

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Doktorský studijní program v biomedicině

Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Pavel Jansa

**Některé aspekty patofyziologie plicní arteriální hypertenze a její výskyt
v České republice**

*Some aspects of pathophysiology of pulmonary arterial hypertension and its epidemiology
in the Czech Republic*

Doktorská dizertační práce

Školitel: Prof. MUDr. Michael Aschermann, DrSc., FESC

Školitel-konzultant: Prof. MUDr. Jiří Homolka, DrSc.

Praha 2011

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, dne 22.11. 2011

Pavel Jansa

Identifikační záznam

JANSA, Pavel. *Některé aspekty patofyziologie plicní arteriální hypertenze a její výskyt v České republice. [Some aspects of pathophysiology of pulmonary arterial hypertension and its epidemiology in the Czech Republic]*. Praha, 2011. 93 s. Doktorská dizertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 1. lékařská fakulta, II. interní klinika kardiologie a angiologie. Školitel: Aschermann, Michael.

OBSAH

1. Poděkování	6
2. Seznam použitých zkratk	7
3. Souhrn	9
4. Summary	10
5. Úvod	11
6. Přehled problematiky	13
6.1. Patofyziologie PAH	13
6.1.1. Vlivy genetické	13
6.1.2 Vlivy humorální	16
6.1.3. Abnormity trombózy, hemostázy a fibrinolýzy	17
6.1.4. Zevní faktory	19
6.2. Výskyt PAH	20
6.2.1. Registry PAH	20
6.2.2 PAH v ČR	21
7. Hypotézy a cíle práce	22
8. Polymorfismy v genu pro eNOS u plicní arteriální hypertenze	24
8.1. Úvod	24
8.2. Soubor nemocných a metodika	25
8.3. Výsledky	28
8.4. Diskuse	34
8.5. Závěr	35
9. Koagulační profil u plicní arteriální hypertenze	36
9.1. Úvod	36
9.2. Soubor nemocných a metodika	37
9.3. Výsledky	43
9.3.1. Charakteristika analyzovaných souborů	43
9.3.2 Koagulační profil u celého souboru pacientů s PAH	43

9.3.3. Koagulační profil v jednotlivých podskupinách nemocných s PAH	44
9.3.4. Vztah koagulačních parametrů k hemodynamice v celém souboru nemocných s PAH	44
9.3.5. Vztah koagulačních parametrů k hemodynamice u nemocných s idiopatickou a hereditární PAH	45
9.3.6. Vztah koagulačních parametrů k hemodynamice u nemocných s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva	45
9.3.7. Vztah koagulačních parametrů k hemodynamice u nemocných s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou	46
9.4. Diskuse	55
9.5. Závěr	59
10. Výskyt plicní arteriální hypertenze v ČR	60
10.1. Úvod	60
10.2. Metodika	62
10.3. Výsledky	63
10.3.1. Soubor nemocných	63
10.3.2. Klinické, hemodynamické a funkční parametry nemocných s PAH	63
10.3.3. Incidence a prevalence	64
10.3.4. Přežívání pacientů s PAH	64
10.4. Diskuse	72
10.5. Závěr	74
11. Závěrečné shrnutí	75
12. Literatura	77
13. Seznam publikací in extenso	83
13.1. Publikace, které jsou podkladem dizertace	83
13.2. Publikace bez vztahu k tématu dizertace	84

1. Poděkování

Tato práce by nemohla vzniknout bez významné pomoci řady lidí. Především děkuji svému školiteli Prof. MUDr. Michalu Aschermannovi, DrSc. za podněcení zájmu o plicní cirkulaci a za poskytnutí zázemí pro budování specializovaného centra pečujícího o pacienty s plicní hypertenzí na II. interní klinice VFN a 1.LF UK v Praze. Prof. Aschermann mi byl mnohokrát nápomocen nejen moudrou radou, ale i povzbuzením ve chvílích, kdy slunce zrovna nesvítilo. Za cenné rady děkuji také svému spoluškoliteli Prof. MUDr. Jiřímí Homolkovi, DrSc. a současnému přednostovi naší kliniky Prof. MUDr. Aleši Linhartovi, DrSc.

Při zpracování genetického materiálu mi byla nenahraditelnou spolupracovnicí RNDr. Marie Jáchymová, PhD. a při zpracování koagulačních parametrů Prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc. Epidemiologická část práce by nebyla možná bez těch, kteří nezištně poskytli k analýze data svých pacientů: Doc. MUDr. Jana Popelová, Csc., MUDr. Hikmet Al-Hiti a MUDr. Tomáš Zatočil.

Za každodenní nápomoc jsem velmi vděčný svým bývalým i současným bezprostředním spolupracovníkům na II. interní klinice VFN a 1.LF UK: MUDr. Heleně Sládkové, MUDr. Mileně Šídové, MUDr. Aleši Kovaříkovi, MUDr. Janě Marešové, MUDr. Regině Votavové, MUDr. Pavlu Poláčkovi a MUDr. Davidu Ambrožovi.

Celá statistická analýza je dílem pracovníků Institutu biostatistiky a analýzy MU v Brně. Dík patří především Doc. RNDr. Ladislavu Duškovi, CSc. a RNDr. Jiřímu Jarkovskému.

V neposlední řadě chci vyjádřit svou vděčnost rodičům, oběma bratrům a především své ženě Kateřině, která s nekonečnou trpělivostí zvládá nejen péči o naše tři ratolesti, ale i moje časté nepřítomnosti doma, víkendy trávené spolu s plicní hypertenzí a večery podmalované ťukáním do klávesnice počítače.

2. Seznam použitých zkratek

ALK	activin receptor-like kinase
APC	aktivovaný protein C rezistence
APA	antifosfolipidové protilátky
aPTT	aktivovaný parciální tromboplastinový čas
Asp	aspartát
AT	antitrombin
BMI	body mass index
BMPR	bone morphogenetic protein
Ca	kalcium
CHD-PAH	plicní arteriální hypertenze asociovaná s vrozenou srdeční vadou
CI	srdeční index
CO	srdeční výdej
CRP	C reaktivní protein
CTD-PAH	plicní arteriální hypertenze asociovaná se systémovým onemocněním pojiva
CTEPH	chronická tromboembolická plicní hypertenze
EF LK	ejekční frakce levé komory
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
ENG	endoglin
eNOS	endotheliální NO syntáza
ET	endothelin
FEV1	objem usilovného výdechu za 1 sekundu
FVC	usilovná vitální kapacita
G	guanosin
HIV	virus lidského imunodeficitu
HPAH	hereditární plicní arteriální hypertenze
Ig	imunoglobulin
INR	international normalized ratio

IPAH	idiopatická plicní arteriální hypertenze
K	kalium
mRNA	mediátorová ribonukleová kyselina
n.h.	náležitě hodnoty
NO	oxid dusnatý
NOS	NO syntáza
NYHA	New York heart association
PADP	diastolický tlak v plicnici
PAH	plicní arteriální hypertenze
PAI	inhibitor aktivátoru plazminogenu
PAMP	střední tlak v plicnici
PAR	plicní arteriolární rezistence
PASP	systolický tlak v plicnici
PCWP	tlak v zaklínění
PPAR	receptory aktivované peroxisomovým proliferátorem
PPH	primární plicní hypertenze
6MWT	test šestiminutovou chůzí
SaO ₂	saturace tepenné krve kyslíkem
SvO ₂	saturace žilní krve kyslíkem
TGF	transformující růstový faktor
t-PA	tkáňový aktivátor plazminogenu
T	thymin
TLC	celková plicní kapacita
vWF	von Willebrandův faktor
WHO	světová zdravotnická organizace
WU	Woodovy jednotky

3. Souhrn

Plicní arteriální hypertenze je skupina chorob charakterizovaná progresivním nárůstem tlaku v plicnici a plicní cévní rezistence. U všech podskupin PAH hrají v patofyziologii roli základní čtyři procesy: vazokonstrikce, zánět, trombóza a cévní remodelace. Role genetické dyspozici v řadě případů PAH je nepochybná.

V první části práce jsme u 142 nemocných s PAH analyzovali výskyt genových polymorfismů Glu298Asp genu pro eNOS, VNTR-5 tandemové 27 bp repetice genu pro eNOS a -786 T/C na promotoru genu pro eNOS. Prevalence alely A VNTR-5 tandemové 27 bp repetice genu pro eNOS byla hraničně signifikantně vyšší u pacientů s PAH ve srovnání s kontrolami. U nemocných s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva je vyšší výskyt genotypu AA ve srovnání s ostatními podskupinami PAH. Vztah polymorfismů Glu298Asp a -786 T/C k PAH jsme neprokázali.

Trombotická arteriopathie je významnou součástí patofyziologie PAH. U 93 nemocných s PAH a 79 jedinců kontrolního souboru jsme vyšetřili fibrinogen, aPTT, INR, Protein C, Protein S, APC rezistenci, AT III, D-dimer, APA IgG, APA IgM, faktor VIII, von Willebrandův faktor, t-PA a PAI s cílem popsat rozdíly v koagulačním profilu u jednotlivých podskupin PAH. U nemocných s PAH jsme ve srovnání s kontrolní populací prokázali nižší hladinu přirozených inhibitorů koagulace, vyšší hladinu antifosfolipidových protilátek, vyšší hladinu von Willebrandova faktoru a vyšší hladinu inhibitorů fibrinolýzy. U nemocných s PAH asociovanou se systémovými onemocněními byly vyšší hladiny CRP a fibrinogenu. U pacientů s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou je akcentována porucha fibrinolýzy.

V závěrečné části práce jsme analyzovali základní epidemiologické parametry PAH v České republice. Výskyt PAH v ČR jsme analyzovali na souboru 191 pacientů s PAH zařazených do národního registru PAH, kteří byli diagnostikováni na základě standardních kritérií před rokem 2007 a nově v roce 2007. Prevalence PAH v dospělé české populaci je 2.24 případů na 100 000 obyvatel. Odhadovaná roční incidence PAH v dospělé české populaci je 1.07 případů na 100 000 obyvatel. Jednoleté přežití pacientů v incidenci bylo 89 %.

Klíčová slova: plicní arteriální hypertenze, genový polymorfismus, endotheliální NO syntáza, trombotická arteriopathie, epidemiologie

4. Summary

Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a group of diseases characterized by a progressive increase of resistance and pressure in pulmonary vascular bed. In all types of PAH the same four pathological processes are reported: vasoconstriction, inflammation, thrombosis and remodelling. The genetic background is essential for the development of PAH.

We aimed to investigate the role of polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) genes in PAH. We studied 142 PAH patients and 189 healthy subjects. We examined 3 polymorphisms of the eNOS gene, including the Glu298Asp polymorphism, 27-base pair (bp) variable numbers of tandem repeats (VNTR) and -786 T/C promoter gene polymorphism. Prevalence of 27-bp VNTR allele A was higher in patients with PAH compared with healthy controls. Patients with PAH associated with connective tissue diseases had higher prevalence of AA genotype compared with other PAH subgroups. The Glu298Asp polymorphism and -786 T/C polymorphism are not associated with PAH.

