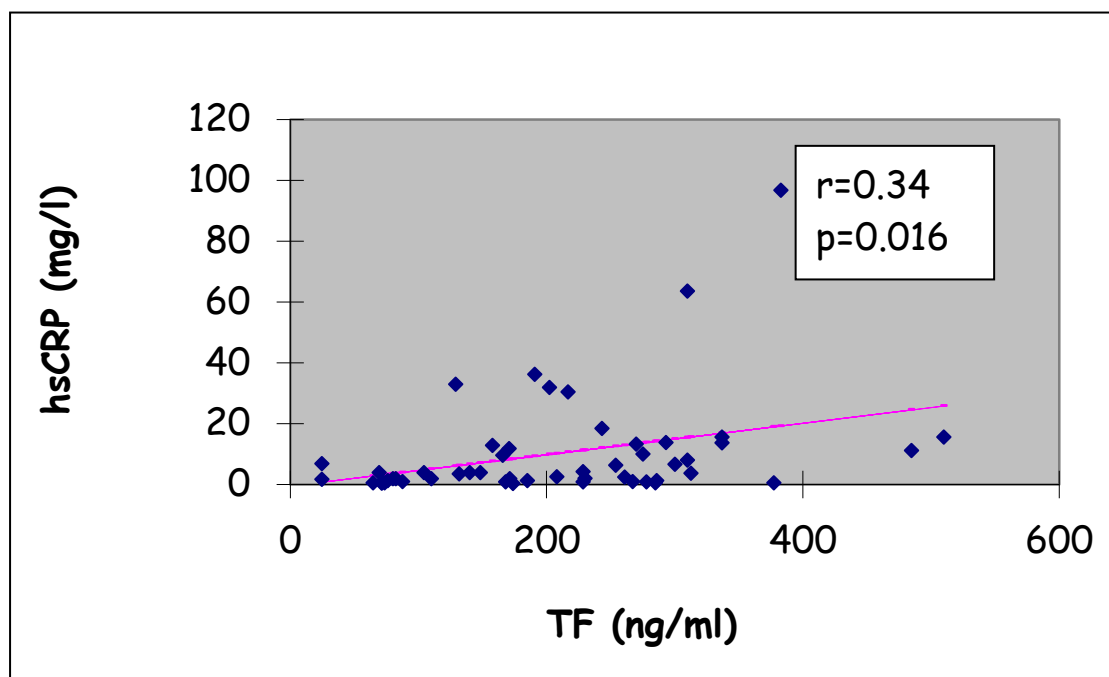
7.9. Korelační výsledky

Korelační analýzou nebyla prokázána statisticky významná korelace mezi hodnotami tkáňového faktoru a inhibitoru tkáňového faktoru v obou skupinách.

Mezi hladinami tkáňového faktoru a hladinou vysoce senzitivního CRP byla nalezena středně silná pozitivní korelace ($r=0,34$; $p=0,016$) – viz graf č. 6.

Graf č. 6: Korelace hladin tkáňového faktoru a vysoce senzitivního CRP u pacientů s akutním koronárním syndromem

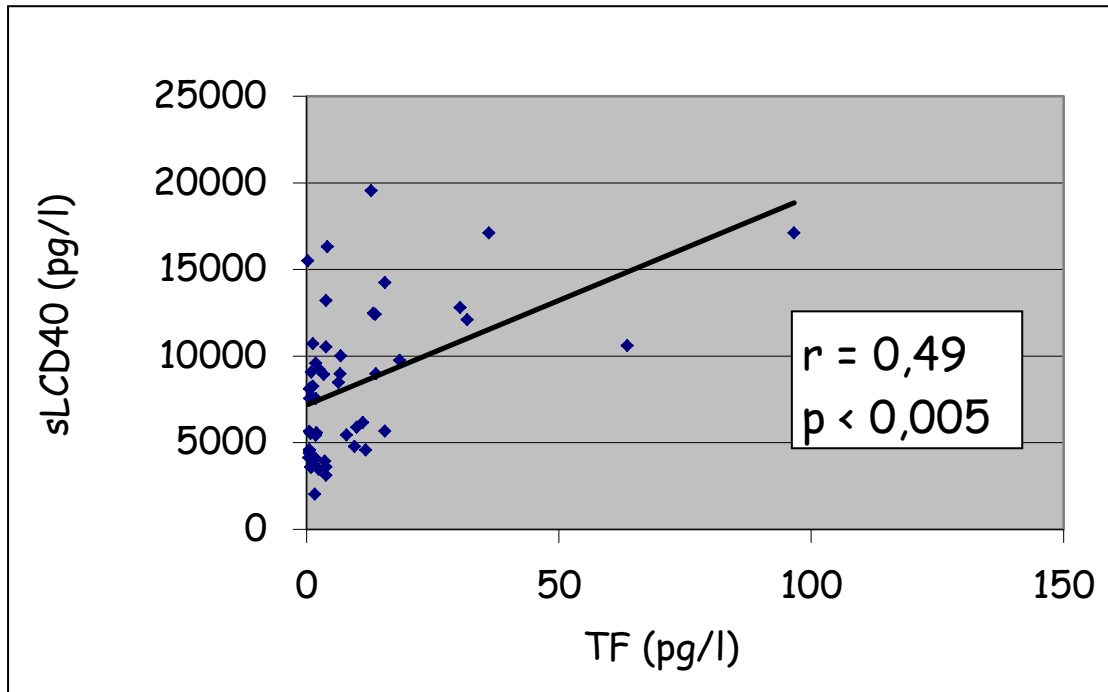
hsCRP= vysoce senzitivní C-reaktivní protein, TF = tkáňový faktor



Mezi hladinami tkáňového faktoru a hladinou solubilního ligandu CD40 byla nalezena středně silná pozitivní korelace ($r=0,49$; $p<0,005$) – viz graf č. 7.

Graf č. 7: Korelace hladin tkáňového faktoru a solubilní ligandy CD40 u pacientů s akutním koronárním syndromem

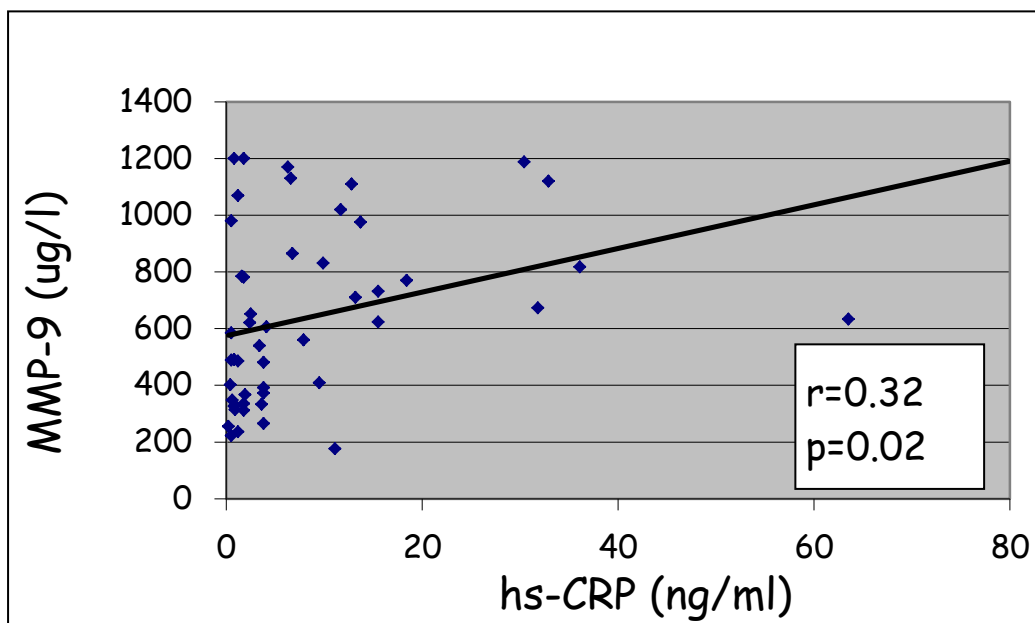
sLCD40= solubilní ligand CD40, TF = tkáňový faktor



Mezi hladinami metaloproteinázy 9 a hladinou vysoce senzitivního CRP byla nalezena středně silná pozitivní korelace ($r=0,32$; $p=0,02$) – viz graf č. 8.

Graf č. 8: Korelace hladiny metaloproteinázy 9 a hsCRP u pacientů s akutním koronárním syndromem

hs-CRP= vysoce senzitivní CRP, MMP-9 = metaloproteináza 9



8. Diskuse

Nadměrná produkce tkáňového faktoru může spouštět trombotický proces, přispívající k akutnímu zhoršení ischemické choroby srdeční, aterosklerotický plát obsahuje vysoké koncentrace tkáňového faktoru v porovnání s okolní tkání³⁷. U pacientů s akutním koronárním syndromem je přítomno zvýšené množství tkáňového faktoru u 43% aterosklerotických plátů, zatímco u pacientů se stabilní ICHS má toto zvýšení TF jen 12 % plátů³⁸. Při vzniku akutního koronárního syndromu je plasmatická koncentrace zánětlivých cytokinů, jako TNF- α a interleukinů, v místě akutní okluze zvýšená a vede k dalšímu zvýšení tvorby TF³⁹.

