

## Chronobiologické aspekty v hematológii

Švorc P., Švorcová E.<sup>1</sup>

Ústav fyziológie, Lekárska fakulta UPJŠ, <sup>1</sup>Klinika hematológie a onkohematológie, Univerzitná nemocnica L. Pasteura, tr. SNP 1, Košice

### Súhrn

Človek je počas celého života vystavený periodicitám vonkajšieho prostredia, ku ktorým sa synchronizujú prakticky všetky jeho funkcie. Najviac sú skúmané cirkadiánne rytmy (24-hodinové rytmy) a boli dokázané aj v oblasti hematológie. Detailné porozumenie cirkadiánnemu časovaniu v kolísaní hematologických funkcií u zdravého človeka môže mať aj klinický dopad. V súčasnosti sa napríklad čoraz viac dostávajú do popredia informácie, že zmeny v cirkadiánných osciláciách hemostatického systému môžu viesť k poruchám, ktoré majú za následok hyperkoaguláciu, alebo hypokoaguláciu. Premenné, ktoré sa zúčastňujú na hemostáze vzájomne na seba pôsobia. Ich časovanie a fázové vzťahy môžu prispievať k udržaniu rovnováhy medzi prokoagulačnými a antikoagulačnými faktormi. Môžu posunúť túto rovnováhu v smere zvýšenej alebo zníženej koagulácie krvi alebo trombolýzy. Preto poznanie cirkadiánných oscilácií hematologických funkcií môže poslúžiť na časovanie efektívnejšej liečby rôznych krvných ochorení ale aj upozorniť, že zmeny v časovom priebehu týchto funkcií môžu pomôcť včas odhaliť určité hematologické ochorenia. V prvej časti článku sme sa zamerali na objasnenie základných pojmov, ktoré sa najčastejšie používajú v chronobiologickej literatúre. Hlavným zameraním článku je podanie informatívneho pohľadu na cirkadiánne kolísanie v základných hematologických procesoch u zdravých ľudí, ako je hemopoéza, hemostáza a fibrinolýza.

**Kľúčové slová:** chronobiológia, hematológia

### Summary

Švorc P., Švorcová E.: Chronobiological aspects in haematology

Man is exposed to the periodical processes of external environment practically with the synchronization of all his functions during the entire lifespan. The circadian rhythms (24 hour rhythms) are studied most frequently and they are demonstrated also in haematology. Detailed understanding of the circadian timing in fluctuation of some haematological functions in healthy man can have a clinical impact. In the present time, more and more information pass into foreground that changes, for example, in circadian oscillations of haemostatic system may lead to disturbance, resulting in either hypercoagulability and thrombosis or alternatively hypocoagulability and hemorrhage. Variables participating in haemostasis and thrombosis interact and their timing and phase relations may either contribute to maintaining the balance between procoagulant and anticoagulant factors or they may shift the balance in the direction of increased or decreased blood coagulation or thrombolysis. Therefore knowledge about circadian oscillations of haematological functions can serve for timing the more effective treatment of various blood diseases or can indicate that changes in timing of these functions can help to predict certain haematological disease. In the first part of the article we concentrated on elucidation of the basic terms, which are most frequently used in the chronobiological literature. The main objective of the article is to establish the existence of circadian variation in fundamental haematological processes, like haemopoiesis, haemostasis and fibrinolysis in healthy persons.

**Key words:** chronobiology, haematology

*Transfuzie Hematol. dnes, 17, 2011, No. 2, p. 98–104.*

### Základné pojmy v chronobiológii

Pojmy v oblasti chronobiológie, ktoré boli prijaté a schválené The American Association of Medical Chronobiology and Chronotherapeutics, popisujú aspekty biologických rytmov, ktoré sa často používajú v chronobiologických textoch a pre ktoré nebola vhodná žiadna terminológia. Táto nomenklatúra bola prezentovaná na 4. postgraduálnom vzdelávacom kurze Medical Chronobiology And Its Applications v Nevsehire v Turecku roku 2006. Mnohé zo zavedených termínov z oblasti chronobiológie nie sú ešte známe vedeckým pracovníkom ani lekármi, ktorí môžu mať z aplikácie chronobiologických princípov prospech vo svojej práci.

Biologické rytmy môžeme rozdeliť do dvoch základných skupín:

**exogénne rytmy** – rytmy, ktoré závisia na periodickom podnete z vonkajšieho prostredia a

**endogénne rytmy** – rytmy, ktoré sú geneticky dané a pretrvávajú v prostredí bez vonkajších časových vplyvov. Sú to teda samostatne oscilujúce systémy, schopné udržať si svoju periódu i za konštantných neperiodických podmienok. Endogénne rytmy podľa trvania periódy môžu byť: **cirkadiánne** (perióda 24 plus/mínus 4 hodiny), **ultradiánne** (perióda menšia ako 20 hodín) a **infradiánne** (perióda väčšia ako 28 hodín), z ktorých sú najčastejšie študované cirkadianne rytmy.

Medzi základné charakteristiky cirkadiánných rytmov patria: **perióda** – predstavuje časový úsek priebehu jedného kompletného cyklu, kde frekvencia je počet cyklov

za časovú jednotku, **amplitúda** – polovica rozdielu medzi maximálnou a minimálnou hodnotou v priebehu jedného cyklu, **mezor** – stredná hodnota medzi najvyššou a najnižšou hodnotou kosinorovej funkcie interpolovanej nameranými údajmi, **fáza** – okamžitý stav oscilácie v perióde a **akrofáza** – čas, kedy meraný parameter dosahuje svoje maximum v rámci cirkadiánnej oscilácie.