Thrombotic arteriopathy is an important pathophysiological feature of PAH. We analyzed fibrinogen, aPTT, INR, protein C, protein S, APC resistance, AT III, D-dimer, APA IgG, IgM APA, F VIII, vWF, t-PA and PAI in 93 PAH patients and 79 healthy controls. We aimed to demonstrate coagulation profile in different PAH subgroups. We demonstrated lower levels of coagulation inhibitors, elevated levels of antiphospholipid antibodies, higher levels of vWF and increased levels of fibrinolysis inhibitors in PAH patients compared to controls. We have shown higher levels of CRP and fibrinogen in patients with PAH associated with connective tissue diseases compared to controls and impaired fibrinolysis in patients with PAH associated with congenital heart diseases.

In the final part of this study we provided estimates for epidemiological parameters of PAH in the Czech Republic. A total of 191 PAH patients diagnosed according to a standardized definition before 2007 and newly diagnosed in 2007 were entered in the national PAH registry. The prevalence and incidence of PAH in the Czech Republic were 2.24 cases/100.000 of adult inhabitants and 1.07 cases/100.000 of adult inhabitants/yr. One-year survival was 89% in the incident cohort.

Key words: pulmonary arterial hypertension, gene polymorphisms, endothelial nitric oxide synthase, thrombotic arteriopathy, epidemiology

5. Úvod

Plicní hypertenze je syndrom hemodynamicky charakterizovaný zvýšením středního tlaku v plicnici ≥ 25 mmHg. Vzniká jako důsledek mnoha onemocnění plic, srdce nebo v souvislosti s poruchami regulace dýchání. Za horní hranici normálních hodnot středního tlaku v plicnici se považuje 20 mmHg. Hodnoty 21-24 mmHg se označují jako hraniční.

Patofyziologická klasifikace rozděluje plicní hypertenzi podle mechanismu vzniku na prekapilární (zvýšený tlak v plicnici, normální v zaklínění), postkapilární (zvýšený tlak v plicnici i v zaklínění) a hyperkinetickou (při vysokém minutovém výdeji). Postkapilární plicní hypertenzi lze dále rozdělit na pasivní (transpulmonální tlakový gradient ≤ 12 mmHg) a reaktivní nebo nepřiměřenou (transpulmonální tlakový gradient > 12 mmHg).

Klinická klasifikace rozeznává šest skupin plicní hypertenze: PAH, plicní hypertenzi při postižení venul a/nebo plicních kapilár, plicní hypertenzi při onemocnění levého srdce, plicní hypertenzi při respiračních onemocněních, chronickou tromboembolickou plicní hypertenzi (CTEPH) a plicní hypertenzi z neznámých příčin nebo multifaktoriálního původu (1).

Do skupiny PAH je řazena především idiopatická a hereditární PAH a dále řada stavů, v jejichž patogenezi se pravděpodobně uplatňují podobné patofyziologické mechanismy, a které jsou podobným způsobem ovlivnitelné farmakoterapií (PAH asociovaná s abúzem některých drog a anorektik, systémovými onemocněními pojiva, HIV infekcí, portální hypertenzí, vrozenými zkratovými srdečními vadami, schistosomiázou, chronickou hemolýzou). Zvláštní skupinu představuje plicní venookluzivní nemoc a plicní kapilární hemangiomatóza, které jsou charakterizované plicní okluzivní venopatií a mikrovaskulopatií. Tyto dvě klinické jednotky vykazují jak morfologické znaky typické pro PAH (hypertrofie médié, fibróza intimy, plexiformní léze), tak obraz typický pro postkapilární plicní hypertenzi (plicní edém, dilatace lymfatických cév). Klinicky nejsou odlišitelné od idiopatické PAH. Vazodilatační léčba prostanoidy však v těchto případech na rozdíl od jiných typů PAH vede k rychlému rozvoji plicního edému.

Až do poloviny devadesátých let minulého století terapeutické postupy používané u PAH (léčba srdečního selhání, nespecifická vazodilatační a případně antikoagulační léčba) nebyly příliš úspěšné. První snahy o léčebné ovlivnění PAH se datují do padesátých let minulého

století. Zkoušelo se krátkodobé podání vazodilatancií, ovšem bez výraznějšího dlouhodobého úspěchu. Terapeutický nihilismus byl hlavním důvodem relativně okrajového zájmu kliniků o toto onemocnění. Posléze se stala určitou nadějí pro nemocné s PAH transplantace plic nebo srdce a plic, bohužel se značně nepříznivými výsledky. Zásadní změnu přineslo až studium celulárních a subcelulárních mechanismů vzniku onemocnění a zavedení specifické farmakoterapie v devadesátých letech 20. století. Ta sice učinila z této choroby onemocnění léčitelné, ale přes veškeré úsilí stále nevléčitelné.

Údaje o výskytu PAH pocházející zejména z různých registrů. Jedná se o onemocnění relativně vzácné, v poslední době se však ukazuje, že se vyskytuje častěji, než se dříve myslelo. Vysvětlení je především ve zvýšeném zájmu o PAH díky dostupné léčbě. To vede ke správné diagnóze v řadě případů, které by dříve unikly.

Klíčové údaje o prognóze neléčené idiopatické PAH pocházejí z údajů amerického NIH registru. V letech 1981 až 1985 bylo do registru zařazeno celkem 194 nemocných. Jejich osud byl sledován do roku 1988. Jeden rok přežilo 68 %, 2 roky 48 % a 3 roky 34 % nemocných. Medián přežití byl 2,8 roku (2). Medián přežití u neléčené PAH při systémové sklerodermii se pohybuje kolem 12 měsíců. Podobně nepříznivou prognózu má PAH asociovaná s HIV infekcí. Naopak lepší prognózu než u idiopatické PAH pozorujeme u nemocných s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou.

6. Přehled problematiky

6.1. Patofyziologie PAH

6.1.1. Vlivy genetické

Na rozvoji PAH se podílí kombinace faktorů zevních a genetických. Familiární výskyt PAH je znám desetiletí. Na sklonku minulého století se podařilo prokázat genetickou vazbu onemocnění s markery na chromosomu 2q31-32 (3, 4). Analýza jednoho z kandidátních genů v tomto genomovém regionu prokázala u postižených probandů mutace v genu *BMPR2* (Bone morphogenetic protein receptor 2), který patří do rodiny receptorů pro TGF-beta (Transforming growth factor – beta). Většina dokumentovaných mutací vede k předčasné terminaci translace proteinu a tím k poruše jeho funkce. U zdravých jedinců BMP inhibuje proliferaci a indukuje apoptózu buněk hladkého svalstva ve stěně plicních arteriol a na buňky endotheliální má účinek antiapoptotický. U nemocných s PAH má BMP na buňky hladkého svalstva účinek proliferativní a proapoptotický účinek je zesílen. Antiapoptotický účinek na buňky endotheliální se mění rovněž v proapoptotický. V případě familiárního výskytu PAH se jedná o onemocnění přenášené autozomálně dominantně s variabilní penetrancí (jen 10-20% nositelů mutace má projevy onemocnění) a expresivitou (5). Ženy jsou postiženy častěji. Pravděpodobně je přítomna také tzv. genetická anticipace, kdy u každé následující postižené generace nastává postižení dříve a/nebo je klinicky závažnější. U idiopatické PAH může být přítomna mutace *BMPR2* přibližně u 10-20% pacientů a v tomto případě se pravděpodobně jedná o nové mutace, které mohou být dále předány potomkům. Také ve skupině pacientů s PAH, kteří anamnesticky užívali některá anorektika, byly nalezeny mutace v genu *BMPR2* asi u 10 % nemocných.

U pacientů s hereditární hemoragickou teleangiektázií (HHT) byly identifikovány mutace v genu pro *ALK1* (activin receptor-like kinase 1) a pro *ENG* (endoglin). Tyto mutace vystavují nosiče nejen riziku vzniku HHT, ale také PAH (6). Vzácně se může u takto geneticky disponovaných jedinců vyskytnout PAH bez projevů HHT.

Kromě mutací v genu *BMPR2* nebo *ALK1* a *ENG*, které se dědí autozomálně dominantně, může genetickou dispozici k PAH představovat i mutace v dalších genech, které kódují syntézu produktů podílejících se na patofyziologii onemocnění.

U nemocných s idiopatickou PAH je v 65 % případů přítomna v homozygotní konstituci LL varianta polymorfismu v oblasti promotoru genu pro serotoninový transporter, jehož zvýšená aktivita souvisí s hyperplasií buněk hladkého svalstva ve stěně plicních arteriol (7).

Rizikem pro rozvoj plicní hypertenze mohou být rovněž polymorfismy v genu pro endothelovou syntázu oxidu dusnatého (eNOS). Gen pro eNOS obsahuje 26 exonů a je lokalizován na chromozómu 7q35-36. Cévní endothel je jednak senzorem smykového napětí, ale také jeho modulátorem díky schopnosti reagovat na jeho zvýšení mimo jiné promptní syntézou NO z aminokyseliny L-argininu a kyslíku. Malá a solubilní molekula NO rychle difunduje do okolních buněk hladkého svalstva v cévní stěně a cestou aktivace guanylátcyklázy vede k vazodilataci a k následnému bezprostřednímu snížení smykového napětí v cévním segmentu, kde se reakce odehrála. Působení NO je striktně lokální díky velmi krátkému poločasu jeho molekuly ve tkáni a pevné vazbě na hemoglobin v cirkulaci, která je silnější než vazba CO na hemoglobin. Kromě vazodilatace vede NO rovněž k inhibici adheze a agregace trombocytů. Bazální produkce NO v normální plicní cirkulaci je nižší než v systémové cirkulaci (8).

V souvislosti s některými kardiovaskulárními onemocněními (nekardiální plicní edém ve vysoké nadmořské výšce, ischemická choroba srdeční, arteriální hypertenze rezistentní na běžnou farmakoterapii) byly popsány například polymorfismy genu pro eNOS: VNTR-5 tandemová 27 bp repetice na čtvrtém intronu, polymorfismus Glu298Asp na sedmém exonu a polymorfismus -786 T/C na promotoru genu pro eNOS. U PAH zatím jejich výskyt popsán nebyl.

Alelická frekvence alely A VNTR-5 tandemové 27 bp repetice na čtvrtém intronu genu pro eNOS je častější u afroameričanů (27-31 %) než u bělochů (16-18 %) nebo Japonců (10-13 %) (9, 10, 11). V literatuře je popsána asociace mezi genotypem AB a sníženým vylučováním metabolitů NO. U zdravých Japonců s genotypem AB byly rovněž popsány nižší plazmatické koncentrace metabolitů NO. Homozygotní konstituce AA se považuje za rizikový faktor infarktu myokardu u kuřáků (12). Výskyt heterozygotní konstituce AB je spojen s rizikem

rozvoje nekardiálního plicního edému ve vysoké nadmořské výšce (13). Naopak vztah mezi vyšší alelickou frekvencí tohoto polymorfismu a arteriální hypertenzí se nepodařilo prokázat (14).