Ruptura plátu vede k expozici vysoce prokoagulačního obsahu plátu do cirkulace a může přispět k elevaci plasmatické hladiny TF. Téměř 30% pacientů má pouze povrchovou erozi, na kterou nasadá trombus, a zvýšená hladina TF u těchto pacientů může být dána zvýšenou tvorbou TF v aterosklerotické lézi.

U pacientů s ischemickou chorobou srdeční je popisována zvýšená plasmatická hladina tkáňového faktoru u akutního infarktu⁴⁰, nestabilní anginy pectoris⁴¹, ale i u stabilní AP⁴². U nestabilní anginy pectoris zvýšené hladiny korelují s horší prognózou pacientů⁴¹. Je popsán nesignifikantní trend zvýšení plasmatických hladin TF u pacientů s akutním infarktem myokardu a nestabilní anginou pectoris v porovnání s pacienty se stabilní ischemickou chorobou srdeční a zdravými dobrovolníky⁴³. Hladiny TF jsou zvýšené i u pacientů s diabetem⁴⁴. Zvýšené hladiny tkáňového faktoru jsou nezávislou proměnnou zvyšující riziko manifestace ischemické choroby srdeční u zdravých jedinců⁴⁵. Zvýšené hladiny tkáňového faktoru při přijetí pro akutní infarkt myokardu znamenají vyšší riziko mortality během 3 let⁴⁶.

Protidestičková léčba, která je užívána v léčbě AKS, snižuje expresi TF a plasmatické hladiny TF. Blokáda ADP receptoru destičky navozená clopidogrelem snižuje expresi TF v ischemické tepně⁴⁷. Podání abciximabu snižuje expresi TF monocytů a aktivitu destiček snížením interakce mezi trombocyty a monocytů⁴⁸, naopak eptifibatid tuto interakci neovlivní⁴⁹. Podání nízkomolekulárního heparinu ve standardních terapeutických dávkách vede k blokádě aktivace destiček⁵⁰. Anopyrin inhibuje aktivaci exprese TF v monocytech a může tedy snižovat plasmatickou aktivitu tkáňového faktoru přímou regulací exprese TF⁵¹.

Námi zjištěné hladiny tkáňového faktoru byly ve všech kompartmentech stejné, signifikantně vyšší byly hladiny u pacientů s akutním koronárním syndromem, s nesignifikantní tendencí k poklesu za 7 dní. Toto je ve shodě s pracemi Suefuji a kol.⁵² a Misumi a kol.⁵³ srovnávající akutní koronární syndrom a stabilní formy ischemické choroby srdeční. Obě ve shodě zjistily zvýšenou hladinu TF u akutního koronárního syndromu a pokles hladiny TF v čase. Můžeme spekulovat, že hladina TF odráží celkovou prokoagulační aktivitu danou nejen koronární aterosklerózou, ale vícečetným postižením cév, a proto se zvýšené hladiny TF ukázaly jako negativně prognostické⁶³.

Limitací našeho stanovení je měření celkové hladiny tkáňového faktoru – měření na základě protilátek určujících aktivní i neaktivní formy tkáňového faktoru, bez stanovení funkční aktivity na základě aktivity faktoru Xa závislého na TF. V pracích Malého a kol. u pacientů s akutním koronárním syndromem nepozorovali signifikantní rozdíl v hladinách celkového TF⁴³, stejně tak analýza pacientů ve studii AtheroGene neprokázala ve skupině s akutním koronárním syndromem vyšší hodnoty TF v porovnání se stabilní ICHS⁶³. Malý a kol. stanovovali aktivitu tkáňového faktoru a zjistili signifikantní snížení u pacientů s akutním koronárním syndromem v systémové i koronární cirkulaci⁵⁴, jako možnou konzumaci TF.

Není jasné, zda vlastní koronární intervence zvyšuje hladinu TF, ale disekce plátu způsobená balonovou dilatací může vést k expozici obsahu plátu krevnímu proudu a zvýšení hladin plasmatického TF. Při reperfuzi vytvořené kyslíkové radikály indukují zvýšení TF akutně, zatímco trvající zánětlivé postižení aterosklerotické koronární tepny může zvýšit hladiny TF v pozdějších fázích⁵⁵. Pacienti s nedostatečnou odpovědí na ASA mají vyšší hladiny TF⁵⁶.

Hladiny tkáňového faktoru korelují s hladinou hsCRP. CRP je syntetizován v játrech vlivem IL-6 jako primární odpověď na systémový zánět⁵⁷. CRP může být tvořeno i v plátu hladkými svalovými buňkami a makrofágy⁵⁸ a může hrát roli v nestabilitě plátu a ruptuře. CRP má prozánětlivou a proaterosklerotickou funkci, zahrnující aktivaci a chemoatrakci cirkulujících monocytů, indukci endoteliální dysfunkce, uvolnění cytokinů, aktivaci komplementového systému, facilituje remodelaci extracelulární matrix a indukuje protrombotický stav stimulací syntézy TF⁵⁹. Je proto pravděpodobné, že korelace TF a hsCRP vyplývá z aktivní koronární choroby jako výsledek aktivity zánětlivých buněk – zejména monocytů a neutrofilů, destiček, endotelií a aterosklerotického plátu, jako odpověď na zánětlivé podněty a vlastní koncentrace TF může odrážet rozsah a tíži aterosklerotického procesu.

Stimulace CD40 receptoru na monocytech a makrofázích v aterosklerotickém plátu, vede k výrazné expresi TF, intersticiální kolagenázy (MMP-1) a stromelysinu (MMP-3). Při stimulaci IL-1 nebo TNF- α však byla zjištěna stimulace tvorby tkáňového faktoru jen slabá. Zablokování efektu ligandu CD40 protilátkou inhibuje efekt na monocyty/makrofágy⁶⁰. Námí zjištěná pozitivní korelace mezi hladinou tkáňového faktoru a hladinou solubilního ligandu CD40 podporuje význam a zapojení CD40 ligandu v aktivaci koagulačního systému.

Role TFPI v procesu regulace hemostázy je velmi důležitá. Lze očekávat, že nedostatek TFPI může přispět k patogenezi trombotických chorob. Práce Suefuji a kol.⁵², Yamamota a kol.⁶¹, Malého a kol.⁴³ a analýza studie AtheroGene⁶³ zjistily zvýšené plasmatické hladiny TFPI u pacientů s nestabilní anginou pectoris.

Při měření inhibice TFPI u pacientů s infarktem myokardu léčeným trombolýzou nebo přímou koronární angioplastikou, byla u trombolyzovaných pacientů zjištěna nižší inhibice aktivity TF zprostředkovaná TFPI. Vysvětlením je štěpení TFPI plazminem⁶² nebo možná indukce tvorby trombinu⁴⁶ u trombolyzovaných pacientů. Alternativní je i vysvětlení, že plasmin zvýší vylučování TFPI do plasmy, kde je neúčinný, a sníží vaskulární pool, který má antitrombotický efekt²⁵.

U pacientů se stabilní ischemickou chorobou srdeční byla zvýšená hladina TFPI jako nezávislý rizikový faktor kardiovaskulární mortality⁶³. U zdravých subjektů bylo zjištěno zvýšené riziko budoucí koronární příhody v případě snížení hladiny TFPI pod desátý percentil⁶⁴. TFPI snižuje depozita fibrinu, neointimální ztlustění po dilataci balonem⁶⁵ a snižuje trombogenicitu plátu inhibicí destiček⁶⁶. Zvýšená exprese TFPI v postižené cévě inhibuje rekurující trombózy navozené střížným napětím bez ovlivnění systémových koagulačních parametrů⁶⁷ a snižuje cévní remodelaci při balonkové dilataci⁶⁸.

V naší práci nebyly zjištěny zvýšené hladiny TFPI mezi skupinami s akutním koronárním syndromem a stabilní ischemickou chorobou srdeční. Stanovovaná hladina TFPI byla bazálně měřena ještě před podáním heparinu, ale ani po podání heparinu, dle standardního léčebného protokolu u akutního koronárního syndromu, jsme nezjistili zvýšené hladiny TFPI. Jako možné vysvětlení se nabízí tři důvody: nízké cirkulující hladiny celkového plasmatického TFPI nebo velmi nízké hodnoty volného detekovatelného TFPI a v neposlední řadě nemožnost stanovit v buňkách vázanou TFPI. Dopad hladin TFPI není zcela jasný. Ve většině prací bývá zvýšený. V práci Morange a kol. korelovala hladina TFPI s troponinem a tedy mohla vyjadřovat míru postižení myokardiálního svalu ischemií⁶³. Zvýšená hladina TFPI může pouze vyjadřovat tíži hypoxie nebo zánětlivé odpovědi.