Medzi najbežnejšie pojmy, ktoré sa používajú v chronobiologických prácach, patria: **pacemaker** – vnútorný mechanizmus, ktorý udáva periódu a fázu endogénneho rytmu, **synchronizácia** – stav systému, kedy dve alebo viacej premenných vykazujú periodicitu s rovnakou frekvenciou a akrofázou, **vonkajšia desynchronizácia** – desynchronizácia endogénneho biologického rytmu s cyklom prostredia, **vnútorná desynchronizácia** – stav, kedy dve, alebo viac predtým synchronizované premenné v tom istom organizme začínajú vykazovať rozdielne alebo meniace sa časové vzťahy a **fázový posun** (fázové oneskorenie alebo fázový postup) – neskorší alebo skorší výskyt akrofázy.

### Biologické rytmy v hematológii

Základné hematologické procesy, ako hemopoéza, hemostáza, ale aj fibrinolýza sú známe so svojimi nápadnými rytmami v cirkadiánnom frekvenčnom rozsahu. Niektoré cirkadiánne rytmy hematologických funkcií sú vrodene (teda geneticky dané), ale na druhej strane, ich časový priebeh je často modulovaný faktormi prostredia, tzv. synchronizátormi. V cirkadiánných rytmoch hematologických parametrov u zdravých ľudí sú prítomné taktiež fázové zmeny a to po manipulácii režimu aktivity-pokoj (jet lag syndróm, smenová práca) alebo režimu príjmu potravy. Ich časový priebeh sa bezprostredne nemení, ale sa adaptuje v priebehu niekoľkých prechodných cyklov na nové podmienky.

U každého zdravého človeka existujú cirkadiánne rytmy cirkulujúcich elementov v periférnej krvi. Nielen počet, ale taktiež aj reaktivita cirkulujúcich krvných buniek predpovedateľne kolíše v priebehu 24-hodinovej periódy (1–10).

Niektoré cirkadiánne rytmy, najmä v počte cirkulujúcich leukocytov vykazujú veľkú amplitúdu. Na túto skutočnosť poukázal prof. Haus na 4. Postgraduate Educational Course on Chronobiology and Chronomedicine (tab. 1). V tabuľke sú uvedené rozdiely medzi maximálnym a minimálnym počtom cirkulujúcich bielych krviniek zo 173 klinicky zdravých ľudí, ktorí boli aktívni počas dňa.

Cirkadiánna rytmicita cirkulujúcich krvných elementov sa nemení ani s vekom (4, 9). Existujú však niektoré rozdiely u starších osôb, napríklad zvýšenie 24-hodinového priemeru (mezoru) v počte červených krviniek (4), zrelejch neutrofilov (9) alebo v skoršej akrofáze (fázový posun) cirkadiánných rytmov cirkulujúcich neutrofilov a lymfocytov (9).

### Cirkadiánne rytmy v hemopoéze

Hemopoéza (proces vzniku a vývoja krvných elementov) je v kostnej dreni pomerne pevne regulovaná mikroprostredím, faktormi z cirkulácie a autonómnym ner-

vovým systémom. Na druhej strane, hemopoetické procesy významne kolíšu počas dňa. Pri hodnotení proliferatívnej aktivity, zo vzoriek nefrakciovej kostnej drene, sa však popisujú zdanlivo rozporné časy maximálnej a minimálnej proliferatívnej aktivity počas dňa. Tieto disproporcie sú vysvetľované prítomnosťou heterogénnej populácie kmeňových buniek a rôznych hemopoetických progenitorov, ktorých proliferácia a diferenciácia zreteľne vykazujú odlišné cirkadiánne vzorce (11).

Cirkadiánna regulácia hemopoetických procesov v kostnej dreni nie je ešte detailne popísaná. Pripisuje sa regulačnému vplyvu sympatikového nervového systému (12), alebo cirkadiánnej organizácii bunkového cyklu (11), alebo popríklad môže byť zapríčinená bežnými regulačnými mechanizmami (13, 14).

Na úlohu sympatikového nervového systému v cirkadiánnej regulácii proliferácie a diferenciácie hemopoetických kmeňových buniek poukázal vo svojej štúdií Mendez-Ferrer a spol. (12). Môže sa jednať o priamy alebo nepriamy vplyv. Priamy vplyv je prostredníctvom cirkadiánnej informácie prenášanej sympatikovým nervovým systémom z centrálného pacemakera v mozgu (zo suprachiasmatických jadier) do mikroprostredia kostnej drene a usmerňuje tak cirkadiánne oscilácie v hemopoéze a v migrácii hemopoetických kmeňových buniek. Nepriamy vplyv sa pripisuje podporným stromálnym bunkám (12).

Odlíšny stupeň poškodenia kostnej drene, po podaní fixnej dávky cytotoxickej látky v odlišných časoch dňa, môže signalizovať ďalší z popísaných mechanizmov cirkadiánnej regulácie proliferácie a diferenciácie hemopoetických kmeňových buniek a to pravdepodobne prostredníctvom cirkadiánnej organizácie bunkového cyklu (11). Táto téza je podporená viacerými autormi (11, 13, 14), ktorí sledovali cirkadiánnu variáciu v proliferatívnej aktivite (syntéza DNA v S-fáze bunkového cyklu) buniek kostnej drene na zdravých ľuďoch. V priemere, percento celkových buniek kostnej drene vo fáze syntézy DNA bolo najvyššie popoludní (akrofáza o 13:16 hodine) (13). Najnižšia aktivita bola zase zaznamenaná medzi 00:00 hodinou a 04:00 hodinou (14).