Polymorfismus označovaný jako Glu298Asp je způsoben záměnou thyminového (T) nukleotidu za guaninový (G) v sedmém exonu genu pro eNOS na pozici 894. Důsledkem je záměna aspartátu za glutamát a změna konformace molekuly eNOS. Některé in vitro studie prokazují vyšší hladinu eNOS mRNA, ale nízkou hladinu proteinu eNOS u jedinců s genotypem DD (15). Jiné práce poukazují na neadekvátní odpověď produkce NO při vyšším smykovém napětí u nosičů genotypu DE a DD. Polymorfismus Glu298Asp se v běžné populaci vyskytuje s frekvencí 9-13 %. Jeho výskyt je asociován s alterovanou produkcí NO, s rizikem infarktu myokardu, cévní mozkové příhody, obliterující aterosklerózy karotid a s arteriální hypertenzí rezistentní na běžnou farmakoterapii (16, 17). Jiné práce však vztah mezi vyšší alelickou frekvencí alely D polymorfismu Glu298Asp a arteriální hypertenzí neprokazují (14). V roce 2010 publikovali němečtí autoři práci, která studovala výskyt akutní plicní hypertenze u dětí po odpojení z mimotělního oběhu, u nichž byla korigována vrozená srdeční vada s levo-pravým zkratem. Polovina z jedinců zařazených do studie měla před operací středně těžkou plicní hypertenzi. Výskyt akutní elevace tlaku v plicnici po odpojení z mimotělního oběhu byl ve studované populaci asociován s přítomností polymorfismu Glu298Asp (18).

Genový polymorfismus -786 T/C na promotoru genu pro eNOS vede až k 50% redukci aktivity promotoru díky substituci nukleotidů na pozici 786. Vysvětlením může být vytvoření vazebného místa pro represor replikace u nosičů alely -786C (19). Některé práce dokumentují u těchto jedinců nižší sérovou hladinu nitrátů a nitritů za normoxie i za hypoxie. Jiné práce však tento vztah zpochybňují. Kontroverzní závěry jsou vysvětlovány obtížným měřením volného NO, jehož vysoce reaktivní radikály jsou oxidovány na nitráty a nitrity. Existují zprávy o vyšším riziku akutního infarktu myokardu u nosičů alely -786C. Jiné práce však vyšší riziko ischemické choroby srdeční u těchto jedinců neprokazují.

6.1.2. Vlivy humorální

Hlavní změny v oblasti plicní mikrocirkulace u pacientů s PAH zahrnují vazokonstrikci, cévní remodelaci a trombózu v důsledku relativní nadprodukce faktorů s účinky vazokonstrikčními, růstovými a trombogenními nad faktory s účinky vazodilatačními, antiproliferačními a antitrombotickými při endotheliální dysfunkci.

Prostacyklin a tromboxan A_2 jsou hlavní metabolity kyseliny arachidonové. Prostacyklin je silný vazodilatátor, inhibitor aktivace trombocytů a má rovněž významné účinky antiproliferační. U nemocných s idiopatickou PAH a také u pacientů s asociovanými formami PAH je dokumentováno snížení produkce prostaglandinu $F_{1\alpha}$. To svědčí o snížené syntéze prostacyklinu. Podobně je dokumentována u PAH snížená exprese prostacyklin syntázy v malých i větších plicních cévách (20). Dále lze u nemocných s PAH pozorovat snížení transkripční aktivity faktorů ze skupiny peroxyzomálních receptorů (PPAR) v důsledku snížené produkce prostacyklinu. Důsledkem jsou buňky hladkého svalstva, mezibuněčné matrix a fibroblasty s abnormálním fenotypem, s tendencí k proliferaci a s rezistencí k apoptóze.

Tromboxan A_2 je naproti tomu potentní vazokonstriktor a destičkový agonista. U nemocných s PAH je metabolismus posunut ve prospěch tromboxanu (21).

U PAH je dokumentována zvýšená plazmatická koncentrace vazokonstrikčního endothelinu-1 a serotoninu. Oba tyto faktory rovněž navozují buněčnou proliferaci.

Vyšší hladina cirkulujícího ET-1 může být způsobena jeho nadprodukcí, sníženou clearance nebo poruchou jeho metabolismu. Působení ET-1 je zprostředkováno vazbou na receptory ET_A a ET_B . Aktivace receptoru ET_A je odpovědná za hlavní účinky ET-1, za vazokonstrikci a proliferaci. Naopak izoforma endothelinového receptoru ET_B je odpovědná za clearance ET-1 a jeho zpětné vychytávání endotheliálními buňkami, zejména v plicích a ledvinách (22). U zdravých jedinců vede aktivace receptoru ET_B k vazodilataci, brání apoptóze a inhibuje expresi endothelin konvertujícího enzymu. Aktivace receptoru ET_B však v důsledku jeho exprese na buňkách hladkého svalstva a na fibroblastech může vést také k vazokonstrikci, proliferaci a fibróze. U nemocných s PAH dochází k up-regulaci vazebných míst pro ET v oblasti plicních arterií.

Serotonin hraje u PAH vedle vazokonstrikce rovněž významnou roli v rozvoji trombotické arteriopatie.

V patofyziologii PAH hrají důležitou roli draslíkové kanály (23). Regulují koncentraci vápenatých a draslíkových iontů v krevních destičkách, buňkách hladkého svalstva a v buňkách endoteliálních. Koncentrace Ca^{2+} v cytosolu ovlivňuje cévní tonus, koncentrace K^+ moduluje apoptózu a cévní remodelaci. Inhibice napětově řízených draslíkových kanálů (Kv), např. hypoxií a deriváty fenfluraminu, nebo jejich down-regulace, vede k depolarizaci buněčné membrány a k influxu vápenatých iontů do cytosolu. V trombocytech dochází ke zvýšení efluxu serotoninu a k inhibici jeho zpětného vychytávání. Důsledkem je vazokonstrikce a proliferace.

U nemocných s PAH nalzáme v řadě případů pozitivitu autoprotilátek, infiltraci cévních lezí zánětlivými elementy a depozita komplementu ve stěně plicních cév. To může poukazovat na roli zánětu v patofyziologii PAH (24).

6.1.3. Abnormity trombózy, hemostázy a fibrinolýzy

Cévní endothel hraje za normálních okolností důležitou roli v udržování rovnováhy mezi aktivací trombocytů, která je spojena s produkcí serotoninu, růstového faktoru derivovaného z krevních destiček a tromboxanu, aktivací koagulace (aktivací koagulačního faktoru X, produkcí a uvolňováním von Willebrandova faktoru), inhibicí agregace krevních destiček (produkcí NO a prostacyklinu) a aktivací fibrinolytických mechanismů (produkcí tkáňového aktivátoru plazminogenu).

Důsledkem interakce dysfunkčního cévního endothelu s krevními destičkami a plazmatickými koagulačními faktory u PAH je zvýšená pohotovost ke vzniku trombů in situ vedoucí k tzv. trombotické arteriopatii. (25). Znamky trombotické arteriopatie lze nalézt u všech forem těžké prekapilární plicní hypertenze, podle některých autorů až u 75 % nemocných s CTEPH a u 50 % nemocných s PAH (26).

Přítomnost antifosfolipidových protilátek je nejčastějším rizikovým faktorem trombofilie u prekapilární plicní hypertenze (u 20 % CTEPH a u 10 % PAH) (27). Mohou se vyskytovat

současně s lupus antikoagulans. Přítomnost antifosfolipidových protilátek však je i markerem endotheliálního poškození.

Za normálních okolností trombocyty cirkulují přes plicní oběh v inaktivní formě. V případě jejich aktivace vytvářejí povrch pro aktivaci koagulační kaskády a uvolňují řadu mediátorů, které interagují s endotheliálními buňkami, neutrofilly, fibroblasty a buňkami hladkého svalstva (28). Aktivované destičky produkují vazokonstrikční tromboxan A₂, a pak serotonin, z trombocytů derivovaný růstový faktor a TGF-β, převážně s mitogenními účinky.

Von Willebrandův faktor (vWF) je glykoprotein, který hraje významnou úlohu v primární hemostáze. U nemocných s PAH, zejména při chronické hypoxémii, dochází k uvolňování vWF z Weibel-Paladeho tělísek v endotheliálních buňkách a k jeho interakci s membránovými glykoproteiny IB, IIB/IIIa krevních destiček a k proteolytické degradaci velkých multimerů vWF (29). Laboratorním korelátem je u PAH dokumentovaný vzestup hladiny antigenu vWF (dysfunkční molekuly) a pokles aktivity vWF. Současně dochází ke zkrácení přežívání trombocytů, zřejmě v důsledku chronické konsumpce.

Dysfunkční endothel produkuje snížené množství vazodilatátorů, z nichž zejména NO a prostacyklin mají antiagregační a antitrombotické účinky. Trombomodulin je proteoglykan vázaný na buněčnou membránu, který hraje významnou roli v aktivaci proteinu C a v degradaci koagulačních faktorů V a VIII. Jeho plazmatická hladina bývá snížena u plicních hypertenzí, které jsou spojeny s chronickou hypoxémií (plicní hypertenze u respiračních onemocnění a plicní hypertenze při Eisenmengerově syndromu). Endothel se významně podílí rovněž na fibrinolýze prostřednictvím syntézy tkáňového aktivátoru plazminogenu (t-PA) a inhibitoru aktivátoru plazminogenu (PAI-1) U nemocných s idiopatickou PAH byla popsána vyšší plazmatická koncentrace t-PA i PAI-1 (30). Vyšší hladina PAI-1 v arteriální krvi než ve spíšené žilní krvi u těchto nemocných může svědčit pro jeho zvýšenou produkci v plicní cirkulaci. U asociovaných forem PAH je dokladů o alteraci fibrinolýzy méně. U pacientů, kteří jsou kandidáty chirurgické korekce zkratové vady, koreluje plazmatická koncentrace t-PA s průtokem krve přes plíce. U nemocných s Eisenmengerovým syndromem je popsána vyšší hladina D dimerů a rovněž t-PA. Až v 35 % případů těchto nemocných nacházíme trombózu plicnice.

Na vzniku trombotické arteriopatie se zřejmě rovněž podílí deficit přirozených inhibitorů koagulace (antitrombin, protein C, protein S). Výskyt hereditárních trombofilních stavů (mutace F V Leiden, mutace F II protrombin) je u PAH popisován relativně vzácně (31).

Rozvoj trombotické arteriopatie je podkladem indikace chronické antikoagulační léčby u pacientů s PAH.

6.1.4. Zevní faktory

Ze zevních faktorů podílejících se na rozvoji PAH je známa role hypoxie, anorektik, metamfetaminu kokainu a některých infekcí.

Akutní hypoxie vede k systémové vazodilataci a k vazokonstrikci v malém oběhu cestou zvýšení sekrece endothelinu, serotoninu a snížením aktivity napěťově řízených draslíkových kanálů v buňkách hladkého svalu v cévní stěně.