Stanovení hladiny TF u akutního koronárního syndromu může sloužit k upřesnění prognózy (zvýšená hladina je prediktorem mortality) a predikovat budoucí nestabilitu. TFPI může sloužit v korelaci s troponinem k posouzení rozsahu myokardiálního poškození⁶³.

8.1. Metaloproteinázy

Role tkáňových metaloproteináz v ateromovém plátu je komplexní. Jejich tvorba je indukována zánětlivou reakcí. Enzymy degradují extracelulární matrix a bazální membránu a umožňují migraci a proliferaci zejména endotelií se vznikem neovaskulárních lézí⁶⁹. Metaloproteinázy jsou zodpovědné za remodelaci tkání a angiogenezi. Endoteliální buňky po stimulaci interleukinem-1 nebo TNF- α exprimují intesticiální kolagenázu (MMP-1), gelatinázu A a B (MMP-2 a MMP-9) a stromelyzin (MMP-3)⁷⁰.

U hypertenzních pacientů korelují hladiny MMP-9 s rizikem ischemické choroby srdeční a po korekci TK dochází k poklesu hladiny⁷¹. MMPs jsou považovány za marker vaskulárního postižení⁷², korelují s chronickou endoteliální dysfunkcí a tvorbou nestabilního plátu⁷³.

Ze skupiny metaloproteináz jsme zjistili signifikantně vyšší pouze hladiny MMP-9, nezjistili jsme zvýšenou hladinu MMP-2, MMP-3. Zvýšené hladiny metaloproteinázy-9 a TIMP-2 spolu s sCD40L jsou zvýšeny u pacientů s ischemickou chorobou srdeční v porovnání s pacienty bez signifikantní aterosklerózy⁷⁴. Práce Kai a kol. našla zvýšení hladiny MMP-9 a nikoliv MMP-2 u pacientů s akutním koronárním syndromem⁷⁵, Inokubo a kol. zaznamenal jejich zvýšení pouze v koronární cirkulaci⁷⁶. V práci Ferroniho a kol. je popsáno signifikantní zvýšení MMP-9, ale hladina MMP-2 byla beze změny⁷⁷, což odpovídá našim zjištěným výsledkům. Naopak pouze práce Eckarta a kol. pozorovala zvýšené hladiny MMP-2, zatím co hladiny MMP-9 byly ve skupině s akutním infarktem sníženy. Tímto zjištěním je ale práce ojedinělá⁷⁸. Po provedení perkutánní revaskularizace je popisován vzestup MMP-9, což podporuje roli MMP-9 jako vaskulárního faktoru odpovědi na cévní poranění⁷⁸, nevylučuje ale ani možnost uvolnění MMP-9 z aterosklerotického plátu při mechanické disrupci. U diabetiků s AKS jsou hladiny MMP-9, TIMP-2 a hsCRP vyšší než u pacientů nediabetiků⁷⁹, což může svědčit pro možný přímý patogenetický podíl MMPs na ruptuře plátu.

Z dosud publikovaných prací tedy vyplývá souvislost mezi metaloproteinázami a vznikem akutního koronárního syndromu. Jejich zvýšené hladiny (zejména MMP-9) jsou detekovány v akutním ateromovém plátu a to jak extracelulárně, tak intracelulárně⁸⁰. Odráží to jejich aktivní syntézu v nestabilním plátu a je zde možná příčinnost s rupturou plátu⁷⁵, ale přímá zodpovědnost za porušení fibrosní čepičky plátu je obtížně průkazná⁸¹.

V dostupné literatuře je uváděná také vyšší koncentrace MMP-2, jejíž exprese je v koronárním plátu aktivována a její hladina koreluje s kalcifikacemi v ateromovém plátu⁸², naše měření toto nepotvrdila.

Naši zjištěné zvýšené hladiny MMP-9 korelují s hsCRP, a tedy se zánětlivou aktivací. Není jasné, zda aktivita MMP-9 v séru koreluje s aktivitou v ateromovém plátu. Práce Inokubeho a kol. pozorovala zvýšenou hladinu MMP-9 v koronární cirkulaci, což může svědčit pro aktivaci lytického procesu v koronárním řečišti s uvolněním MMPs⁷⁶, ale naše zjištění nepotvrdilo zvýšenou koronární produkci MMPs. V práci Fukudy a kol. vyšetřením pomocí intravaskulárního ultrazvuku prokázali korelaci výskytu ruptury plátu se zvýšenými hladinami MMP-9, ale nikoliv s MMP-2⁸³. Také práce Higa a kol. ukázala, že pacienti s akutním infarktem myokardu měli vyšší hladinu MMP-9 v culpritu koronární tepně než v koronárním sinu nebo femorální tepně, což podporuje souvislost MMP-9 a nestabilního plátu spíše než souvislost s myokardiální nekrózou⁸⁴.

U pacientů s akutním koronárním syndromem bez elevací ST úseků Bittner a kol. zjistili korelaci mezi MDA jako markeru oxidativního stresu a MMP-9. Práce ve shodě s našimi závěry našla elevaci MMP-9 s poklesem během pětidenního sledovacího intervalu. Nebyly nalezeny změny v hladinách MMP-2⁸⁵.

Výše uvedená práce Kai a kol. popsala postupný pokles plasmatických hladin MMP-9 u pacientů s ACS po prvních 24 hodinách. V rozporu s naším zjištěním pozorovali vyšší hodnoty MMP-2, které poklesly během 24 hodin k normě a neměnily se během 7 dnů⁷⁵.

Galis a kol. u na myším modelu s deficitem MMP-9 prokázali snížení intimální hyperplazie a ztráty lumen a současně k nahromadění intersticiálního kolagenu⁸⁶. To podporuje možnost zvýšení mechanické stability tepen zvýšením obsahu kolagenu a snížení ztráty lumen ve spojitosti se snížením hladiny MMP-9.

U diabetiků a pacientů s akutním koronárním syndromem jsou pozorovány zvýšené hladiny MMP-2, MMP-9, TIMP-1 a TIMP-2 v porovnání se zdravými kontrolami⁸⁷. Zvýšené hladiny proto svědčí pro možnost podílu MMPs na vlastní patogeneze aterosklerózy⁸⁷.

Excesivní převaha lytických metaloproteináz nad jejich přirozenými inhibitory je popisována v nestabilním plátu s maximem v oblasti vulnerabilní čepičky. Toto nabízí možnou cestu inhibice nebo prevence progresu aterosklerózy a klinických příhod snížením produkce metaloproteináz nebo snížením jejich aktivace. Je tedy nutné najít mechanismus, který vede k navýšení exprese a zvýšeného uvolňování proenzymu nebo zvýšené extracelulární aktivaci.

S tímto souvisí potenciální terapeutické využití inhibice MMP. Přirozené inhibitory ale nejsou vhodné k farmakologické intervenci z důvodu jejich krátkého poločasu. Syntetické inhibitory MMPs, testované na zvířecích modelech, vykazovaly zlepšení funkce srdce blokadou progresu srdečního selhání⁸⁸.

8.2. sCD40L

Lidské endoteliální buňky, po stimulaci exprimují receptor CD40, následná interakce receptoru CD40 a ligandu CD40 indukuje tvorbu adhezních molekul⁸⁹. Zvýšené hladiny sCD40L jsou u pacientů s vysokým kardiovaskulárním rizikem spojeny s vyšším rizikem smrti nebo nefatálního akutního infarktu myokardu⁹⁰.

Zvýšená sérová hladina sCD40L u pacientů s akutním koronárním syndromem byla popsána v práci Aukrusta a kol. v roce 1999, autoři potvrdili vyšší hladiny solubilní formy i vyšší membránovou expresi CD40L u pacientů s nestabilní anginou pectoris⁹¹. Pacienti s akutním infarktem myokardu a nestabilní anginou pectoris mají na destičkách, v porovnání se stabilní ICHS, zvýšenou expresi CD40 ligandu⁹². Během šesti měsíců dochází k poklesu hladin solubilního ligandu CD40, ale pacienti s rekurencí anginy pectoris nebo nutností opakované koronární angioplastiky mají trvale zvýšené hodnoty⁹². V naší práci jsme zjistili zvýšené hladiny sCD40L ve skupině pacientů s akutním koronárním syndromem v porovnání s pacienty se stabilní ischemickou chorobou srdeční. Toto pozorování je ve shodě se stávající literaturou⁹¹. Zvýšené hodnoty u pacientů s akutním koronárním syndromem mohou být odrazem možného patogenního působení sCD40L u akutního koronárního syndromu, neboť sCD40L je významným aktivátorem MMPs v makrofázích a hladkých svalových buňkách, ale neovlivňuje expresi jejich inhibitorů – TIMP^{60, 93}.

Zvýšené hladiny sCD40L u pacientů s nestabilní anginou pectoris nejsou jen známkou imunitní aktivace, ale mohou být i patogenetickým faktorem. Cirkulující sCD40 může projít aterosklerózou postiženým endotelem a následnou aktivací leukocytů a uvolněním prozánětlivých cytokinů zvýšit expresi adhezních molekul a expresi tkáňového faktoru⁹³. Působí proaterogenně s následnou destabilizací aterosklerotického plátu indukci cytokinů, chemokinů, růstových faktorů a MMP⁹⁰.