Časový vzájomný vzťah v cirkadiánnej variácii S-fázy a G2/M-fázy medzi myeloidnou (akrofáza o 08:40 hodine) a erytroidnou (akrofáza o 13:01 hodine) bunkovou líniou signalizuje, že cirkadiánna rytmicita hemopoézy môže byť regulovaná aj bežnými regulačnými mechanizmami (vlastné krvotvorné faktory, cytokíny, rastové faktory alebo faktory inhibujúce proliferáciu krvotvorných buniek). Štúdie ukazujú, že najvyššie frakcie buniek v S-fáze boli zistené v erytropoéze, zatiaľ čo najvyššia variácia závislá na cirkadiánnom rytme bola zistená v myelopoéze (13, 14).

Podobne aj počty multipotentných a nezrelých progenitorových kolónií vykazujú 24-hodinovú rytmicitu, s 3–5 vrcholmi za deň. Počty nezrelých progenitorových kolónií vykazujú zase 2 vrcholy, teda 12-hodinový rytmus. Podanie erythropoetínu zosilňuje denné rytmy v počte erytroidných kolónií zvyšujúc ich amplitúdy, zatiaľ čo cirkadiánny priebeh zostáva nezmenený (11).

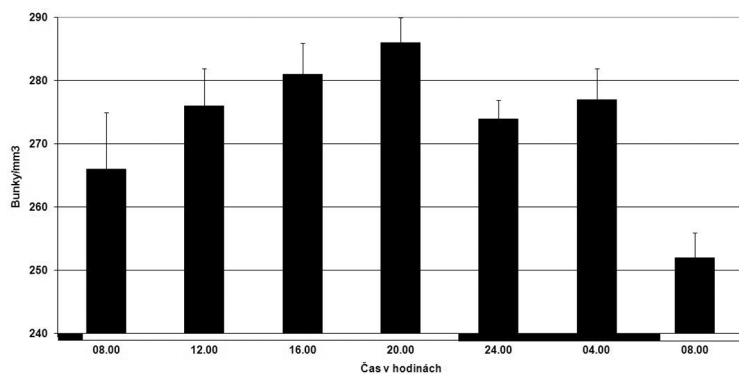
### Cirkadiálne rytmy v hemostatickom systéme

Hemostatický systém je multikomponentálny systém, ktorý poskytuje ochranu pred únikom krvi z ciev v prípade ich poškodenia. Ako náhle je cieva porušená, hemostáza je aktivovaná niekoľkými mechanizmami: vaskulárnym spazmom, formáciou doštičkovej zátky, hemokoaguláciou a rastom fibrínovej zátky pre definitívne utesnenie poškodenej cievy. Zahrňuje cievne funkcie, krvné doštičky, koagulačné faktory a fibrinolýzu.

Epidemiológia tromboembolickeho a hemorhagického fenoménu (15) je charakterizovaná značnou 24-hodinovou periodicitou, s hlavným vrcholom tromboembolických a hemorhagických príhod v ranných hodinách a so sekundárnym, zvyčajne menším vrcholom, neskoro popoludní (15). Existujú nielen denné, ale aj týždenné a sezónne rytmy vo výskyte tromboembolických a hemorhagických príhod. Taktiež sa očakáva, že v týchto frekvenciách bude výrazná interakcia endogénnych rytmov a faktorov prostredia, ktoré môžu alebo nemôžu pôsobiť ako synchronizátor (16).

#### Vaskulárne faktory v hemostáze

Hemostáza je ovplyvňovaná mnohými cirkadiálnymi periodickými faktormi vaskulárneho systému. Medzi tieto faktory môžeme zahrnúť periférny odpor, prietok krvi, viskozitu krvi, tlak krvi a srdcovú frekvenciu. U ľudí, ktorí sú aktívni počas dňa, periférny vaskulárny odpor klesá počas poludnia s výsledným nárastom prietoku krvi v tomto čase. Vazomotorický tonus koronárnych a periférnych artérií a vazokonstrikčná odpoveď na adrenáln sú väčšie ráno ako na poľudnie. Teda v ranných hodinách je väčšia tendencia redukcie priemeru ciev (16). V štúdiu Amerisa a spol. (17) bola zaznamenaná znížená odpoveď cerebrálnych ciev na hyperkapniu najmä v ranných hodinách, predpokladajúc tak pokles vo vazodilatačnej rezerve počas rána. Môže to byť aj vo vzťahu k pozorovanému rannému zvýšenému riziku náhlych mozgových príhod. Hemodynamické premenné hemostatickeho systému oscilujú počas 24 hodín tak, že práve v ranných hodinách sú vytvorené najväčšie predpoklady pre výskyt tromboembolických komplikácií.



**Obr. 1.** Cirkadiánna variácia v počte cirkulujúcich krvných doštičiek u 64 klinicky zdravých, aktívnych cez deň, mladých dospelých ľudí. Každý stĺpec reprezentuje skupinovú akrofázu s 95% konfidenčným intervalom. Tmavé pružky na osi x reprezentujú čas spánku a prázdne pružky čas bdenia (prevzaté a modifikované z Haus, /18/).