Vyšší riziko vzniku PAH u osob užívajících některá anorektika (aminorex fumarát, fenfluramin, dexfenfluramin) lze vysvětlit jejich působením na zvýšení efluxu serotoninu z trombocytů (32). Elevace tlaků v plicnici může být patrna již po 3-4 týdnech užívání anorektik, k rozvoji PAH je však třeba zpravidla více jak šesti měsíců.

V patofyziologii PAH asociované se systémovými onemocněními pojiva je nepochybně zásadní role zánětu.

Přítomnost perivaskulární zánětlivé infiltrace ukazuje na roli zánětu také u PAH asociované s HIV infekcí. V patofyziologii se předpokládá působení cytokinů, růstových faktorů a endothelinu. V aktivaci zánětlivých mechanismů hrají zřejmě roli některé proteiny viru HIV (proteiny Tat, Nef) (33).

U PAH asociované s vrozenými srdečními vadami je v patofyziologii rozhodující chronická expozice plicní cirkulace zvýšenému průtoku krve.

V rozvoji portopulmonární hypertenze může být jedním z klíčových mechanismů přestup vazoaktivních mediátorů z portální do plicní cirkulace při otevřených porto-systémových zkratech (34). Obviňuje se např. serotonin produkovaný enterochromafinními buňkami ve střevě.

Výskyt PAH je rovněž vyšší u některých hematologických onemocnění. U myelodysplastického syndromu je příčina vzniku plicní hypertenze multifaktoriální, může se na ní podílet splenektomie, portální hypertenze nebo infiltrace plicního parenchymu hematopoetickými buňkami. Byly rovněž popsány vzácné případy plicní hypertenze u esenciální trombocytémie, β -talasémie a srpkovité anémie.

6.2. Výskyt PAH

PAH trpí na celém světě zřejmě až několik milionů obyvatel s velkou převahou v ekonomicky méně rozvinutých zemích. Pravděpodobným vysvětlením vysokého výskytu PAH v těchto oblastech je vysoký počet pacientů infikovaných HIV, schistosomiasou, častý výskyt chronických hemolytických stavů a neléčených vrozených srdečních vad.

6.2.1. Registry PAH

První americký registr PPH byl iniciován s cílem získat elementární údaje o epidemiologii PPH. Analýza nemocných z celkem 32 center pochází z období, kdy nebyla k dispozici žádná specifická farmakoterapie plicní hypertenze. Z registru pochází informace o vyšším výskytu PPH u žen (1,7 x častěji než u mužů), průměrný věk nemocných se pohyboval kolem 35 let a medián přežití činil 2,8 roku (35).

Francouzský národní registr zařadil prospektivně od října 2002 do října 2003 konsekutivně všechny pacienty s PAH ve věku nad 18 let, kteří byli sledováni nebo nově diagnostikováni v celkem 17 univerzitních centrech. Byly získány údaje o 674 nemocných, u nichž byla diagnóza stanovena na základě katetrizace. Jde nepochybně o nejpragmatictější práci, která na základě striktně dodržovaných kritérií popsala epidemiologii PAH v dospělé francouzské populaci (36). Minimální prevalence podle údajů toho registru činí 15 případů na milion dospělých obyvatel, zhruba 43 % představují nemocní s idiopatickou a hereditární PAH. Nejvyšší výskyt PAH je ve věku 41-60 let, častěji u mužů. Roční incidence se ve francouzské populaci pohybuje mezi 5 a 25 případy na milion obyvatel dospělé populace.

Odhad prevalence PAH u nemocných se systémovými onemocněními plic je obtížný, neboť schází konzistentní epidemiologická studie. Publikované údaje kolísají v širokém rozmezí díky nejednotně užívané definici PAH a rozdílnému metodickému přístupu při odhadu a stanovení tlaku v plicnici (37, 38).

6.2.2. PAH v ČR

První údaje o výskytu PAH v České republice pocházejí z retrospektivní analýzy počtu diagnóz tohoto onemocnění stanovených na českých kardiologických a pneumologických klinikách v letech 1980-1999 (39). Z tohoto období existují údaje pouze o 17 diagnostikovaných pacientech (59 % žen, průměrný věk 43,6 roku) bez dalších údajích o jejich osudu. Pacienti s PAH jsou v České republice systematicky centralizováni od roku 1999. Údaje o výskytu PAH z posledního období jsou jednou z částí této práce.

7. Hypotézy a cíle práce

U nemocných s PAH, na jejíž patofyziologii se podílí snížená produkce vazodilatátorů, včetně NO, lze očekávat výskyt variantních alel polymorfismů genu pro eNOS vyšší než v kontrolní populaci. Podobně je tomu u jiných kardiovaskulárních onemocnění, v jejichž rozvoji hraje roli snížená produkce NO. V případě prokázaného vztahu těchto polymorfismů k PAH a zejména k jednotlivým typům asociované PAH, může genotypizace zpřesnit indikaci invazivního hemodynamického vyšetření u nemocných s echokardiografickou detekcí plicní hypertenze. Přítomnost akutního vazodilatačního potenciálu je známkou méně pokročilého onemocnění. U těchto pacientů lze očekávat srovnatelnou prevalenci variantních alel těchto polymorfismů jako v kontrolní populaci. Naopak u pacientů bez vazoreaktivity lze očekávat vyšší prevalenci variantních alel.

Abnormity koagulačního a fibrinolytického systému jsou známy u idiopatické PAH. Jsou jedním z argumentů pro chronickou antikoagulační léčbu. Jejich průkaz i u asociovaných forem PAH může být oporou indikace antikoagulační léčby i u těchto pacientů. Progrese PAH souvisí s progresí remodelačních změn. Pokud by závažnější plicní hypertenze byla také spojena s výraznější poruchou koagulačního nebo fibrinolytického systému, může tento nálezný přispět k úvaze o agresivnější antikoagulační léčbě u nemocných s těžší plicní hypertenzí.

Dostupná epidemiologická data a údaje o přežívání nemocných v době dostupné specifické farmakoterapie v Evropě pocházejí z analýzy francouzského národního registru. Srovnatelná data z jiných evropských zemí včetně České republiky nejsou k dispozici.

Cílem práce bylo:

1. Popsat výskyt genových polymorfismů Glu298Asp na 7. exonu genu pro eNOS, VNTR-5 tandemové 27 bp repetice na 4. intronu genu pro eNOS a -786 T/C na promotoru genu pro eNOS u nemocných s PAH a případně popsát rozdíly ve výskytu těchto polymorfismů u jednotlivých podskupin PAH.
2. Popsat vztah genových polymorfismů Glu298Asp na 7. exonu genu pro eNOS, VNTR-5 tandemové 27 bp repetice na 4. intronu genu pro eNOS a -786 T/C na promotoru genu pro eNOS k akutní vazodilatační reakci u pacientů s PAH.

3. Popsat rozdíly v koagulačním profilu u jednotlivých podskupin PAH.
4. Popsat vztah koagulačního profilu k hemodynamické závažnosti PAH.
5. Určit výskyt PAH v České republice (incidence, prevalence, podíl jednotlivých podskupin v celé populaci PAH), analyzovat přežívání pacientů s PAH léčených v České republice.

8. Polymorfismy v genu pro eNOS u plicní arteriální hypertenze

8.1. Úvod

Molekula NO hraje významnou roli v regulaci cévního tonu, ale také v inhibici adheze a agregace trombocytů.

NO jako esenciální endogenní vazodilatátor je produkován v různých typech tkání celkem třemi izoformami NO syntázy. NO syntáza byla poprvé identifikována a popsána v roce 1989, jednotlivé izoformy pak v letech 1994-2001. Izoformy jsou kódovány rozdílnými geny a kromě rozdílné produkce v jednotlivých tkáních se liší katalytickými vlastnostmi a senzitivitou k inhibitorům. NO syntáza označovaná jako nNOS nebo typ I byla poprvé identifikována v nervové tkáni. NO syntáza označovaná jako iNOS (případně typ II nebo inducibilní) je produkována buňkami v různých tkáních. Endotheliální NO syntáza (eNOS, typ III) byla poprvé popsána jako produkt cévního endotelu.

Gen pro eNOS obsahuje 26 exonů a je lokalizován na chromozómu 7q35-36. V minulosti bylo popsáno několik polymorfismů v tomto genu a některé z nich jsou dávány do souvislosti se zvýšeným výskytem určitých kardiovaskulárních onemocnění.

VNTR-5 tandemová 27 bp repetice na čtvrtém intronu genu pro eNOS je v homozygotní konstituci AA spojena s vyšším rizikem infarktu myokardu u kuřáků. Heterozygotní konstituce AB tohoto polymorfismu v heterozygotní konstituci AB představuje vyšší riziko rozvoje nekardiálního plicního edému ve vysoké nadmořské výšce.

Polymorfismus Glu298Asp v sedmém exonu genu pro eNOS je spojen se zvýšeným rizikem infarktu myokardu, cévní mozkové příhody, obliterující aterosklerózy karotid, s arteriální hypertenzí rezistentní na běžnou farmakoterapii a s plicní hypertenzní krizí po korekci vrozené zkratové srdeční vady u dětí.

Genový polymorfismus -786 T/C na promotoru genu pro eNOS může být spojen s vyšším rizikem výskytu ischemické choroby srdeční u nosičů alely -786C.

Výskyt VNTR tandemové 27 bp repetice na čtvrtém intronu, polymorfismu Glu298Asp v sedmém exonu a polymorfismu -786 T/C na promotoru genu pro eNOS dosud nebyl

studován u pacientů s PAH. Stejně tak nebyl dosud popsán vztah mezi přítomností těchto polymorfismů a vazoreaktivitou u PAH.

Testování akutní vazoreaktivity je nezbytnou součástí katetrizačního vyšetření u nemocných s PAH. Test slouží k hodnocení přítomnosti funkční komponenty PAH. Jeho princip spočívá v podání účinného, dobře titrovatelného vazodilatancia s rychlým nástupem účinku, krátkým poločasem a relativní selektivitou pro plicní oběh (prostacyklin, adenosin, NO) a v hodnocení změn tlaků v malém oběhu, srdečního indexu a plicní cévní rezistence. Pozitivita testu opravňuje k vazodilatační léčbě blokátory kalciových kanálů a rovněž predikuje zřetelně lepší prognózu u nemocných s PAH.

Test akutní plicní vazodilatace je pozitivní jen asi u 10 % nemocných s PAH. Je známo, že akutní vazoreaktivita nemusí predikovat chronickou vazoreaktivitu, ta je přítomna pouze u zhruba 5-7 % pacientů s PAH. Navíc se ukazuje, že na chronickou vazoreaktivitu lze z akutní vazoreaktivity usuzovat pouze u idiopatické PAH a u PAH v souvislosti s užíváním anorektik. Jako tzv. „skutečný respondér“ je definován pacient, u něhož při několikaměsíční (optimálně 1 rok a více) perorální vazodilatační léčbě dojde ke zlepšení hemodynamiky a klinického stavu a nevyžaduje specifickou léčbu.

8.2. Soubor nemocných a metodika

Polymorfismy VNTR tandemová 27 bp repetice, Glu298Asp a -786 T/C genu pro eNOS byly vyšetřeny u 142 pacientů s PAH diagnostikovaných v Centru pro plicní hypertenzi na II. interní klinice Všeobecné fakultní nemocnice a I.LF UK v Praze a u 189 kontrolních osob, které se od souboru nemocných s PAH významně nelišily ve věku a pohlaví. Kontrolní populace pocházela z České republiky.