Solubilní ligand CD40 je plně aktivní biologicky a je prozánětlivým působkem endotelových buněk a spouští koagulaci indukci exprese tkáňového faktoru na monocytech i endoteliích s přímým ovlivněním antikoagulačního efektu endotelu³³. Současně je solubilní CD40L glykoproteinový ligand pro IIb/IIIa receptor a destičkový agonista, který může být nezbytný pro stabilitu arteriálního trombu. Námi zjištěná korelace hladin sCD40L a TF u pacientů s akutním koronárním syndromem tak prokazuje vzájemnou interakci zánětlivého procesu vulnerabilního plátu a trombogenní aktivity.

Problémem je možnost zvýšení sCD40L nikoliv jako příčiny nestabilní anginy pectoris, ale jako důsledku akutního koronárního syndromu. Výrazné zvýšení sCD40L po mechanicky indukované ruptuře po perkutánní koronární angioplastice může napovídat, že zvýšené hodnoty sCD40L jsou sekundárním nálezem. Avšak skutečnost, že ruptura plátu způsobená koronární angioplastikou může vést k vzestupu sCD40, nevylučuje patogentickou etiologii pro CD40L v nestabilitě plátu. Navíc aktivované destičky produkují a uvolňují velké množství sCD40L. Trombinem stimulovanou sekreci sCD40L z trombocytů nelze plně blokovat podáním aspirinu⁹¹. Clopidogrel snižuje expresi CD40L a hladiny sCD40L⁹⁴. Nález zvýšeného transkoronárního gradientu u pacientů s AKS potvrzuje zdroj v koronárním řečišti, jsou odrazem trombotického procesu z aktivace trombocytů a tedy nutnost maximální suprese destičkové aktivity⁹⁵.

9. Závěry

Léčba akutního koronárního syndromu, zahrnující akutní infarkt myokardu a nestabilní anginu, byla v posledních 30 letech jedním z neúspěšnějších pokroků v medicíně. Avšak i nadále nejsme schopni predikovat a tedy i dostatečně preventivně zasáhnout v incidenci akutního infarktu myokardu.

Pacienti s rizikovými faktory, jako jsou hypertenze, diabetes, dyslipidémie a kouření, mají zvýšené plasmatické hladiny TF, solubilního ligandu CD40, MMP-9, které mohou být zapojeny jak do proaterosklerotického, tak do protrombotického procesu.

Tkáňový faktor má významnou funkci ve fyziologii a patofyziologii akutního koronárního syndromu. Dle našich výsledků dochází k zvýšené produkci tkáňového faktoru u akutního koronárního syndromu. Tento fakt může sloužit k upřesnění prognózy a nabízí se jako potenciální cíl k ovlivnění patogenetického faktoru stojícího na počátku koagulační kaskády, s možností podání např. protilátek proti TF, neaktivního faktoru VIIa nebo rekombinantního TFPI. Hladiny sCD40 souvisí s aktivitou destiček, transkoronární gradient ukazuje na výrazně zvýšenou aktivitu aterotrombotického procesu a dokládá nutnost maximální blokády destiček při akutním koronárním syndromu. Hladiny TF, sCD40 a hsCRP korelují a souvisí s aktivitou aterotrombotického procesu. Stejně tak MMP-9 koreluje s hsCRP. Změny sérových hladin MMP-9 odráží zvýšenou aktivitu lytického procesu plátu při akutním koronárním syndromu a podporují možný přímý vliv MMP-9 na indukci ruptury a vzniku nestabilního plátu. Nabízí se zabránit destabilizaci podáváním přirozeného inhibitoru, ale toto ještě není zcela vyjasněno. MMP-2 pravděpodobně nemá v průběhu akutního koronárního syndromu patogenetickou roli.

Práce prokazuje zvýšenou trombotickou aktivitu a zvýšenou aktivitu proteolytických enzymů u pacientů s akutním koronárním syndromem. Přispívá tak k dalšímu pochopení souvislosti dějů podílejících se na vzniku nestabilních forem ischemické choroby srdeční a vzniku nestability koronárního plátu s rizikem rozvoje akutního infarktu myokardu, porozumění patofyziologického mechanismu aterosklerózy s cílem optimalizace individuální léčby a přímého sledování reakce cévy.

10. Použitá literatura

- 1 Goldstein JA, Demetriou D, Grines C et al. Multiple complex coronary plaques in patients with acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2000; 343: 915-22.
- 2 Buffon A, Biasucci LM, Liuzzo G et al. Widespread coronary inflammation in unstable angina. *N Engl J Med* 2002; 347: 5-12.
- 3 Davies MJ. Reactive oxygen species, metalloproteinases, and plaque stability. *Circulation* 1993; 88: 800-3.

-
- 4 Corti R, Farkouh ME, Badimon JJ. The Vulnerable Plaque and Acute Coronary Syndromes. *Am J Med* 2002; 113: 668-80.
 - 5 Lafornt A. Basic aspects of plaque vulnerability. *Heart* 2003; 89: 1262-7.
 - 6 Starry HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al.: A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1995; 92: 1355-1374.
 - 7 Corti R, Farkouh ME, Badimon JJ. The Vulnerable Plaque and Acute Coronary Syndromes. *Am J Med* 2002; 113: 668-80.
 - 8 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* 199; 99: 1780-7.
 - 9 Corti R, Badimon JJ. Value of desirability of hemorheological-haemostatic parameter changes as endpoints in blood lipid-regulating trials. *Curr Opin Lipidol* 2001; 12: 629-37.
 - 10 Creemers EE, Cleutjens JP, Smits JF et al. Matrix metalloproteinase inhibition after myocardial infarction: A New Approach to prevent Heart Failure? *Circ Res* 2001; 89: 201-10.
 - 11 Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002; 90: 251-62.
 - 12 Brown DL, Hibbs MS, Kearney M et al. Identification of 92-kD gelatinase in human coronary atherosclerotic lesions. Association of active enzyme synthesis with unstable angina. *Circulation* 199; 91:2125-31.
 - 13 Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW et al. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994; 94: 2493-503.
 - 14 Nemerson Y. Tissue factor and hemostasis. *Blood* 1988; 71: 1-8.
 - 15 Schoenbeck U, Mach F, Sukhova GK et al. CD40 ligation induces tissue factor expression in human vascular smooth muscle cells. *Am J Pathol* 2000; 156: 7-14.
 - 16 Wilcox JN, Smith KM, Schwartz SM et al. Localization of tissue factor in the normal vessel wall and the atherosclerotic plaque. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 2839-43.
 - 17 Mallat Z, Hugel B, Ohan J et al. Shed membrane microparticles with procoagulant potential in human atherosclerotic plaques: A role for apoptosis in plaque thrombogenicity. *Circulation* 1999; 99: 348-53.
 - 18 Muller I, Klocke A, Alex M et al. Intravascular tissue factor initiates coagulation via circulating microvesicles and platelets. *FASEB J* 2003; 17: 476-8.
 - 19 Steffel J, Lüscher TF, Tanner FC. Tissue factor in cardiovascular diseases: molekular mechanisms and clinical implications. *Circulation* 2006; 113: 722-31.
 - 20 Selwyn A. Prothrombotic and antithrombotic pathways in Acute Coronary Syndromes. *Am J Cardiol* 2003; 91: 3H-11H.
 - 21 Sandset PM, Bendz B, Hansen JB. Physiological function of tissue factor pathway inhibitor and interaction with heparins. *Haemostasis* 2000; 30: 48-56.
 - 22 Petit L, Lesnik P, Datchet C et al. Tissue factor pathway inhibitor is expressed by human monocyte-derived macrophages: relationship to tissue factor induction by cholesterol and oxidized LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 199; 19: 309-15.
 - 23 Caplice NM, Mueske CS, Kleppe LS et al. Expression of tissue factor pathway inhibitor in vascular smooth muscle cells and its regulation by growth factor. *Circ Res* 1998; 83: 1264-70.
 - 24 Jesty J, Loren A, Rodriguez J et al. Initiation of the tissue factor pathway of coagulation in the presence of heparin: control by antithrombin III and tissue factor pathway inhibitor. *Blod* 1996; 87: 2301-7.