#### Variácie v počte doštičiek a ich aktivitách

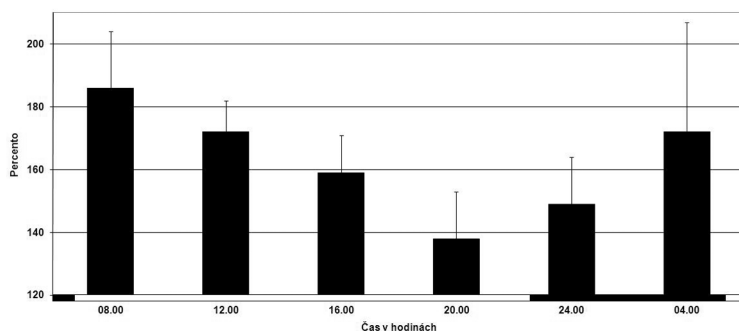
Jedna z prvých odpovedí na poškodenie cievy je kumulácia doštičiek, ktoré hrajú v hemostáze nielen mechanickú, ale aj biochemickú úlohu. Cirkulujúce trombocyty vykazujú cirkadiálny rytmus s vrcholom popoludní (obr. 1) (18).

Zvýšená aktivita doštičiek teda signifikantne zvyšuje riziko tromboembólie ráno, medzi 05:00 a 09:00 hodinou (19).  $\beta$ -thromboglobulin, indikátor aktivity doštičiek, vykazuje cirkadiálny rytmus s maximálnou koncentráciou okolo 06:00 hodiny a s nízkymi hodnotami medzi poludním a polnocou. Tento rytmus je identický s cirkadiálnou variáciou proteínu S (PS), proteínu C (PC) a prozápalového cytokínu IL-6 (20). Inhibícia funkcie doštičiek melatonínom je väčšia večer ako ráno (21). Hormón melatonín vylučovaný epifýzou primárne počas tmavej časti rozsahu dňa je hormónom, ktorý synchronizuje endogénne rytmy s rytmom striedania sa svetla a tmy, teda s rytmom vonkajšieho prostredia. Informácie o cirkadiánnej periodicite iných biochemických faktorov doštičiek, zahrňujúc serotonín, doštičkový faktor 4 a 11-dehydrotromboxan B<sub>2</sub>, sa rozchádzajú.

Cirkadiálny rytmus funkčnej reaktivity trombocytov je odlišný od rytmu v počte doštičiek nachádzajúcich sa v cirkulácii. U ľudí aktívnych počas dňa, sa maximálna aktivácia trombocytov nachádza medzi 06:00 a 09:00 hodinou (20). Podobne *in vitro*, adhezivita doštičiek meraná ich retrakciou na sklo, vykazuje maximálnu retrakciu počas ranných hodín (18).

*In vitro*, agregácia doštičiek v rôznych médiách (ADP, adrenáln a kolagén) je najväčšia v neskorých nočných hodinách (18), alebo skoro po prebudení sa (23), nezávisle na vzpriamenom postoji (24) alebo v spojení so značným nárastom plazmatickej koncentrácie katecholamínov (25). U klinicky zdravých ľudí, blokátory doštičkových  $\alpha_2$ -adrenoreceptorov rušia ranný nárast v aktivácii doštičiek. To poukazuje na skutočnosť, že existujú cirkadiálne a reaktívne zmeny v adrenergnej aktivite a že tieto zmeny sú pravdepodobne zodpovedné za cirkadiálne kolísanie vo funkciách doštičiek (25).

Agregácia bielych krviniek a zmeny v stave voľných radikálov sú taktiež zahrnuté v patogenéze tromboembolických príhod (26). Napríklad, agregácia bielych krviniek vykazuje cirkadiálnu periodicitu s vyššími hodnotami agregácie medzi polnocou a 04:00 hodinou a najnižšou agregáciou o 09:00 hodine. Cirkadiálny rytmus v agregácii bielych krviniek u pacientov so stabilnou ischemickou chorobou srdca vykazuje najväčší nárast medzi 08:00 hodinou a poludním, čo môže byť predispozíciou mikrocirkulačnej oklúzie. Taktiež, koncentrácia voľných radikálov je v tomto čase vysoká. Najnižšie úrovne thioflu (plazmatického odstraňovača voľných radikálov) sú o 04:00 hodine. Tieto faktory, pôsobiace spolu alebo oddelene, môžu byť



**Obr. 2.** Cirkadiánná variácia v aktivite faktora VIII u 10 klinicky zdravých ľudí. Každý stĺpec reprezentuje skupinovú akrofázu s 95% konfidenčným intervalom. Tmavé pružky na osi x reprezentujú čas spánku a prázdne pružky čas bdenia. (prevzaté a modifikované z Haus, /22/).

predpokladom pre vznik trombózy v ranných hodinách, teda na začiatku dennej aktivity (27).