Diagnóza PAH byla vždy definitivně stanovena invazivním hemodynamickým vyšetřením. U všech nemocných byla hodnota středního tlaku v plicnici ≥ 25 mmHg v klidu a hodnota tlaku v zaklíněné plicnici pod 15 mmHg. Nomenklatura podskupin PAH vychází z klinické klasifikace PAH naposledy modifikované v roce 2008 v americkém Dana Pointu a publikované v doporučených postupech Evropské kardiologické společnosti v roce 2009 (1). Z analýzy byli vyloučeni nemocní s těžkou poruchou ventilačních parametrů (FVC nebo TLC

nebo FEV1 < 60 % náležitých hodnot), u nichž může být plicní hypertenze důsledkem respiračního onemocnění. Dále byli vyřazeni nemocní s významným srdečním onemocněním. Přítomnost vazoreaktivity byla posuzována při testu akutní plicní vazodilatace. Protokol odpovídal aktuálním doporučeným postupům.

DNA byla extrahována z lymfocytů periferní krve. Polymerázová řetězová reakce byla provedena se vzorkem o objemu 25 μ l, který obsahoval 100 ng DNA. Restrikční analýza byla provedena po přidání 3 jednotek restrikčního enzymu *Mbo*I (Promega, Madison, WI) po dobu 12 hodin při teplotě 37 °C. Produkty reakce byly rozděleny pomocí elektroforézy na 3,8% agarózovém gelu.

Test akutní plicní vazodilatace byl proveden u 142 nemocných s PAH. V jednotném protokolu byl jako vazodilatans užit epoprostenol (syntetický analog prostacyklinu). Iniciální dávka epoprostenolu byla 2 ng/kg/min a byla postupně zvyšována každé 3 minuty o 2 ng/kg/min do cílové dávky 10 ng/kg/min. Před testem a na vrcholu testu byl změřen tlak v plicnici a zjištěn srdeční výdej termodiluční technikou. Průměrná hodnota CO byla stanovena ze tří po sobě jdoucích měření, která se nelišila o více jak 10 %. Srdeční index byl získán přepočtem CO na tělesný povrch nemocného. Plicní cévní rezistence byla spočtena jako podíl transpulmonálního tlakového gradientu (rozdíl středního tlaku v plicnici a tlaku v zaklínění) a srdečního výdeje. Kritériem pozitivivity testu byl pokles středního tlaku v plicnici alespoň o 10 mmHg vstupních hodnot, ale pod 40 mmHg bez současného zhoršení srdečního výdeje.

Pro statistickou analýzu byly použity standardní deskriptivní metody. Kontinuální proměnné jsou popsány jako medián, 5. a 95. percentil. Kategoriální proměnné jsou popsány jako počet a procento z celkového počtu. Způsob testování statistické významnosti je uveden pod jednotlivými tabulkami.

Struktura jednotlivých podskupin PAH ve vyšetřeném souboru je uvedena v tabulce 8.1. Charakteristika souboru nemocných s PAH, u nichž byla provedena genotypizace, je uvedena v tabulce 8.2.

Tab. 8.1.

Struktura podskupin PAH ve vyšetřeném souboru

Diagnóza	N (%)
Celkem PAH	142 (100 %)
Idiopatická & hereditární PAH	93 (65.5 %)
PAH asociovaná se systémovým onemocněním pojiva	19 (13.4 %)
PAH asociovaná s vrozenou srdeční vadou	30 (21.1 %)

Tab. 8.2.

Charakteristika souboru nemocných s PAH, u nichž byla provedena genotypizace

	IPAH + HPAH	CTD-PAH	CHD-PAH	P
	N=93	N=19	N=30	
Pohlaví				
Muži	28 (30.1%)	5 (26.3%)	12 (40.0%)	0.203
Ženy	65 (69.9%)	14 (73.7%)	18 (60.0%)	
Věk v době diagnózy	63.0(31.0;76.0)	62.0(18.0;73.0)	40.5(16.0;77.0)	<0.001
PAMP (mmHg)	52.0(29.0;81.0)	40.0(20.0;68.0)	78.0(27.0;101.0)	<0.001
PASP (mmHg)	83.0(46.0;125.0)	62.5(31.0;102.0)	108(43.0;139.0)	<0.001
PCWP (mmHg)	12.0(6.0;22.0)	11.5(7.0;28.0)	14.0(7.0;22.0)	0.339
CO (l/min)	4.16(2.76;6.73)	4.86(2.86;7.35)	5.27(3.64;7.93)	<0.001
CI (l/min/m²)	2.33(1.58;3.59)	2.62(1.56;4.00)	3.19(2.49;4.43)	<0.001
PAR (WU)	9.86(2.82;21.65)	6.99(1.54;17.23)	11.2(2.5;19.0)	0.043

Kategoriální proměnné jsou uvedeny jako počet a procento.

Spojitě proměnné jsou popsány jako medián (5-95 percentil)

Chi-kvadrát test maximální věrohodnosti byl použit pro analýzu kategoriálních dat, Kruskal-Wallisův pro data spojitá. Statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

8.3. Výsledky

V tabulce 8.3. je uvedeno srovnání proporce jednotlivých genotypů studovaných polymorfismů u kontrolního souboru.

V tabulce 8.4. je přehled prevalence genotypů a alel jednotlivých polymorfismů genu pro eNOS. U polymorfismu Glu298Asp není rozdíl mezi prevalencí jednotlivých genotypů a alel u nemocných s PAH a u kontrol. Stejně tak není rozdíl mezi jednotlivými podskupinami PAH. U genového polymorfismu VNTR tandemová 27 bp repetice je hraničně statisticky signifikantně vyšší výskyt alely A u nemocných s PAH (19 %) ve srovnání s kontrolní skupinou (13.3 %). Výskyt genotypu AA u tohoto polymorfismu je statisticky signifikantně vyšší u nemocných s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva ve srovnání s idiopatickou, hereditární PAH a PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou. U genového polymorfismu -786 T/C není rozdíl v prevalenci genotypů a alel mezi skupinou PAH a kontrol a mezi jednotlivými podskupinami PAH.

Při srovnání možných kombinací genotypů u pacientů s PAH proti kontrolám jsme zjistili signifikantně vyšší výskyt u kombinace EE AB (21.8 % u PAH, 12.8 % u kontrol, $p=0.036$), EE AA/AB (23.9 % u PAH a 13.3 % u kontrol, $p=0.014$) a EE CT (22.5 % u PAH, 13.8 % u kontrol, $p=0.042$) (tabulka 8.5.).

Při analýze kombinací genotypů u jednotlivých podskupin PAH jsme prokázali signifikantně nižší výskyt kombinace genotypů AB TC a EE AB TC u pacientů s PAH asociované se systémovým onemocněním pojiva ve srovnání s idiopatickou, hereditární PAH a PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou (tabulka 8.6.).

U nosičů kombinace genotypů ED BB a BB TC dochází při testu akutní plicní vazodilatace ke statisticky signifikantně nižšímu vzestupu srdečního výdeje. Naopak u kombinace AB TC je vzestup srdečního výdeje při vazodilatačním testu signifikantně vyšší (tabulka 8.7.).

Tab. 8.3.

Hardy-Weinbergova rovnováha v kontrolním souboru

Kontroly (N=188)	Homozygot (DD/AA/CC)	Heterozygot	Homozygot (EE/BB/TT)	Variantní alela	p¹ HW rovnováha
Glu298Asp (D/E)	0.112	0.484	0.404	0.354	0.523
VNTR-5 27 bp (A/B)	0.005	0.255	0.739	0.133	0.208
-786 T/C (C/T)	0.154	0.431	0.415	0.370	0.347

¹Fisherův přesný test

Tab. 8.4.

Výskyt genotypů v jednotlivých podskupinách PAH

	I. IPAH + HPAH (N=93)	II. CTD-PAH (N=19)	III. CHD-PAH (N=30)	p ² I.	p ² II.	p ² III.	PAH (N=142)	Kontroly (N=188)	P ¹
Glu298Asp									
DD	9 (9.7%)	2 (10.5%)	1 (3.3%)	0.599	0.703	0.585	12 (8.5%)	21 (11.2%)	0.377
DE	42 (45.2%)	7 (36.8%)	13 (43.3%)				62 (43.7%)	91 (48.4%)	
EE	42 (45.2%)	10 (52.6%)	16 (53.3%)				68 (47.9%)	76 (40.4%)	
DD+DE	51 (54.8%)	9 (47.4%)	14 (46.7%)	0.383	0.806	0.542	74 (52.1%)	112 (59.6%)	0.181
EE	42 (45.2%)	10 (52.6%)	16 (53.3%)				68 (47.9%)	76 (40.4%)	
DD	9 (9.7%)	2 (10.5%)	1 (3.3%)	0.544	0.664	0.461	12 (8.5%)	21 (11.2%)	0.463
DE+EE	84 (90.3%)	17 (89.5%)	29 (96.7%)				130 (91.5%)	167 (88.8%)	
DE	42 (45.2%)	7 (36.8%)	13 (43.3%)	0.722	0.623	1.000	62 (43.7%)	91 (48.4%)	0.436
DD+EE	51 (54.8%)	12 (63.2%)	17 (56.7%)				80 (56.3%)	97 (51.6%)	
Alela D	60 (32.3%)	11 (28.9%)	15 (25.0%)	0.344	1.000	0.347	86 (30.3%)	133 (35.4%)	0.182
Alela E	126 (67.7%)	27 (71.1%)	45 (75.0%)				198 (69.7%)	243 (64.6%)	
VNTR-5 27 bp									
AA	2 (2.2%)	1 (5.3%)	1 (3.3%)	0.273	0.009	0.729	4 (2.8%)	1 (0.5%)	0.072
AB	34 (36.6%)	1 (5.3%)	11 (36.7%)				46 (32.4%)	48 (25.5%)	
BB	57 (61.3%)	17 (89.5%)	18 (60.0%)				92 (64.8%)	139 (73.9%)	
AA+AB	36 (38.7%)	2 (10.5%)	12 (40.0%)	0.270	0.019	0.528	50 (35.2%)	49 (26.1%)	0.089
BB	57 (61.3%)	17 (89.5%)	18 (60.0%)				92 (64.8%)	139 (73.9%)	
AA	2 (2.2%)	1 (5.3%)	1 (3.3%)	0.608	0.441	1.000	4 (2.8%)	1 (0.5%)	0.169
AB+BB	91 (97.8%)	18 (94.7%)	29 (96.7%)				138 (97.2%)	187 (99.5%)	
AB	34 (36.6%)	1 (5.3%)	11 (36.7%)	0.187	0.007	0.661	46 (32.4%)	48 (25.5%)	0.178
AA+BB	59 (63.4%)	18 (94.7%)	19 (63.3%)				96 (67.6%)	140 (74.5%)	
Alela A	38 (20.4%)	3 (7.9%)	13 (21.7%)	0.431	0.075	0.580	54 (19.0%)	50 (13.3%)	0.052
Alela B	148 (79.6%)	35 (92.1%)	47 (78.3%)				230 (81.0%)	326 (86.7%)	
-786 T/C									
CC	12 (12.9%)	3 (15.8%)	3 (10.0%)	0.358	0.133	0.918	18 (12.7%)	29 (15.4%)	0.279
CT	52 (55.9%)	6 (31.6%)	16 (53.3%)				74 (52.1%)	81 (43.1%)	
TT	29 (31.2%)	10 (52.6%)	11 (36.7%)				50 (35.2%)	78 (41.5%)	
CC+CT	64 (68.8%)	9 (47.4%)	19 (63.3%)	0.197	0.121	0.833	92 (64.8%)	110 (58.5%)	0.256
TT	29 (31.2%)	10 (52.6%)	11 (36.7%)				50 (35.2%)	78 (41.5%)	
CC	12 (12.9%)	3 (15.8%)	3 (10.0%)	1.000	0.710	0.764	18 (12.7%)	29 (15.4%)	0.527
CT+TT	81 (87.1%)	16 (84.2%)	27 (90.0%)				124 (87.3%)	159 (84.6%)	
CT	52 (55.9%)	6 (31.6%)	16 (53.3%)	0.222	0.082	1.000	74 (52.1%)	81 (43.1%)	0.119
CC+TT	41 (44.1%)	13 (68.4%)	14 (46.7%)				68 (47.9%)	107 (56.9%)	
Alela C	76 (40.9%)	12 (31.6%)	22 (36.7%)	0.370	0.375	0.767	110 (38.7%)	139 (37.0%)	0.685
Alela T	110 (59.1%)	26 (68.4%)	38 (63.3%)				174 (61.3%)	237 (63.0%)	