-
- 25 Crawley JTB, Lane DA. The Haemostatic Role of Tissue Factor Pathway Inhibitor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 233-42.
 - 26 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: 1362-73.
 - 27 Schonbeck U, Libby P. The CD40/CD154 receptor/ligand dyad. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58: 4-43.
 - 28 Alderson MR, Armitage RJ, Tough TW et al. CD40 expression by human monocytes: regulation by cytokines and activation of monocytes by the ligand for CD40. *J Exp Med* 1993; 178: 669-74.
 - 29 Hollenbaugh D, Mischel-Petty N, Edwards CP et al. Expression of functional CD40 by vascular endothelial cells. *J Exp Med* 1995; 182: 33-40.
 - 30 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.
 - 31 Graf D, Muller S, Korthauer U et al. A soluble form of TRAP (CD40 ligand) is rapidly released after T-cell activation. *Eur J Immunol* 1995; 25: 1749-54.
 - 32 Lee Y, Lee WH, Lee SC et al. CD40L activation in circulating platelets in patients with acute coronary syndrome. *Cardiology* 1999; 92: 11-6.
 - 33 Mach F, Schonbeck U, Bonnefoy JY et al. Activation of monocyte/macrophage function related to acute atheroma complication by ligation of CD40: induction of collagenase, stromelysin and tissue factor. *Circulation* 1997; 96: 396-9.
 - 34 Zhou L, Stordeur P, de Lavarelle A et al. CD40 engagement on endothelial cells promotes tissue factor-dependent procoagulant activity. *Thromb Haemost.* 1998; 79: 1025-8.
 - 35 Schonbeck U, Mach F, Sukhova GK et al. Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vascular smooth muscle cells by T lymphocytes: a role for CD40 signaling in plaque rupture? *Circ Res* 1997; 81: 448-54.
 - 36 Miller DL, Yaron R, Yellin MJ. CD40L-CD40 interactions regulate endothelial cell surface tissue factor and thrombomodulin expression. *J Leukoc Biol* 1998; 63: 373-9.
 - 37 Marmur JD, Thiruvikraman SV, Fyfe BS. Identification of active tissue factor in human atherosclerotic plaques in human coronary atheroma. *Circulation* 1996; 94: 1226-32.
 - 38 Ardissino D, Merlini PA, Ariens R et al. Tissue-factor antigen and activity in human coronary atherosclerotic plaques. *Lancet* 1997; 349: 769-71.
 - 39 Maier W, Altwegg LA, Corti R et al. Inflammatory markers at the site of ruptured plaque in acute myocardial infarction: locally increased interleukin-6 and serum amyloid A but decreased C-reactive protein. *Circulation* 2005; 111: 1355-61.
 - 40 Saigo M, Abe S, Ogawa M et al. Imbalance of plasminogen activator inhibitor-I/tissue plasminogen activator and tissue factor/tissue factor pathway inhibitor in young Japanese men with myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2001; 86: 1197-203.
 - 41 Soejima H, Ogawa H, Yasue H et al. Heightened tissue factor associated with tissue factor pathway inhibitor and prognosis in patients with unstable angina. *Circulation* 1999; 99: 2908-13.
 - 42 Kim HK, Song KS, Park YS et al. Changes of plasma tissue factor and tissue factor pathway inhibitor antigen levels and induction of tissue factor expression on the monocytes in coronary artery disease. *Cardiology* 2000; 93: 31-6.
 - 43 Maly M, Vojacek J, Hrabos V et al. Tissue factor, tissue factor pathway inhibitor and cytoadhesive molecules in patients with an acute coronary syndrome. *Physiol Res* 2003; 52, 719-28.
 - 44 Sambola A, Osende J, Hathcock J et al. Role of risk factors in the modulation of tissue factor activity and blood thrombogenicity. *Circulation* 2003; 107: 973-7.

-
- 45 Keller TT, Nagel C, Te Velthuis H et al. Tissue factor serum levels and the risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women: the EPIC-Norfolk prospective population study. *Circ Res* 2006; 99: 1261-9.
 - 46 Steppich B, Mattisek Ch, Sobczyk D et al. Tissue factor pathway inhibitor on circulating microparticles in acute myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2005; 93: 35-9.
 - 47 Molero L, Lopez-Farre A, Mateos-Caceres PJ et al. Effect of clopidogrel on the expression of inflammatory markers in rabbit ischemic coronary artery. *Br J Pharmacol* 2005; 146: 419-24.
 - 48 Steiner S, Seidinger D, Huber K et al. Effect of glycoprotein IIb/IIIa antagonist abciximab on monocyte-platelet aggregates and tissue factor expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1697-702.
 - 49 Scholz T, Zhao L, Temmler U et al. The GPIIb/IIIa antagonist eptifibatid markedly potentiates platelet-leukocyte interaction and tissue factor expression following platelet activation in whole blood in vitro. *Platelets* 2002; 13: 401-6.
 - 50 Ahmad S, Jeske WP, Ma Q et al. Inhibition of tissue factor –activated platelets by low-molecular weight heparins and glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonist. *Throm Res* 2001; 102: 143-51.
 - 51 Osnes LT, Foss KB, Joo GB et al. Acetylsalicylic acid and sodium salicylate inhibits LPS-induced NF-kappa B/c-Rel nuclear translocation and synthesis of tissue factor (TF) and tumor necrosis factor alfa (TNF-alpha) in human monocytes. *Thromb Haemost* 1996; 76: 970-6.
 - 52 Suefuji H, Ogawa H, Yasue H et al. Increased plasma tissue factor levels in acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1997; 134: 253-9.
 - 53 Misumi K, Ogawa H, Yasue H et al. Comparison of plasma tissue factor levels in unstable and stable angina pectoris. *Am J Cardiol* 1998; 81: 22-6.
 54. Maly M, Hrachovinova I, Tomasov P et al. Patients with acute coronary syndromes have low tissue factor activity and microparticle count but normal concentration of tissue factor antigen in platelet free plasma: a pilot study. *Eur J Haematol* 2009; 82: 148-53.
 - 55 Steffel J, Lüscher TF, Tanner FC. Tissue factor in cardiovascular diseases: molekular mechanisms and clinical implications. *Circulation* 2006; 113: 722-31
 - 56 Vojacek J, Sevcikova H, Sevcik R et al. Increased platelet residual activity in patients treated with acetosalicylic acid is associated with increased tissue factor and decreased tissue factor pathway inhibitor plasma levels. *Int J Cardiol* 2011; 146: 479-81.
 - 57 Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1686-95.
 - 58 Tosojima K, Schwab C, McGeer EG et al. Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am J Clin Pathol* 2001; 115: 1039-51.
 - 59 Cirillo P, Golino P, Calabro P et al. C-reactive protein induces tissue factor expression and promotes smooth muscle and endothelial cell proliferation. *Cardiovas Res* 2005; 68: 47-55.
 - 60 Mach F, Schönbeck U, Bonnefoy JY et al. Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atheroma complication by ligation of CD40. *Circulation* 1997; 96: 396-9.
 - 61 Yamamoto N, Ogawa H, Oshima S et al. The effect of heparin on tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in patients with acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2000; 75: 267-74
 - 62 Li A, Wun TC. Proteolysis of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) by plasmin: effect of TFPI activity. *Thromb Haemost* 1998; 80: 423-7.

-
- 63 Morange PE, Blankenberg S., Alessi MC et al. Prognostic value of plasma tissue factor and tissue factor pathway inhibitor for cardiovascular death in patients with coronary artery disease: The AtheroGene study. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 475-82.
 - 64 Morange PE, Simon C, Alessi MC et al. Endothelial cell markers and risk of coronary heart disease: the Prospective Epidemiological Study of myocardial Infarction (PRIME) study. *Circulation* 2004; 109: 1343-8.
 - 65 Abendschein DR, Meng YY, Torr-Brown S et al. Maintenance of coronary patency after fibrinolysis with tissue factor pathway inhibitor. *Circulation*. 1995; 92: 944-9.
 - 66 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: 1780-7.
 - 67 Nishida T, Ueno H, Atsuchi N et al. Adenovirus-mediated local expression of human tissue factor pathway inhibitor eliminates shear stress-induced recurrent thrombosis in the injured carotid artery of the rabbit. *Circ Res* 1999; 84: 1446-52.
 - 68 Zoldeyi 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: 4078-83.
 - 69 Zhang Y, Cliff WJ, Schoebl GI et al. Immunohistochemical study of intimal microvessels in coronary atherosclerosis. *Am J Pathol* 1993; 143: 167-72.
 - 70 Hanemaaijer R, Koolwijk P, le Crecq L et al. Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vein and microvascular endothelial cells. Effects of tumour necrosis factor alpha, interleukin 1 and phorbol ester. *Biochem J* 1993; 296: 803-9.
 - 71 Tayebjee M, Nadar S, Blann AD et al. Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in hypertension: relationship to cardiovascular risk and treatment: a substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial (ASCOT). *Am J Hypertens* 2004; 17: 764-9
 - 72 Maxwell PR, Timms PM, Cahndran S et al. Peripheral blood level alterations of TIMP-1, MMP-2 and MMP-9 in patients with type 1 diabetes. *Diabet Medicine* 2001; 18: 777-80.
 - 73 Nakazawa T, Chiba T, Kaneko E et al. Insulin signalling in arteries prevents smooth muscle apoptosis. *Arterioscler Thomb Vasc Biol* 2005; 25: 760-5.
 - 74 Tayebjee MH, Lip GYH, Tan KT et al. Plasma matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-2, and CD40 ligand levels in patients with stable coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2005; 96: 339-45.
 - 75 Kai H, Ikeda H, Yasukawa H et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32: 368-72
 - 76 Inokubo Y, Hanada H, Ishizaka H et al. Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 are increased in the coronary circulation in patients with acute coronary syndrome. *Am Heart J* 2001; 141: 211-7.
 - 77 Ferroni P, Basili S, Martini F et al. Serum metalloproteinase 9 levels in patients with coronary artery disease: a novel marker of inflammation. *J Invest Med* 2003; 51:295-300.
 - 78 Eckart RE, Uyehara CF, Shry EA et al. Matrix metalloproteinases in patients with myocardial infarction and percutaneous revascularization. *J Interv Cardiol* 2004; 17: 27-31
 - 79 Derosa G, Cicero AF, Scalise F et al. Metalloproteinase-2 and -9 in diabetic and nondiabetic subjects during acute coronary syndromes. *Endothelium*. 2007; 14: 45-51.