*Rytmus v koncentrácii a/alebo v aktivite koagulačných faktorov*

Taktiež boli zistené cirkadiánne rytmy v niektorých faktoroch vnútorného a vonkajšieho systému koagulačnej kaskády. Koncentrácia antigénového faktora a aktivita faktora sú z cirkadiánneho pohľadu dva rôzne parametre, kde sa musí robiť rozdiel. Napríklad, aktivita faktora VII vykazuje značnú cirkadiánnu rytmicitu s najvyššími hodnotami medzi 08:00 hodinou a poľudní, ale neplatí to pre koncentráciu antigénového faktora VII (28). Vrchol aktivity faktorov VIII a IX bol popísaný okolo 09:00 hodine (18, 29) (obr. 2).

Protrombínový čas (PT), miera faktorov vonkajšieho a spoločného hemokoagulačného systému (faktory VII, X, V, II a I) a aktivovaný parciálny tromboplastínový čas (aPTT), miera vnútorného a spoločného systému koagulačnej kaskády (faktory XII, XI, IX, VIII, X, V, II a I) vykazujú svoje najnižšie hodnoty ráno. Hodnoty PT, aPTT a trombínového času (TT – miera premeny fibrinogénu na fibrín) dosahujú približne 10% rozdiel medzi 08:00 a 16:00 hodinou (18). Vyzerá to ako dôsledok vrcholu aktivity niektorých faktorov koagulačnej kaskády v tomto čase dňa.

Sezónna variácia v hemostatických parametroch je podľa niektorých autorov identická s incidenciou ischemických a hemorhagických príhod počas roka. Koncentrá-

cia plazmatického fibrinogénu u zdravých starších ľudí s vysokým tlakom krvi, bola najvyššia počas zimy (30). Naopak, v štúdiu na starších ľuďoch, bez ohľadu na tlak krvi, Kanabrocki a spol. (31) zistili najvyššiu koncentráciu fibrinogénu v máji a júni. Parametre globálnej fibrinolytickej koagulácie vykazujú nízko amplitúdovú sezónnu (cirkanuálnu) variáciu. Hoci to môže mať patofyziologický význam, nemá to žiadnu diagnostickú hodnotu (32).

**Cirkadiánne rytmy vo fibrinolytickom systéme**

U zdravých ľudí, aktivácia koagulačnej kaskády je doprevádzaná nárastom fibrinolytickej aktivity, ktorá určuje hranicu koagulačného procesu a zabraňuje vaskulárnej oklúzii. Fibrinolytický systém, zložený z plazmínu, aktivátorov a inhibítorov plazminogénu, reprezentuje dôležitý endogénny obranný mechanizmus na predchádzanie intravaskulárnej trombózy.

V klinickej praxi je cirkadiánný rytmus fibrinolýzy dlho známy a dokumentovaný. Rosing a spol. (33) popísali cirkadiánný rytmus v celkovej fibrinolytickej aktivite u denne aktívnych, klinicky zdravých osôb, s najvyššou fibrinolytickou aktivitou popoludní. Kofoed a spol. (34) zase poukazujú, že aktivácia fibrinolýzy síce kolíše v cirkadiánnej závislosti, no s maximálnym efektom v ranných hodinách a minimálnym popoludní. Tento endogénny cirkadiánný rytmus môže byť maskovaný spolupôsobiacimi vonkajšími faktormi, ktoré aktivujú fibrinolýzu.

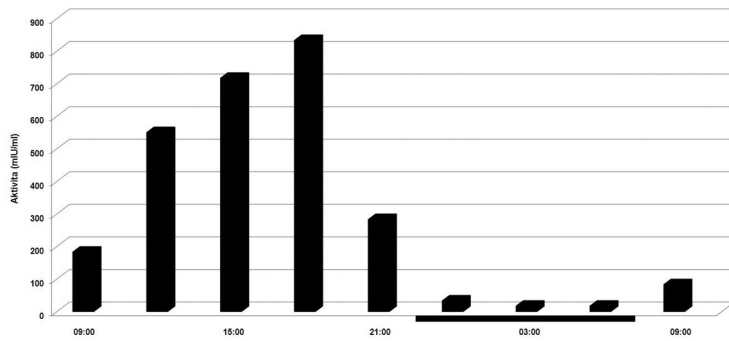
Plazminogén, prekursor molekuly fibrinolytického enzýmu plazmínu, je aktivovaný prednostne tkaninovým aktivátorom plazminogénu (tPA), ktorý je spätne inhibovaný špecifickými a rýchlo pôsobiacimi inhibítormi aktivátora plazminogénu (obr. 3).

Najdôležitejším inhibítorom je inhibítor typu I (PAI-1) aktivátora plazminogénu, ktorý je produkovaný endotelovými bunkami cievy, pečňou, tukovým tkanivom (35), doštičkami (36) a ktorý je prítomný v cirkulácii (37).

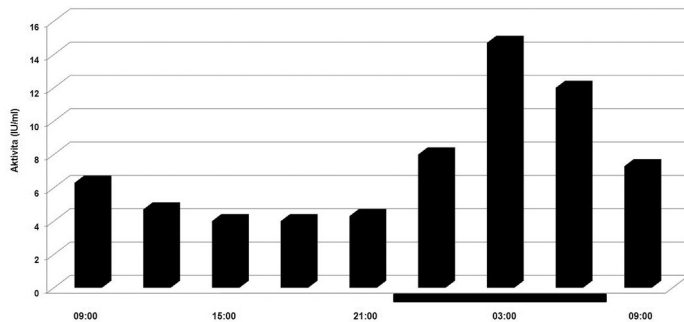
Cirkadiánný rytmus cirkulujúceho plazmatického PAI-1 a jeho aktivity je charakteristický veľkou opakovateľnosťou a vysokou amplitúdou (obr. 4). Tento cirkadiánný rytmus určuje 24-hodinovú variáciu v celkovej fibrinolytickej

**Tab. 1.** Rozdiely medzi maximálnym a minimálnym počtom cirkulujúcich leukocytov, ktoré boli zistené u klinicky zdravých osôb s aktivitou počas dňa a s pokojom počas noci. Hodnoty sú uvádzane v absolútnych počtoch v  $\mu$ l (použitý z prednášky prof. Hausa na 4. Postgraduate Educational Course on Chronobiology and Chronomedicine v Cappadocii, Turecko, 2006).