¹Fisherův přesný test, statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

Tab. 8.5.

Výskyt kombinací jednotlivých genotypů

Glu298Asp (EE)	VNTR-5 27 bp (AA)	VNTR-5 27 bp (AB)	VNTR-5 27 bp (AA+AB)	-786 T/C (CT)	PAH (N=142)	Kontroly (N=188)	p
*	*				31 (21.8%)	24 (12.8%)	0.036
*		*			34 (23.9%)	25 (13.3%)	0.014
*			*		32 (22.5%)	26 (13.8%)	0.042
	*		*		28 (19.7%)	25 (13.3%)	0.131
		*	*		28 (19.7%)	26 (13.8%)	0.177
*	*		*		23 (16.2%)	19 (10.1%)	0.133
*		*	*		23 (16.2%)	20 (10.6%)	0.142

Analyzovány byly genotypy s prevalencí nad 10 %

Fisherův přesný test, statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

Tab. 8.6.

Výskyt kombinací genotypů v jednotlivých podskupinách PAH

Glu298Asp	VNTR-5' 27 bp	-786 T/C	I.	II.	III.	p	p	p
			IPAH + HPAH (N=93)	CTD-PAH (N=19)	CHD-PAH (N=30)	I.	II.	III.
ED	AB		11 (11.8%)	0 (0.0%)	4 (13.3%)	0.578	0.221	0.522
ED	BB		30 (32.3%)	7 (36.8%)	9 (30.0%)	1.000	0.793	0.829
EE	AB		23 (24.7%)	1 (5.3%)	7 (23.3%)	0.291	0.074	0.807
EE	BB		18 (19.4%)	8 (42.1%)	8 (26.7%)	0.098	0.078	0.810
ED		TC	27 (29.0%)	3 (15.8%)	6 (20.0%)	0.224	0.402	0.637
ED		TT	7 (7.5%)	4 (21.1%)	5 (16.7%)	0.091	0.232	0.331
EE		TC	21 (22.6%)	2 (10.5%)	9 (30.0%)	1.000	0.244	0.325
EE		TT	19 (20.4%)	6 (31.6%)	6 (20.0%)	0.670	0.369	1.000
	AB	TC	20 (21.5%)	0 (0.0%)	8 (26.7%)	0.513	0.025	0.306
	BB	TC	32 (34.4%)	6 (31.6%)	8 (26.7%)	0.573	1.000	0.516
	BB	TT	22 (23.7%)	9 (47.4%)	10 (33.3%)	0.079	0.099	0.650
ED	BB	TC	24 (25.8%)	3 (15.8%)	4 (13.3%)	0.137	0.766	0.319
EE	AB	TC	17 (18.3%)	0 (0.0%)	6 (20.0%)	0.474	0.043	0.578
EE	BB	TT	14 (15.1%)	5 (26.3%)	5 (16.7%)	0.482	0.320	1.000

Analyzovány byly genotypy s prevalencí nad 10 %

Fisherův přesný test, statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

Tab. 8.7.

Vztah jednotlivých genotypů k akutní vazoreaktivitě (N=142)

Glu298Asp VNTR-5 27 bp -786 T/C									
	N	PAMP1/PAMP2 ¹	p ²	N ²	CI1/CI2 ¹	p ²	N ²	PAR1/PAR2 ¹	p ²
ED AB	14	1.12(0.69;1.63)	0.053	14	0.76(0.66;0.93)	0.919	11	1.49(1.11;4.36)	0.255
	103	1.02(0.81;1.31)		102	0.77(0.60;1.00)		96	1.41(0.97;2.21)	
ED BB	39	1.04(0.76;1.43)	0.935	38	0.80(0.62;1.00)	0.042	35	1.40(0.96;2.12)	0.598
	78	1.03(0.82;1.33)		78	0.76(0.59;1.00)		72	1.44(0.98;2.24)	
EE AB	25	1.04(0.77;1.35)	0.770	25	0.73(0.59;0.88)	0.052	23	1.34(1.09;2.24)	0.985
	92	1.03(0.81;1.33)		91	0.79(0.60;1.00)		84	1.45(0.98;2.12)	
EE BB	26	1.03(0.89;1.25)	0.880	26	0.79(0.60;1.01)	0.435	25	1.48(0.97;1.95)	0.935
	91	1.04(0.77;1.35)		90	0.77(0.59;0.95)		82	1.41(0.98;2.24)	
ED TC	30	1.06(0.76;1.28)	0.664	30	0.78(0.66;1.00)	0.492	27	1.40(0.96;1.91)	0.883
	87	1.03(0.82;1.33)		86	0.77(0.59;0.97)		80	1.44(0.98;2.23)	
ED TT	15	1.04(0.69;1.80)	0.935	14	0.84(0.47;0.94)	0.095	12	1.41(0.98;2.12)	0.752
	102	1.03(0.81;1.31)		102	0.76(0.60;1.00)		95	1.44(0.97;2.24)	
EE TC	27	1.04(0.87;1.35)	0.632	27	0.77(0.64;1.00)	0.875	25	1.33(0.97;2.24)	0.237
	90	1.03(0.81;1.33)		89	0.77(0.60;0.96)		82	1.46(0.98;2.12)	
EE TT	24	1.01(0.86;1.25)	0.341	24	0.74(0.60;0.96)	0.184	23	1.49(1.13;2.05)	0.187
	93	1.04(0.81;1.35)		92	0.78(0.61;1.00)		84	1.39(0.98;2.24)	
AB TC	25	1.04(0.87;1.35)	0.472	25	0.73(0.64;0.88)	0.047	22	1.42(1.09;2.24)	0.535
	92	1.03(0.81;1.33)		91	0.79(0.60;1.00)		85	1.44(0.98;2.12)	
BB TC	37	1.03(0.76;1.28)	0.701	37	0.80(0.62;1.16)	0.045	35	1.38(0.96;1.91)	0.098
	80	1.04(0.85;1.34)		79	0.76(0.57;0.94)		72	1.46(1.09;2.24)	
BB TT	35	1.02(0.88;1.33)	0.938	34	0.79(0.47;0.96)	0.903	32	1.48(0.98;2.21)	0.270
	82	1.04(0.77;1.33)		82	0.77(0.62;1.00)		75	1.39(0.97;2.24)	
ED BB TC	25	1.04(0.76;1.28)	0.950	25	0.80(0.67;1.00)	0.158	23	1.38(0.96;1.91)	0.657
	92	1.03(0.82;1.33)		91	0.77(0.59;0.97)		84	1.44(0.98;2.21)	
EE AB TC	20	1.04(0.80;1.47)	0.834	20	0.73(0.60;0.94)	0.155	18	1.34(0.86;3.10)	0.990
	97	1.04(0.81;1.33)		96	0.78(0.60;1.00)		89	1.45(0.98;2.12)	
EE BB TT	19	1.00(0.86;1.31)	0.615	19	0.75(0.60;1.01)	0.453	18	1.52(0.82;2.21)	0.150
	98	1.04(0.77;1.35)		97	0.77(0.59;1.00)		89	1.39(0.98;2.24)	

¹ Proměnné jsou popsány jako medián (5-95 percentil)² Mann-Whitneyův U test, statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

8.4. Diskuse

Záměna aspartátu za glutamát na pozici 298 genu pro eNOS vede ke změně funkce enzymu, která je spojována s jeho horší vazbou na substrát. Ačkoli je genový polymorfismus Glu298Asp v sedmém exonu genu pro eNOS spojován s řadou kardiovaskulárních patologií, v naší práci se nám nepodařilo prokázat u nemocných s PAH vyšší prevalenci alely D nebo non-EE genotypu. Podobně se například nepodařilo prokázat vztah tohoto polymorfismu k akutnímu koronárnímu syndromu v korejské populaci (40). Určité vysvětlení kontroverzních nálezů může představovat skutečnost, že velikost studovaných souborů byla v jednotlivých studiích rozdílná. Diskrepanční nálezy lze rovněž vysvětlit úvahou, že non-EE genotyp se projeví změnou funkce eNOS pouze za podmínek oxidativního stresu. Toto vysvětlení pochází z pozorování některých autorů, kteří zjistili silnou asociaci mezi genotypem DD u nemocných s ICHS, ale neprokázali ji u arteriální hypertenze (41,42).

VNTR-5 tandemová 27 bp repetice na 4. intronu genu pro eNOS v non-BB konstituci je rovněž spojována se zvýšeným rizikem řady kardiovaskulárních onemocnění. Delší B alela zahrnuje 5 tandem repeticí gaagtctagacctgctgc(a/g)gggtgag, kratší alela 4. Důsledkem je snížená produkce NO u nosičů alely A. U nemocných s PAH jsme prokázali hraničně statisticky signifikantně vyšší prevalenci alely A proti kontrolám (19% u PAH, 13.3 % u kontrol, $p=0.052$). Genotyp AA se vyskytuje signifikantně častěji u pacientů s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva než u pacientů s idiopatickou, hereditární a PAH a u PAH asociované s vrozenou srdeční vadou. Přítomnost alely A a genotypu AA tak může představovat rizikový faktor pro rozvoj PAH u nemocných se systémovým onemocněním pojiva. Tento nález tak může být dalším kritériem při posuzování indikace invazivního hemodynamického vyšetření u nemocných s detekovanými hraničními tlaky v plicnici nebo s lehkou plicní hypertenzí, zejména jsou-li oligosymptomatictí.