-
- 80 Brown DL, Hibbs MS, Kearney M et al. Identification of 92-kD gelatinase in human coronary atherosclerotic lesions. Association of active enzyme synthesis with unstable angina. *Circulation* 1995; 91: 2125-31.
- 81 Zeng B, Prasan A, Fung KC et al. Elevated circulating levels of matrix metalloproteinase-9 and -2 in patients with symptomatic coronary artery disease. *Intern Med J* 2005; 35: 331-5.
- 82 Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, Libby P.: Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest* 1994; 90: 775-778.
- 83 Fukuda D, Shimada K, Tanaka A, Kusuyama T, Yamashita H, Ehara S, Nakamura Y, Kawarabayashi T, Iida H, Yoshiyama M, Yoshikawa J.: Comparison of Levels of Serum Matrix Metalloproteinase-9 in Patients With Acute Myocardial Infarction Versus Unstable Angina Pectoris Versus Stable Angina Pectoris. *Am Journal Cardiol* 2006; 97(2): 175-180.
- 84 Higo S, Uematsu M, Yamagishi M, et al.: Elevation of plasma matrix metalloproteinase-9 in the culprit coronary artery in patients with acute myocardial infarction: clinical evidence from distal protection. *Circ J* 2005; 69: 1180-1185.
- 85 Bittner A, Alcaino H, Castro PF, Pérez O, Corbalán R, Troncoso R, Chiong M, Rosemarie M, Moraga F, Zanolli D, Winter JL, Zamorano JJ, Díaz-Araya G, Lavandero S.: Matrix metalloproteinase-9 activity is associated to oxidative stress in patients with acute coronary syndrome. *Int Journ Cardiol* 2008; 143(1):98-100.
- 86 Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinase in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad and the ugly. *Circulation Res* 2002; 90: 251-262.
- 87 Derosa G, D'Angelo A, Scalise F, Avanzini MA, Tinelli C, Peros E, Fogari E, Cicero AFG.: Comparison between metalloproteinases-2 and -9 in healthy subjects, diabetics and subjects with acute coronary syndrome. *Heart Vessels* 2007; 22: 361-370.
- 88 Spinale FG, Coker ML, Krombach SR et al.: Matrix metalloproteinase inhibition during the development of congestive heart failure: effects on left ventricular dimensions and function. *Circ Res* 1999; 85: 364-376.
- 89 Hollenbaugh D, Mischel-Petty N, Edwards CP, Simons JC, Denfeld RW, Kiener PA, Aruffo A. Expression of functional CD40 by vascular Endothelial cells. *J Exp Med* 1995; 182: 33-40.
- 90 Heeschen CH, Dimmeler S, Hamm W et al. Soluble CD40 Ligand in Acute Coronary Syndromes. *NEJM* 2003; 348: 1104-11
- 91 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: 614-620.
- 92 Garlich C D, Eskafi S, Raaz D, et al.: Patients with acute coronary syndromes express enhanced CD40 ligand/CD154 on platelets. *Heart* 2001; 86: 649-655.
- 93 Schönbech U, Mach F, Sukhova GK, Murphy C, Bonnefoy J-Y, Fabunmi RP, Libby P. REGulation of matrix metalloproteinase expression in human vascular smooth muscle cells by T lymphocytes: a role for CD40 signaling in plaque rupture? *Circ Res.* 1997; 81: 448-454.
- 94 Yip HK, Chang LT, Sun CK et al.: Impact of clopidogrel on suppression of circulating levels of soluble CD40 ligand in patients with unstable angina undergoing coronary stenting. *Am J Cardiol* 2006; 97: 192-194.
- 95 Vojáček J, Bis J, Dušek J et al. Tkáňový faktor a solubilní liganda CD40 u nemocných s akutním koronárním syndromem. *Cor et Vasa* 2007; 49: 152-154.

11. Přehled publikační činnosti

11.1. *Původní články v časopise s IF*

1. DUŠEK, J., ŠTÁSEK, J., TICHÝ, M., BIS, J., GREGOR, J., VOJÁČEK, J., MAŠÍN, V., POLANSKÝ, P., BRŤKO, M., ČERNOHORSKÝ, D. Prognostic significance of ischemia modified albumin after percutaneous coronary intervention. *Clin. Chim. Acta*, 2006, roč. 367, č. 1-2, s. 77-80. **IF 2.149.**
2. PLESKOT, M., BABU, A., HAZUKOVÁ, R., STRŽÍTECKÝ, J., BIS, J., MATĚJKA, J., ČERMÁKOVÁ, E. Out-of-hospital cardiac arrests in patients with acute ST elevation myocardial infarctions in the East Bohemian region over the period 2002-2004. *Cardiology*, 2008, roč. 109, č. 1, s. 41-51. **IF 1.795.**
3. VOJÁČEK, J., DUŠEK, J., BIS, J., ŠTÁSEK, J., BLAŽEK, M. Plasma tissue factor in coronary artery disease. Further step to the understanding of the basic mechanisms of coronary artery thrombosis. *Physiol. Res.*, 2008, roč. 57, č. 1, s. 1-5. **IF 1.505.**
4. **BIS, J., VOJÁČEK, J., DUŠEK, J., PECKA, M., PALIČKA, V., ŠTÁSEK, J., MALÝ, J. Time-course of tissue factor plasma level in patients with acute coronary syndrome. *Physiol. Res.*, 2009, roč. 58, č. 5, s. 661-667. IF 1.653.**
5. CHEK, J., DUŠEK, J., ŠTÁSEK, J., VOJÁČEK, J., BIS, J., ULRYCHOVÁ, M., TICHÝ, M., TOMKO, T., BUKAČ, J. Role of ischemia-modified albumin in estimating the extent and scope of cardiac ischemia in patients with ST elevation myocardial infarction. *Heart Vessels*, 2011, roč. 26, č. 6, s. 622-627 **IF 1.882.**
6. ŠEVČÍKOVÁ, H., VOJÁČEK, J., BIS, J., ŠEVČÍK, R., MALÝ, J., PECKA, M., FÁTOROVÁ, I. Good short-term but not long-term reproducibility of the antiplatelet efficacy laboratory assessment. *Clin. Appl. Thromb. Hemost.*, 2011, e-publication ahead **IF 1.476. v tisku**
7. VOJÁČEK, J., ŠEVČÍKOVÁ, H., ŠEVČÍK, R., BIS, J., PECKA, M. Increased platelet residual activity in patients treated with acetylosalicylic acid is associated with increased tissue factor and decreased tissue factor pathway inhibitor plasma levels. *Int. J. Cardiol.*, 2011, roč. 146, č. 3, s. 479-481. **IF 6.802.**

11.2. *Ostatní publikace s IF*

1. HLADÍK, P., RAUPACH, J., LOJÍK, M., KRAJINA, A., VOBOŘIL, Z., JON, B., ŠIMKOVIČ, D., HAVEL, E., BIS, J., BĚLOBRÁDEK, Z. TREATMENT OF ACUTE MESENTERIC THROMBOSIS/ISCHEMIA BY TRANSCATHETER THROMBOASPIRATION. SURGERY, 2005, ROČ. 137, Č. 1, S. 122-123. **IF 2.355.**
2. ŠTÁSEK, J., POLANSKÝ, P., BIS, J., BRŤKO, M., KLZO, L., BABU, A., VOJÁČEK, J. The percutaneous closure of a large pseudoaneurysm of the ascending aorta with an atrial septal defect Amplatzer occluder: Two-year follow-up. *Can. J. Cardiol.*, 2008, roč. 24, č. 12, s. E99-E101. **IF 1.422.**
3. ŠTÁSEK, J., LOJÍK, M., BIS, J., HORÁK, D., DUŠEK, J., BRŤKO, M., POLANSKÝ, P., BABU, A., VOJÁČEK, J. Transcatheter closure of a chronic iatrogenic arteriovenous fistula between the carotid artery and the brachiocephalic vein with an amplatzer duct occluder in combination with a carotid stent. *Cardiovasc. Interv. Radiol.*, 2009, roč. 32, č. 3, s. 568-571. **IF 1.949.**
4. VOJÁČEK, J., BIS, J., DOMINIK, J., ŠTÁSEK, J., HOLUBEC, T., ŽÁČEK, P., HARRER, J. Left coronary artery compression caused by a false aneurysm expansion after perforation of type A aortic dissection. *J. Cardiac Surg.*, 2010, roč. 25, č. 1, s. 72-73. **IF 0.754.**