	Rozdiely medzi maximom a minimom	
	Priemer $\pm$ SD	Rozsah
<b>Celkové množstvo bielych krviniek</b>	2400 $\pm$ 1000	400 – 6100
<b>Celkové neutrofilny</b>	1840 $\pm$ 1025	480 – 7186
<b>Neutrofilné segmenty</b>	1567 $\pm$ 856	330 – 6347
<b>Lymfocyty</b>	1616 $\pm$ 770	331 – 5556
<b>Monocyty</b>	366 $\pm$ 167	80 – 974
<b>Eozinofily</b>	230 $\pm$ 110	40 – 816
<b>Bazofily</b>	105 $\pm$ 57	0 – 390
<b>Trombocyty (<math>\times 10^3</math>)</b>	54 $\pm$ 32	12 - 198



**Obr. 3.** Cirkadiánná variácia aktivity tkanivového aktivátora plazminogénu. Tmavé pružky na osi x reprezentujú čas spánku. (prevzaté a modifikované z Andreotti a Kluff /38/).



**Obr. 4.** Cirkadiánná variácia aktivity inhibítora typu I (PAI-I) aktivátora plazminogénu. Tmavé pružky na osi x reprezentujú čas spánku. (prevzaté a modifikované z Andreotti a Kluff /38/).

kej aktivite, pričom nezávisí od cirkadiánnej variácie v aktivite cirkulujúceho tPA (38). Periférny cirkadiánný oscilátor nachádzajúci sa v endotelových bunkách je citlivý na regulačné zásahy nadradených centier v hypotalame (39). Navyše podlieha internej a externej desynchronizácii, ako napríklad pri smenovej práci alebo po prelete cez viaceré časové zóny.

Existuje veľká interindividuálna variácia v rozsahu cirkadiánnej variácie v PAI-1 antigéne a jeho aktivite. To môže viesť k rozdielnemu riziku vo vývoji tromboembolických príhod najmä v ranných hodinách. Experimentálne a klinické štúdie predpokladajú, že polymorfizmus génu pre PAI-1 (4G/5G) môže priamo ovplyvňovať cirkadiánnu expresiu PAI-1 génu. Cirkadiánná variácia v aktivite PAI-1 je prednostne vo vzťahu k alele 4G PAI-1 génu. Homozygotnosť 4G PAI-1 génu je vo vzťahu k najvyššiemu vrcholu v PAI-1 aktivite v ranných hodinách. U heterozygotov je najvyššia koncentrácia PAI-1 (alebo jeho aktivita) v ranných hodinách sprostredkovaná 4G/5G a najnižšia u homozygotných osôb pre 5G (40). Tieto rozdiely môžeme vidieť akrofázach cirkadiánnych rytmov len ráno, no strácajú sa na popoludnie (41). Rozdiely v zygote génu PAI-1 môžu byť príčinou relatívneho rizika vývoja tromboembolických príhod počas časového vrcholu cirkadiánneho rytmu v PAI-1 aktivite. Zvýšená aktivita sympatického systému a zvýšená aktivita systému hypotalamus-epifýza-dreň nadobličiek zvyšujú koncentráciu PAI-1, indikujúc tak pokles fibrinolýzy (42).

Fibrinolýza taktiež vykázala cirkaseptálne (okolo 7 dní) variácie s minimom v pondelok a s maximom medzi utor-

kom a štvrtkom (43) so zrkadlovou incidenciou tromboembolických príhod počas týždňa (44). Riziko tromboembolických príhod v pondelok môže byť posilnené predpokladaným endogénnym cirkaseptálnym rytmom v plazmatickej koncentrácii fibrinogénu, s najvyššími hodnotami počas víkendu (31).

## Záver

Záverom môžeme povedať, že akýkoľvek analytický prehľad o úlohe rytmov v hematológii, pochopenie jeho časovej štruktúry ako aj dôsledkov, ktoré môžu vzniknúť zo zmeny rovnováhy spôsobenej periodicitou jednej alebo viacerých premenných, či dôsledkov spôsobenými patológiou alebo liečbou, musí jednoznačne viesť k syntéze chronobiologických poznatkov najmä o procesoch ako je hemopoéza, hemostáza a fibrinolýza.

Bunky kostnej drene sú citlivejšie v určitom čase na hemopoetické rastové faktory a špecifické cytotoxické lieky pôsobiace na bunkový cyklus. Preto poznanie cirkadiánneho rytmu bunkovej proliferácie v kostnej dreni cicavcov môže viesť k výraznejším liečebným efektom na kostnú dreň. Cyklické variácie v ich frekvenciách budú potom pravdepodobne smerovať k vývoju chronofarmakológie hemopoetického a imunitného systému. Teda čas podania fyzikálnych, chemických alebo biologických látok, ktorých bioaktivita v dreňových prekursoroch závisí na fáze bunkového cyklu, je významný a predpovedateľný.