Genový polymorfismus -786 T/C na promotoru genu pro eNOS je způsoben záměnou v sekvenci bazí (tymin za cytozin). Genotyp non TT je spojován se sníženou aktivitou promotoru a v důsledku toho se sníženou produkcí NO a vyšší pohotovostí k vazokonstrikci a

k remodelačním změnám. V naší práci jsme neprokázali signifikantní rozdíl mezi prevalencí alely C u nemocných s PAH a u kontrol ($p=0.573$). Heterozygoti TC při současně přítomném genotypu AB polymorfismu VNTR tandemová 27 bp repetice na 4. intronu genu pro eNOS se však signifikantně častěji vyskytují v populaci pacientů s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva.

Při analýze vztahu jednotlivých genotypů k výsledku vazodilatační reakce jsou nálezy diskrepatní. U nosičů některých genotypů dochází k signifikantně výraznějšímu nárůstu srdečního indexu na vrcholu vazodilatace, u jiných ke statisticky signifikantně nižšímu nárůstu srdečního výdeje. Klíčový parametr, kterým je změna plicní cévní rezistence, se však u nosičů jednotlivých genotypů signifikantně neliší. Vysvětlením může být skutečnost, že u většiny pacientů s PAH v okamžiku stanovení diagnózy již nelze významnější vazoreaktivní potenciál vůbec zaznamenat.

8.5. Závěr

Prevalence alely A VNTR-5 tandemové 27 bp repetice genu pro eNOS je hraničně signifikantně vyšší u pacientů s PAH ve srovnání s kontrolami. Výskyt genotypu AA, který je statisticky signifikantně častější u nemocných s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva může zpřesnit indikaci invazivního hemodynamického vyšetření u pacientů se systémovým onemocněním pojiva a detekovanou plicní hypertenzí.

V naší práci jsme neprokázali významnější vztah polymorfismů Glu298Asp v sedmém exonu a -786 T/C na promotoru genu pro eNOS k PAH. Rovněž jsme neprokázali přesvědčivý vztah mezi vyšetřenými polymorfismy a vazoreaktivitou u těchto nemocných.

9. Koagulační profil u plicní arteriální hypertenze

9.1. Úvod

U PAH je známa řada abnormit koagulačního a fibrinolytického systému. Zvýšena bývá hladina vWF, fibrinopeptidu A, inhibitoru aktivátoru plasminogenu a tromboxanu. Naopak snížena bývá hladina tkáňového aktivátoru plasminogenu a trombomodulinu. Rovněž významnou roli hraje posunutí rovnováhy mezi produkcí vazokonstriktorů (tromboxan, serotonin, endothelin) se účinky protombotickými a vazodilatátorů (NO, prostacyklin) s účinky antitrombotickými ve prospěch produkce vazokonstriktorů u dysfunkčního endotelu. Důsledkem interakce dysfunkčního cévního endotelu s krevními destičkami a plazmatickými koagulačními faktory u PAH je zvýšená pohotovost ke vzniku trombů in situ vedoucí k tzv. trombotické arteriopatii při poruše rovnováhy mezi aktivací trombocytů, aktivací koagulace, inhibicí agregace krevních destiček a aktivací fibrinolytických mechanismů. (25). Znamky trombotické arteriopatie lze nalézt u všech forem těžké prekapilární plicní hypertenze, podle některých autorů až u 75 % nemocných s CTEPH a u 50 % nemocných s PAH (26).

Většina abnormit koagulačního a fibrinolytického systému byla dosud popsána u pacientů s idiopatickou PAH. Podstatně méně se ví o jejich výskytu u jednotlivých asociovaných forem PAH. U některých z nich však může být role trombózy významná. Například u mnoha nemocných s Eisenmengerovým syndromem nacházíme pravidelně i trombózu velkých větví plicnice.

Poruchy koagulačního a fibrinolytického systému jsou spolu s klinickou evidencí a dokumentovaným rozvojem trombotické arteriopatie základem pro indikaci antikoagulační léčby u pacientů s idiopatickou PAH. Současný pohled na chronickou antikoagulační léčbu u asociovaných forem PAH je spíše zdrženlivý. Trombofilie není laboratorně dostatečně prokázána, dlouhodobý účinek antikoagulace není klinicky spolehlivě doložen a riziko krvácivých komplikací zejména u pacientů s PAH asociovanou s vrozenými srdečními vadami není zanedbatelné.

9.2. Soubor nemocných a metodika

Vybrané koagulační parametry byly vyšetřeny u 93 pacientů s PAH diagnostikovaných v Centru pro plicní hypertenzi na II. interní klinice Všeobecné fakultní nemocnice a 1.LF UK v Praze a u 79 kontrolních osob pocházejících z České republiky. Celkem 59 nemocných mělo idiopatickou a familiární PAH, 13 pacientů mělo PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva a 21 pacientů mělo PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou (defekt septa síní, defekt septa komor, otevřená tepenná dučej, komplexní vrozená srdeční vada, případně PAH v důsledku pozdě korigované vrozené srdeční vady).

Diagnóza PAH byla vždy potvrzena invazivním hemodynamickým vyšetřením. U všech nemocných byla hodnota středního tlaku v plicnici ≥ 25 mmHg v klidu a hodnota tlaku v zaklínění pod 15 mmHg. Nomenklatura podskupin PAH vychází z klinické klasifikace PAH publikované v doporučených postupech Evropské kardiologické společnosti v roce 2009 (1). Z analýzy byli vyloučeni nemocní s významnou poruchou ventilačních parametrů (FVC nebo TLC nebo FEV1 < 60 % náležitých hodnot), u nichž může být plicní hypertenze důsledkem respiračního onemocnění. Také byli vyloučeni nemocní s významným onemocněním levého srdce.

Struktura jednotlivých podskupin PAH ve vyšetřeném souboru je uvedena v tabulce 9.1. Charakteristika jednotlivých podskupin PAH (idiopatická a hereditární PAH, PAH asociovaná se systémovými onemocněními pojiva, PAH asociovaná s vrozenými zkratovými srdečními vadami) je uvedena v tabulce 9.2.

Kontrolní skupinu představovali zdraví dárči krve, kteří se proti skupině PAH nelišili významněji v zastoupení pohlaví (67% žen ve skupině PAH a 62.7 % žen v kontrolní skupině) a podle věku (medián ve skupině PAH 60.8 roku, medián v kontrolní skupině 59 let).

Tab. 9.1.

Struktura podskupin PAH ve vyšetřeném souboru

PAH (N=93)	N (%)
IPAH + HPAH	59
IPAH	53(89.8%)
HPAH	6(10.2%)
PAH asociovaná se systémovými onemocněními pojiva	13
Systémová sklerodermie	4(30.8%)
Systémový lupus erytematodes	1(7.7%)
Revmatoidní artritida	1(7.7%)
Sjogrenův syndrom	1(7.7%)
Ostatní	6(46.2%)
PAH asociovaná s vrozenou srdeční vadou	21
Defekt septa síní	7(33.3%)
Defekt septa komor	10(47.6%)
Otevřená tepenná dučej	2(9.5%)
Ostatní	1(4.8%)
Reziduální po pozdní korekci vady	1(4.8%)

Tab. 9.2.

Charakteristika jednotlivých podskupin PAH

	IPAH + HPAH (N=59)	CTD-PAH (N=13)	CHD-PAH (N=21)	P
Pohlaví				
Muži	19 (32.2%)	3 (23.1%)	6 (28.6%)	0.569
Ženy	40 (67.8%)	10 (76.9%)	15 (71.4%)	
Věk (roky)	62.8 (28.8;75.7)	67.0 (43.2;81.8)	44.3 (23.3;67.8)	<0.001
Výška (cm)	165.0 (148.0;184.0)	162.5 (150.0;172.0)	165.0 (137.0;177.0)	0.695
Váha (kg)	75.5 (55.0;115.0)	71.0 (64.0;91.0)	60.0 (42.0;123.0)	0.080
BMI (kg/m²)	28.0 (19.0;39.8)	26.8 (23.0;40.0)	23.0 (15.0;45.2)	0.156
6MWD (m)	292.5 (0.0;509.0)	234.0 (0.0;449.0)	358.0 (196.5;541.5)	0.097
Borg	6.00 (1.00;9.00)	6.50 (0.00;10.00)	5.00 (1.50;8.50)	0.645
PAMP (mmHg)	50.0 (28.0;81.0)	39.0 (26.0;56.0)	78.0 (30.0;101.0)	0.001
PASP (mmHg)	80.0 (41.0;114.0)	57.0 (38.0;85.0)	116.0 (47.0;139.0)	<0.001
PCWP (mmHg)	13.0 (7.0;17.0)	10.0 (7.0;18.0)	14.0 (8.0;20.0)	0.045
CI (l/min/m²)	3.55 (1.54;6.55)	4.74 (1.56;7.13)	3.73 (2.60;7.07)	0.214
SaO₂ (%)	94.0 (81.0;97.9)	95.2 (87.0;98.1)	89.0 (77.2;97.7)	0.002
SvO₂ (%)	69.5 (54.0;81.0)	72.7 (58.2;81.1)	75.0 (64.6;83.8)	0.061
PVR (WU)	7.67 (2.37;19.80)	5.23 (1.54;14.11)	11.1 (2.5;20.3)	0.218
TLC (% n.h.)	96.3 (62.0;126.3)	79.3 (61.0;90.8)	90.4 (61.0;120.4)	0.024
FEV₁ (% n.h.)	93.0 (65.0;125.3)	88.5 (57.0;127.0)	74.4 (46.0;108.5)	0.055
EF LK (%)	62.0 (50.0;73.0)	63.0 (45.0;69.0)	60.0 (47.0;74.0)	0.858

Kategoriální proměnné jsou uvedeny jako počet a procento.

Spojité proměnné jsou popsány jako medián (5-95 percentil)

Chi-kvadrát test maximální věrohodnosti byl použit pro analýzu kategoriálních dat, Kruskal-Wallisův pro data spojitá. Statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

Ze základních koagulačních parametrů byl hodnocen fibrinogen, aPTT, INR, protein C, protein S, APC rezistence, AT III, D-dimer, APA IgG, APA IgM, Faktor VIII, vWF, t-PA a PAI.

Fibrinogen byl stanovován modifikovanou Claussovou metodou v citrátové plazmě pomocí Fibrinogen reagentie (Technoclone GmbH, Wien, Austria). Citrátová plazma byla naředěna a inkubována po přidání nadbytku trombinu (zhruba 80 IU/ml). Následně byl změřen reakční čas. Mezi logaritmem koagulačního času a koncentrací fibrinogenu existuje lineární závislost.

Aktivovaný parciální tromboplastinový čas (aPTT) byl stanovován v citrátové plazmě pomocí Pathromtinu SL (Dade Behring, Marburg, SRN). Inkubace plazmy s optimálním množstvím fosfolipidů a povrchovým aktivátorem vede k aktivaci faktorů endogenního koagulačního systému. Přidáním kalciových iontů se spustí koagulace; měří se čas do vzniku fibrinového koagulátu.