11.3. Článek v jiném recenzovaném periodiku

5. **BIS, J., ŠTÁSEK, J., PLESKOT, M. Současné trendy v léčbě ischemické choroby srdeční. *Iatrike Techne*, 2002, roč. 1, č. 6, s. 15-17.**
6. BRTKO, M., POLANSKÝ, P., ŠTÁSEK, J., ČERNOHORSKÝ, D., ČERVINKA, P., BIS, J. Perkutánní koronární intervence u pacientů po chirurgické revaskularizaci myokardu. Porovnání diabetiků a nediabetiků. *CARDIO3*, 2002, roč. 3, č. 6, s. 1-4.
7. DUŠEK, J., KRÁL, B., GREGOR, J., BRADNA, P., ŠTÁSEK, J., HRNČÍŘ, Z., BIS, J. Syndrom Churga-Straussové - vzácné onemocnění s různorodým průběhem. Kazuistiky čtyř případů. *Lék. Zprávy LF UK Hradec Králové*, 2003, roč. 48, č. 3-4, s. 127-135.
8. DUŠEK, J., ŠTÁSEK, J., BIS, J. Drug-eluting stents in ESC congress 2003. *Acta Medica (Hradec Králové)*, 2004, roč. 47, č. 1, s. 63.
9. KRÁL, B., ŠTÁSEK, J., ČERVINKA, P., BIS, J. Obstrukce dýchacích cest u pacientů s primární plicní hypertenzí. *Studia Pneumol. Phtiseol. Cechoslovaca*, 2004, roč. 64, č. 1, s. 15-16.
10. POLANSKÝ, P., BRTKO, M., ŠTÁSEK, J., ČERVINKA, P., BIS, J., ČERNOHORSKÝ, D. Perkutánní koronární intervence u pacientů po předchozí chirurgické revaskularizaci myokardu. Srovnání diabetiků a nediabetiků. *Lék. Zprávy LF UK Hradec Králové*, 2004, roč. 49, č. 5-6, s. 229.
11. VOJÁČEK, J., BIS, J., ŠTÁSEK, J., DUŠEK, J. Lze identifikovat 'culprit lesion' u akutního koronárního syndromu? *Interv. Akut. Kardiol.*, 2004, roč. 3, suppl. C, s. C22-C23.
12. BRTKO, M., ŠTÁSEK, J., POLANSKÝ, P., BIS, J., ČERNOHORSKÝ, D., VOJÁČEK, J., ČERVINKA, P. Primární úspěšnost a střednědobý efekt perkutánní koronární intervence u diabetiků s anamnézou chirurgické revaskularizace myokardu; porovnání s nediabetiky. *Interv. Akut. Kardiol.*, 2005, roč. 4, č. 3, s. 142-147.
13. DUŠEK, J., BIS, J., KRAJINA, A., SOLAŘ, M., ŠTÁSEK, J., ŘEZÁČOVÁ, J., VOJÁČEK, J. Ruptura arteria pulmonalis s masivní hemoptoi úspěšně řešená embolizací spirálami. *Interv. Akut. Kardiol.*, 2005, roč. 4, č. 4, s. 250.
14. DUŠEK, J., TICHÝ, M., ŠTÁSEK, J., BIS, J., GREGOR, J., PUDIL, R., VOJÁČEK, J. Ischémii modifikovaný albumin: nový marker ischémie myokardu. *Čas. Lék. čes.*, 2005, roč. 144, č. 5, s. 295-297.
15. ŠTÁSEK, J., ČERNOHORSKÝ, D., BIS, J., BRTKO, M., POLANSKÝ, P., VOJÁČEK, J. Komplikované koronární intervence. Kdy ještě? Kdy již ne? *Interv. Akut. Kardiol.*, 2005, roč. 4, č. 2, s. 98-102.
16. VOJÁČEK, J., BIS, J., HRUBÁ, I., POLANSKÝ, P., SOLAŘ, M., HARRER, J., ŠTÁSEK, J. Použití katetrizačně zavedené mechanické podpory levé komory srdeční při PTCA kmene levé věnčité tepny u nemocného v kardiogenním šoku při akutním infarktu myokardu. *Cor et Vasa*, 2005, roč. 47, č. 12, s. 477-482.
17. VOJÁČEK, J., BIS, J. Kardiogenní šok u akutního infarktu myokardu - Co víme v roce 2005? *Čas. Lék. čes.*, 2005, roč. 144, suppl. 3, s. 30-32.
18. **BIS, J., POLANSKÝ, P., VOJÁČEK, J., KLZO, L., ŠTÁSEK, J., DUŠEK, J., BRTKO, M. Tako-tsubo kardiomyopatie. *Interv. Akut. Kardiol.*, 2006, roč. 5, č. 5, s. 227-230.**
19. HRUBÁ, I., BIS, J., POLANSKÝ, P., VOJÁČEK, J., PELOUCH, R., SOLAŘ, M. Spontánní disekce koronárních tepen. *Cor et Vasa*, 2006, roč. 48, č. 10, s. 351-356.
20. KOHOUTOVÁ, D., ŠTEINER, I., BIS, J., NOVÁK, V., PLESKOT, M., PRAUS, R., BARTOŇ, P. Prorůstání karcinomu jater do dolní duté žíly a pravé síně srdeční. *Lék. Zprávy LF UK Hradec Králové*, 2006, roč. 51, č. 3, s. 249-254.

21. DUŠEK, J., ALMAWIRI, A., BIS, J., ŠTÁSEK, J., VOJÁČEK, J., KRAJINA, A., SOLAŘ, M., ŘEZÁČOVÁ, J. Komplikace zavádění Swan-Ganzova katetru. *CARDIO3*, 2007, roč. 2007, č. 5, s. C01.
22. PELOUCH, R., BIS, J., NOVÁK, V., SOLAŘ, M., VOJÁČEK, J., HRUBÁ, I. Kardiogenní šok při obstrukci chlopní náhrady v aortální pozici. *Interv. Akut. Kardiol.*, 2007, roč. 6, č. 5-6, s. 188-191.
23. ŠEVČÍK, R., VOJÁČEK, J., BIS, J., DUŠEK, J., ŠTÁSEK, J., PUDIL, R. CD40 soluble ligand and acute coronary syndromes. *Interv. Akut. Kardiol.*, 2007, roč. 6, č. 2, s. 61-64.
24. VOJÁČEK, J., BIS, J., DUŠEK, J., PALÍČKA, V., ANDRÝS, C., PECKA, M., MALÝ, J. Tkáňový faktor a solubilní liganda CD40 u nemocných s akutním koronárním syndromem. *Cor et Vasa*, 2007, roč. 49, č. 4, s. 152-154.
25. **BIS, J., POLANSKÝ, P., ŠTÁSEK, J., DUŠEK, J., VOJÁČEK, J., BRTKO, M. Akutní koronární syndrom v důsledku spontánní koronární disekce. *Cor et Vasa*, 2008, roč. 50, č. 11, s. 437-438.**
26. BRTKO, M., ŠTÁSEK, J., VOJÁČEK, J., POLANSKÝ, P., TUNA, M., PRAUS, R., MĚDÍLEK, K., BIS, J., DUŠEK, J. Hypertrofická kardiomyopatie - současné možnosti léčby. *Interv. Akut. Kardiol.*, 2008, roč. 7, č. 3, s. 100-105.
27. KNOT, J., BIS, J., ROKYTA Jr., R., ŠTÁSEK, J., WIDIMSKÝ, P. Coronary artery ectasia. *Cor et Vasa*, 2008, roč. 50, č. 12, s. 455-459.
28. SOLAŘ, M., KLZO, L., ŽIŽKA, J., CERAL, J., BIS, J. Comparison of magnetic resonance imaging and cardiac catheterization in patients with suspected severe aortic stenosis. *Acta Medica (Hradec Králové)*, 2008, roč. 51, č. 3, s. 197-200.
29. ŠEVČÍK, R., DOMINIK, J., BIS, J., DĚDEK, V., MĚŠŤAN, M., RADOCHA, J., TUNA, M. Trobembolktómia obrovského trombu z pravej predsene a vetiev artera pulmonalis. *Interv. Akut. Kardiol.*, 2007, roč. 6, č. 2, s. 70-72.
30. ŠEVČÍK, R., VOJÁČEK, J., BIS, J., ŠEVČÍKOVÁ, H., DUŠEK, J., ŠTÁSEK, J. Klasifikácia krvácavých komplikácií antitrombotickej liečby u kardiologických pacientov. *Interv. Akut. Kardiol.*, 2008, roč. 7, č. 1, s. 21-23.
31. BARTOŠ, V., SALAJKA, F., ŠTÁSEK, J., BIS, J., BRTKO, M. Lze stanovit tíži plicní hypertenze u plicních fibróz pomocí funkčního vyšetření plic? In *Pneumologie, ftizeologie a ošetrovatelství*. Hradec Králové: Nadační fond pro léčbu a výzkum plicních a přidružených onemocnění, 2009, s. 53-54.
32. HARRER, J., VOJÁČEK, J., ŠTÁSEK, J., VOJÁČEK, J., BIS, J., BRTKO, M., POLANSKÝ, P., VEJBĚRA, M., ENDRYS, J., HOLUBEC, T., THIELMANN, M. První zkušenosti s transapikální implantací chlopně u nemocných s aortální stenózou. *Interv. Akut. Kardiol.*, 2009, roč. 8, č. 2, s. 100-104.
33. ŠEVČÍKOVÁ, H., VOJÁČEK, J., PUDIL, R., ŠTÁSEK, J., BIS, J., ŠEVČÍK, R., MALÝ, J., DULÍČEK, P., PECKA, M., FÁTOROVÁ, I. Failure of therapy or resistance to antiplatelet drugs? *Cor et Vasa*, 2009, roč. 51, č. 1, s. 41-44.
34. ŠTÁSEK, J., VOJÁČEK, J., BIS, J., VOJÁČEK, J., BRTKO, M., POLANSKÝ, P., VEJBĚRA, M., HARRER, J., DUŠEK, J., ČERNOHORSKÝ, D., COLOMBO, A. První zkušenost s perkutánní transfemorální implantací chlopně Edwards SAPIEN tm u nemocných s aortální stenózou. *Interv. Akut. Kardiol.*, 2009, roč. 8, č. 1, s. 47-51.
35. VOJÁČEK, J., ŠEVČÍKOVÁ, H., ŠEVČÍK, R., BIS, J., DUŠEK, J., ŠTÁSEK, J., PECKA, M. Nedostatečná účinnost antitrombotické léčby – klinické souvislosti a současné názory na její laboratorní hodnocení. *Interv. Akut. Kardiol.*, 2009, roč. 8, č. 6, s. 302-306.