Výskum časovej organizácie hemostatického systému môže podať dôležitú informáciu o fyziológii a patológii hemostatického systému. Zhodnosť v ranných vrcholech cirkadiánnych rytmov vaskulárnych faktorov spúšťajúcich trombózu, funkcií doštičiek, úrovně katecholamínov, niektorých koagulačných faktorov a minimálnou aktivitou fibrinolýzy, vedie k opakovaniu sa prechodného rizikového stavu pre tromboembolické príhody. Ide o akútny infarkt myokardu, hlboká venózna trombóza a ataky, ktoré sa najčastejšie vyskytujú počas úvodných hodín dennej aktivity. Veľmi dôležitá je skutočnosť, že časovanie prechodného rizikového stavu závisí na synchronizácii pacienta a nie na hodine. Komplexnosť cirkadiánnej časovej organizácie naznačuje požiadavky na dizajn protokolu, zahrňujúc frekvenciu odberu krvi na získanie plnovýznamových výsledkov v štúdiu cirkadiánneho rytmického chovania hemostatického systému.

Taktiež by mala byť braná do úvahy interakcia endogénnych rytmov s faktormi prostredia. Porozumenie medzihry medzi prostredím, centrálnymi a periférnymi oscilátormi a pochopenie komplexnosti rytmických interakcií v hemostatickom systéme, nie len u zdravých ľudí, ale aj pri hemostatických poruchách, môže pomôcť vhodnému odporúčeniu lieku a farmakoterapie.

## Literatúra

1. Steinbach G, Hilfenhaus M, Von Mayersbach H, et al. Circadian influences in clinical values in man. *Arch Toxicol* 1976; 36: 317-325.
2. Boning D, Schweigart U, Kunze M. Diurnal variations of protein and electrolyte concentrations and of acid base status in plasma and red cells of normal man. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1974; 32: 239-250.
3. Jones AR, Twedt D, Swaim W, et al. Diurnal change of blood count analytes in normal subjects. *Amer J Clin Pathol* 1996; 106: 723-727.
4. Touitou Y, Bogdan A, Haus E, et al. Modifications of circadian and circannual rhythms with aging. *Exp Gerontol* 1997; 32: 603-614.
5. McKee LC, Johnson LE, Lange RD. Circadian variation in reticulocyte counts and immuno detectable erythropoietin titers. *Proc Soc Exp Biol Med* 1974; 145: 1284-1287.
6. Gunga HC, Kirsch KA, Roecker L, et al. Erythropoietin regulations in humans under different environmental and experimental conditions. *Respir Physiol Neurobiol* 2007; 158: 287-297.
7. De Nicola P, Casale G, Riccotti MP, et al. Circadian rhythms of blood components in dementia senilis. *Folia Haematologica: Internationales Magazin fur klinische und morphologische Blutforschung* 1984; 111: 782-787.
8. Melchart D, Martin P, Hallek M, et al. Circadian variation of the phagocytic activity of polymorphonuclear leukocytes and of various other parameters in 13 healthy male adults. *Chronobiol Int* 1992; 9: 35-45.
9. Swoyer J, Irvine P, Sackett-Lundeen L, et al. Circadian hematologic time structure in the elderly. *Chronobiol Int* 1989; 6: 131-137.
10. Barkova EN, Nazarenko EV. Circadian dynamics of monocyte phagocytic activity in women during lactation complicated by iron deficiency. *Bull Exp Biol Med* 2005; 140: 29-32.
11. Wood PA, Hrushesky WJM, Klevecz R. Distinct circadian time structures characterize myeloid and erythroid progenitor and multipotential cell clonogenicity as well as marrow precursor proliferation dynamics. *Exp Hematol* 1998; 26: 523-533.
12. Mendez-Ferrer S, Chow A, Merad M, et al. Circadian rhythms influence hematopoietic stem cells. *Curr Opin Hematol* 2009; 16: 235-242.
13. Smaaland R, Sothorn RB, Laerum OD, et al. Rhythms in human bone marrow and blood cells. *Chronobiol Int* 2002; 19: 101-127.
14. Abrahamsen JF, Sothorn RB, Sandberg S, et al. Circadian variations in human peripheral blood on days with and without bone marrow sampling and relation to bone marrow cell proliferation. *Biol Rhythm Res* 1999; 30: 29-53.
15. Manfredini R, Boari B, Smolensky MH, et al. Review: Circadian variation in stroke onset: Identical temporal pattern in ischemic and hemorrhagic events. *Chronobiol Int* 2005; 22: 417-453.
16. Anderson N, Feigin V, Bennett D, et al. Diurnal, weekly, and seasonal variations in stroke occurrence in a population-based study in Auckland, New Zealand. *N Z Med J* 2004; 117: U1078.
17. Ameriso SF, Mohler JG, Suarez M, et al. Morning reduction of cerebral vasomotor reactivity. *Neurology* 1994; 44: 1907-1909.
18. Haus E, Cusulos M, Sackett-Lundeen L, Swoyer J. Circadian variations in blood coagulation parameters, alpha-antitrypsin antigen and platelet aggregation and retention in clinically healthy subjects. *Chronobiol Int* 1990; 7: 203-216.
19. Dalby MC, Davidson SJ, Burman JF, Davies SW. Diurnal variation in platelet aggregation with the PFA-100 platelet function analysis. *Platelets* 2000; 11: 320-324.
20. Ündar L, Ertugrul C, Altunbas H, et al. Circadian variations in natural coagulation inhibitors protein C, protein S and antithrombin in healthy men: a possible association with interleukin-6. *Thromb Haemost* 1999; 81: 571-575.
21. Del Zar MM, Martinuzzo M, Falcon C, et al. Inhibition of human platelet aggregation and thromboxane-B<sub>2</sub> production by melatonin evidence for a diurnal variation. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70: 246-251.
22. Haus E. Chronobiology of hemostasis and inferences for the chronotherapy of coagulation disorders and thrombosis prevention. *Adv Drug Deliv Rev* 2007; 59: 966-984.
23. Jafri SM, VanRollins M, Ozawa T, et al. Circadian variation in platelet function in healthy volunteers. *Amer J Cardiol* 1992; 69: 951-954.
24. Jovicic A, Mandic S. Circadian variations of platelet aggregability and fibrinolytic activity in healthy subjects. *Thromb Res* 1991; 62: 65-74.
25. Andrews NP, Goldstein DS, Quyyumi AA. Effect of systemic alpha-2 adrenergic blockade on the morning increase in platelet aggregation in normal subjects. *Am J Cardiol* 1999; 84: 316-320.
26. Belch JFF. The role of the white blood cell in arterial disease. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1990; 1: 183-192.
27. Bridges AB, Fisher TC, Scott N, et al. Circadian rhythm of white blood cell aggregation and free radical status in healthy volunteers. *Free Radic Res Commun* 1992; 16: 89-97.
28. Kapiotis S, Jilma B, Quehenberger P, et al. Morning hypercoagulability and hypofibrinolysis. *Circulation* 1997; 96: 19-21.
29. Iversen PO, Groot PDE, Hyeltnes N, et al. Impaired circadian variations of haemostatic and fibrinolytic parameters in tetraplegia. *Br J Haematol* 2002; 119: 1011-1016.
30. Hermida RC, Calvo C, Ayala DE, et al. Seasonal variation in plasma fibrinogen in dipper and non-dipper patients with mild-moderate essential hypertension. *Med Clin (Barc)* 2003; 121: 6-11.
31. Kanabrocki EL, Sothorn RB, Bremner WF, et al. Weekly and yearly rhythms in plasma fibrinogen in hospitalized male military veterans. *Am J Cardiol* 1995; 76: 628-631.
32. Hodoglulig U, Gunaydin B, Yardim S, et al. Seasonal variation in the effect of a fixed dose of heparin on activated clotting time in patients prepared for open-heart surgery. *Chronobiol Int* 2001; 18: 865-873.
33. Rosing DR, Brakman P, Redwood DR, et al. Blood fibrinolytic activity in man: diurnal variation and the response to varying intensities of exercise. *Circ Res* 1970; 27: 171-184.
34. Kofoed KF, Glerup G, Hedman C, et al. The circadian variation in fibrinolytic activity is not related to posture. *Thromb Res* 1994; 73: 447-450.
35. Chomiki N, Henry M, Alessi MC, et al. Plasminogen activator inhibitor-1 expression in human liver and healthy or atherosclerotic vessel walls. *Thromb Haemost* 1994; 72: 44-53.
36. Brogren H, Karlsson L, Andersson M, et al. Platelets synthesize large amounts of active plasminogen activator inhibitor 1. *Blood* 2004; 104: 3943-3948.
37. Sprengers ED, Kluft C. Plasminogen activator inhibitors. *Blood* 1987; 69: 381-387.
38. Andreotti F, Kluft C. Circadian variation of fibrinolytic activity in blood. *Chronobiol Int* 1991; 8: 336-351.
39. McNamara P, Seo SP, Rudic RD, et al. Regulation of CLOCK and MOP4 by nuclear hormone receptors in the vasculature: a humoral mechanism to reset a peripheral clock. *Cell* 2001; 105: 877-889.
40. Hoekstra T, Geleijnse JM, Schouten EG, et al. Diurnal variation in PAI-1 activity predominantly confirmed to the 4G-allele of the PAI-1 gene. *Thromb Haemost* 2002; 88: 794-798.
41. Van der Bom JG, Bots ML, Haverkate F, et al. The 4G5G polymorphism in the gene for PAI-1 and the circadian oscillation of plasma PAI-1. *Blood* 2003; 101: 1841-1844.
42. Von Kanel R, Jain S, Mills PJ, et al. Relation of nocturnal blood pressure dipping to cellular adhesion, inflammation and hemostasis. *J Hypertens* 2004; 22: 2087-2093.
43. Imeson JD, Meade TW, Steward GM. Day by day variation in fibrinolytic activity and in mortality from ischemic heart disease. *Int J Epidemiol* 1987; 16: 626-627.

44. Nicolau GY, Haus E, Popescu M, et al. Circadian, weekly, and seasonal variations in cardiac mortality, blood pressure, and catecholamine excretion. *Chronobiol Int* 1991; 8: 149-159.

*Doc. RNDr. Pavol Švorc, CSc.  
Ústav fyziológie, Lekárska fakulta UPJŠ  
Tr. SNP 1  
040 01 Košice  
Slovenská republika*

*Doručeno do redakce: 8. 10. 2011  
Přijato po recenzi: 21. 3. 2011*