36. VOJÁČEK, J., ŠTÁSEK, J., BIS, J., BRTKO, M., VOJÁČEK, J., HARRER, J. Katetrizační implantace aortální chlopně. *Kardiolog. Rev.*, 2009, roč. 11, č. 3, s. 143-147.
37. **BIS, J. Katetrová léčba aortální stenózy, indikace a selekční kritéria pro chlopně Edwards Sapien TM. *Interv. Akut. Kardiolog.*, 2010, roč. 9, č. 2, s. 90-93.**
38. BRTKO, M., VOJÁČEK, J., ŠTÁSEK, J., VOJÁČEK, J., POLANSKÝ, P., TUNA, M., BIS, J., DUŠEK, J. Alkoholová septální ablace vs. chirurgická myektomie v léčbě hypertrofické obstrukční kardiomyopatie. *Interv. Akut. Kardiolog.*, 2010, roč. 9, č. 1, s. 20-26.
39. DUŠEK, J., CHEK, J.L., ŠTÁSEK, J., BIS, J., VAŠATOVÁ, M., VOJÁČEK, J. Markery myokardiální ischemie: slepá ulička nebo budoucnost laboratorní diagnostiky v kardiologii? *Interv. Akut. Kardiolog.*, 2010, roč. 9, č. 4, s. 190-194.
40. HARRER, J., VOJÁČEK, J., ŠTÁSEK, J., VOJÁČEK, J., BIS, J., HOLUBEC, T., BRTKO, M., POLANSKÝ, P. Transapikální implantace aortální chlopně při řešení degenerativní aortální stenózy. *Cor et Vasa*, 2010, roč. 52, č. 5-6, s. 325-331.
41. HARRER, J., VOJÁČEK, J., ŠTÁSEK, J., VOJÁČEK, J., BIS, J., BRTKO, M., POLANSKÝ, P., HOLUBEC, T. Zkušenosti s transapikální implantací aortální chlopně. *Interv. Akut. Kardiolog.*, 2010, roč. 9, č. 2, s. 107-110.
42. ŠTÁSEK, J., BIS, J., VOJÁČEK, J., VOJÁČEK, J., BRTKO, M., POLANSKÝ, P., VEJBĚRA, M., HARRER, J., DUŠEK, J., ČERNOHORSKÝ, D. Implantace balonem nesené chlopně Edwards Sapien TM u nemocných s aortální stenózou. *Interv. akut. Kardiolog.*, 2010, roč. 9, č. 2, s. 100-104.
43. ŠTÁSEK, J., BIS, J., VOJÁČEK, J., BRTKO, M., POLANSKÝ, P., VEJBĚRA, M., DUŠEK, J., ČERNOHORSKÝ, D. Perkutánní transluminální balonková valvuloplastika u nemocných s kalcifikovanou aortální stenózou. *Interv. Akut. Kardiolog.*, 2010, roč. 9, suppl. B, s. 5-8.
44. ŠTÁSEK, J., VOJÁČEK, J., BIS, J., BRTKO, M., POLANSKÝ, P., DUŠEK, J., ČERNOHORSKÝ, D., HARRER, J., VOJÁČEK, J. Perkutánní implantace aortální chlopně – první zkušenosti ve FN Hradec Králové. In *Miniinvazivní metody ve vnitřním lékařství 2009*. 1. vyd. Hradec Králové: HK Credit, 2010, s. 97-99. ISBN 978-80-86780-44-3.
45. RAUPACH, J., VOJÁČEK, J., LOJÍK, M., KRAJINA, A., BIS, J., CHOVANEC, V., HARRER, J., TUNA, M., MALÝ, R. Endovaskulární léčba akutních stavů hrudní aorty: dlouhodobé zkušenosti. *Interv. Akut. Kardiolog.*, 2011, roč. 10, č. 4, s. 154-162.
46. DUŠEK, J., BRTKO, M., ŠTÁSEK, J., BIS, J., VOJÁČEK, J., POLANSKÝ, P., ČERNOHORSKÝ, D. Tromboembolické a krvácivé komplikace u nositelů chlopnenních protéz. *Interv. Akut. Kardiolog.*, 2011, roč. 10, č. 4, s. 176-181.
47. ŠEVČÍKOVÁ, H., VOJÁČEK, J., BIS, J., ŠEVČÍK, R. Hodnocení účinnosti kyseliny acetylsalicylové u osob s chronickou ischemickou chorobou srdeční. *Interv. Akut. Kardiolog.*, 2011, roč. 10, č. 2, s. 58-60.
48. VOJÁČEK, J., ŠTÁSEK, J., BIS, J., HARRER, J., VOJÁČEK, J., BRTKO, M., POLANSKÝ, P., DUŠEK, J., VEJBĚRA, M., KOVALSKÝ, J. Dvouleté zkušenosti s transkatetrizací aortální chlopně (TAVI) v Komplexním kardiocentru Hradec Králové. *Interv. Akut. Kardiolog.*, 2011, roč. 10, č. 1, s. 9-12.

11.4. Článek ve sborníku

1. HODAČ, M., PAŘÍZEK, P., BIS, J., PLESKOT, M. Možnosti léčby neurokardiogenní synkopy. In *Miniinvazivní metody ve vnitřním lékařství 2005*. Hradec Králové: HK Credit, 2006, s. 6-8.

2. HODAČ, M., PAŘÍZEK, P., BIS, J. Synkopy – diagnostický přístup. In *Miniinvazivní metody ve vnitřním lékařství 2006*. Hradec Králové: HK Credit, 2007, s. 43-45.
3. **BIS, J., ŠTÁSEK, J., DUŠEK, J., POLANSKÝ, P., VOJÁČEK, J., BRTKO, M., KRAJINA, A., LOJÍK, M., ŽIŽKA, J., KLZO, L., FRIDRICH, J., PUDIL, R., PRAUS, R. Méně obvyklé nekoronární intervence. In *Miniinvazivní metody ve vnitřním lékařství 2007*. Hradec Králové: HK Credit, 2008, s. 43-44.**
4. DUŠEK, J., ŠTÁSEK, J., BIS, J., VOJÁČEK, J., BRTKO, M., POLANSKÝ, P., ČERNOHORSKÝ, D. Ne každé elevace znamenají infarkt, ne každý infarkt musí být z trombozy na plátu. In *Miniinvazivní metody ve vnitřním lékařství 2009*. 1. vyd. Hradec Králové: HK Credit, 2010, s. 11-12. ISBN 978-80-86780-44-3.

11.5. *Přednášky na odborných setkáních*

1. BIS, J., PIDRMAN, V., ZADÁK, Z., BRÁTOVÁ, M. Antioxidanty při akutním infarktu myokardu, X. Výroční sjezd České kardiologické společnosti, Brno, 19.-22. května 2002
2. BIS, J., VOJÁČEK, J., DUŠEK, J., ŠTÁSEK, J., PECKA, M., ANDRÝS, C. Tkáňový faktor, metaloproteinázy a solubilní liganda CD40 u pacientů s akutním koronárním syndromem. XV Výroční sjezd České kardiologické společnosti. Brno, 13-16. května 2007