Ke stanovení tromboplastinového času byl použit Thromborel S - Humánní thromboplastin obsahující kalcium (Thromborel[®] S, Dade Behring, Marburg, SRN). Principem metody je vyvolání koagulace při inkubaci plazmy s optimálním množstvím tromboplastinu a kalcia. Měří se čas do vzniku fibrinového koagulátu. Výsledek měření se udává v sekundách, případně jako prothrombin ratio. Prothrombin ratio může být za použití international sensitivity indexu přepočteno na mezinárodně srovnatelné hodnoty a tím se získá international normalised ration (INR).

Protein C byl určován imunochemicky pomocí Berichrom Protein C (Dade Behring Marburg GmbH, Německo). Při testu se protein C ve vzorku aktivuje specifickým aktivátorem z hadího jedu. Vzniklý protein C se měří kinetickým testem jako nárůst extinkce při 405 nm.

Ke stanovení funkční aktivity volného proteinu S byl užit test ProSTM. Principem testu je měření prodloužení protrombinového času v přítomnosti tkáňového faktoru, fosfolipidů, vápenatých iontů a aktivovaného proteinu C. Aktivita proteinu S je úměrná prodloužení času srážení směsi protein S deficitní plazmy a naředěného vzorku.

APC rezistence byla analyzována pomocí Coatest^R APC Resistance (Chromogenix ABMoIndal, Sweden). V testu je plazma inkubována s aPTT reagensiemi po standardní časovou periodu. Srážení je iniciováno přidáním CaCl₂ v přítomnosti a nepřítomnosti APC a čas nutný pro srážení je zaznamenán.

Antitrombin byl stanovován pomocí Berichromu Antitrombin III (Dade Behring, Marburg, SRN). AT III ve vzorku se váže na trombin za přítomnosti heparinu a přebytečné množství trombinu vytvoří se substrátem p-nitroanilinové zbarvení, které je měřeno v kinetickém testu při 405 nm.

D-dimer byl určován pomocí latexově zesíleného turbidimetrického testu (D-Dimer PLUS, Dade Behring, Marburg, SRN). V testu aglutinují polystyrenové částice s navázanou monoklonální protilátkou DD5 proti příčně zesíleným štěpným produktům fibrinu (D-dimer) pokud jsou v kontaktu se vzorkem obsahujícím D-dimer. Epitop pro monoklonální protilátku je přítomen dvakrát, proto stačí jedna protilátka pro vyvolání aglutinační reakce. Ta je detekována nárůstem turbidity.

Stanovení antifosfolipidových protilátek IgG, IgM bylo provedeno ELISA testem v citrátové plazmě (Orgentec Diagnostika GmbH, Mainz, Germany). Protilátky se vážou na směs vysoce purifikovaných fosfolipidů v mikrotitrační destičce. Anti-lidský IgG nebo IgM značený křenuvou peroxidázou se imunologicky váže za vzniku komplexu konjugát/protilátka/antigen. Enzymový substrát se v přítomnosti navázaného konjugátu hydrolyzuje za vzniku modrého zbarvení. Přídavek kyseliny zastaví reakci tvorbou konečného žlutě zbarveného produktu. Intenzita žlutého zbarvení je měřena fotometricky při vlnové délce 450 nm.

Principem určení procenta aktivity koagulačního faktoru VIII bylo určení stupně korekce získané tak, že se naředěná testovaná plazma přidá k faktor VIII deficientní plasmě (lyofilizovaná směsná plazma, ze které byl faktor VIII odstraněn imunoabsorbci specifickou protilátkou antiVIII, přičemž aktivita faktoru VIII je menší než 1% s přihlédnutím k směsné normální plazmě definované jako 100 % aktivity). Stupeň korekce je určován aPTT a udáván

v procentech normy, čtených rovnou z referenční křivky vytvořené z normální plasmy. Normální plazma je uvažována jako 100 % korekce.

Stanovení vysoce citlivého CRP bylo prováděno pomocí aglutinační reakce s monoklonálními protilátkami proti CRP (N vysoce citlivé CRP, Dade Behring, Marburg, SRN). Monoklonální protilátky jsou navázány na polystyrolových částicích. To způsobuje rozptyl dopadajícího světla. Intenzita rozptýleného světla je závislá na koncentraci CRP ve vzorku. Vyhodnocení se provádí porovnáním se známou koncentrací ve standardu.

Ke kvantitativnímu stanovení antigenu vWF byl použit enzymový imunotest READS® (Von Willebrand antigen test kit, Corgenix, Broomfield, Colorado, USA). Jedná se o kvantitativní ELISA metodu, při níž je zředěná plazma inkubována s protilátkami. Pro stanovení vWF se používá křenová peroxidáza jako konjugát. Po následném přidání chromogenního substrátu tetramethylbenzidinu s peroxidem vodíku je síla zbarvení měřena jako optická hustota spektrofotometrem při 450 nm.

Tkáňový aktivátor plazminogenu (t-PA) byl v citrátové plazmě určován pomocí enzymového imunotestu (ELITEST t-PA, HYPHEN BioMed, Neuville sur Oise, Francie). V testu se t-PA ve vzorku váže na směs monoklonálních protilátek proti t-PA. Následuje přidání enzymem značené monoklonální protilátky anti-t-PA a roztoku substrátu. Působením enzymu na substrát vzniká modře zbarvený produkt, který zežloutne po přidání kyseliny. Absorbance se odečítá při 450 nm. Intenzita zbarvení je úměrná koncentraci t-PA původně přítomného ve vyšetřovaném vzorku.

Inhibitor aktivátoru plazminogenu (PAI-1) byl stanovován v citrátové plazmě enzymovým imunotestem (ELITEST PAI-1, HYPHEN BioMed, Neuville sur Oise, Francie). Při reakci se obdobně jako při stanovení t-PA váže PAI-1 ve vzorku s protilátkami. Po přidání enzymem značené monoklonální protilátky anti-PAI-1 vzniká konjugát, který po přidání substrátu pro enzym vede ke vzniku modře zbarveného produktu. Reakce je zastavena přidáním kyseliny

sírové. Intenzita zbarvení je úměrná koncentraci PAI-1 přítomného v původním vyšetřovaném vzorku. Absorbance se odečítá při 450 nm.

Pro statistickou analýzu byly použity standardní deskriptivní metody. Kontinuální proměnné jsou popsány jako medián, 5. a 95. percentil. Kategoriální proměnné jsou popsány jako celkový počet a procento z celkového počtu. Způsob testování statistické významnosti je uveden pod jednotlivými tabulkami.

9.3. Výsledky

9.3.1. Charakteristika analyzovaných souborů

Pacienti s diagnostikovanou PAH měli všichni prekapilární plicní hypertenzi, většinou těžkou. Při srovnání podskupiny nemocných s idiopatickou/hereditární PAH, PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva a PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou je zřejmé, že není patrný rozdíl ve věku, výšce, váze, BMI, vzdálenosti dosažené při testu šestiminutovou chůzí, Borgově skóre dušnosti, srdečním indexu, plicní cévní rezistenci, saturaci smíšené žilní krve kyslíkem, jednovteřinovém výdechu a v systolické funkci levé komory (tabulka 9.2.). Nemocní s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou byli významně mladší než pacienti v ostatních dvou podskupinách PAH ($p < 0.001$), měli významně vyšší střední tlak v plicnici ($p = 0.001$), systolický tlak v plicnici ($p < 0.001$), tlak v zaklíněné plicnici ($p = 0.045$) a signifikantně nižší saturaci tepenné krve kyslíkem ($p = 0.002$). Pacienti s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva měli signifikantně nižší celkovou plicní kapacitu než pacienti v ostatních dvou podskupinách PAH ($p = 0.024$).

9.3.2. Koagulační profil u celého souboru pacientů s PAH

Srovnání jednotlivých koagulačních parametrů mezi skupinou nemocných s PAH a kontrolní skupinou je uvedeno v tabulce 9.3. U nemocných s PAH jsme zaznamenali

signifikantně vyšší hladinu fibrinogenu ($p=0.016$), CRP, vysoce citlivého CRP ($p<0.001$), a signifikantně nižší hladinu D-dimeru ($p=0.004$).

Pacienti s PAH měli signifikantně nižší hladinu AT III ($p<0.001$), a vyšší hladinu proteinu S ($p=0.040$). Hladina proteinu C a APC rezistence se u nemocných s PAH a v kontrolním souboru signifikantně nelišila.

U nemocných s PAH jsme proti kontrolnímu souboru zaznamenali signifikantně vyšší hladinu antifosfolipidových protilátek ve třídě IgM ($p=0.014$) i IgG ($p<0.001$). U pacientů s PAH byla také statisticky signifikantně vyšší hladina vWF, t-PA i PAI ($p<0.001$).

9.3.3. Koagulační profil v jednotlivých podskupinách nemocných s PAH

Srovnání mezi koagulačními parametry u jednotlivých podskupin PAH je uvedeno v tabulce 9.4. Nemocní s idiopatickou/hereditární PAH a PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva mají ve srovnání s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou signifikantně vyšší hladinu fibrinogenu ($p=0.003$) a vWF ($p=0.002$). Hladina t-PA je u nemocných s PAH u vrozených srdečních vad signifikantně nižší ($p=0.004$). V ostatních parametrech se soubory jednotlivých podskupin PAH statisticky signifikantně nelišily.

9.3.4. Vztah koagulačních parametrů k hemodynamice v celém souboru nemocných s PAH

V tabulce 9.5. je uveden vztah mezi jednotlivými koagulačními parametry a vybranými hemodynamickými parametry (PAMP, CI, PAR) v celé skupině nemocných s PAH.

Je patrná negativní korelace mezi hladinou fibrinogenu a PAMP ($r=-0.219$, $p=0.035$) a vysoce citlivým CRP a PAMP ($r=-0.288$, $p=0.008$). Rovněž negativní korelace je mezi hladinou AT III a PAMP ($r=-0.256$, $p=0.013$), hladinou vWF a PAMP ($r=-0.307$, $p=0.003$) a PAI a PAMP ($r=-0.232$, $p=0.028$). Pozitivní korelace je mezi aPTT a PAMP ($r=0.288$, $p=0.005$) a INR a PAMP ($r=0.364$, $p<0.001$).

Prokázali jsme pozitivní korelaci mezi vysoce citlivým CRP a CI ($r=0.424$, $p<0.001$), hladinou AT III a CI ($r=0.256$, $p=0.016$) a negativní korelaci mezi INR a CI ($r=-0.215$, $p=0.044$), t-PA a CI ($r=-0.262$, $p=0.019$).

Dále je patrná negativní korelace mezi hladinou AT III a PAR ($r=-0.306$, $p=0.008$) (obr. 9.1.) a PAI a PAR ($r=-0.269$, $p=0.023$).

9.3.5. Vztah koagulačních parametrů k hemodynamice u nemocných s idiopatickou a hereditární PAH

V tabulce 9.6. je analýza vztahu mezi jednotlivými hemokoagulačními a vybranými hemodynamickými parametry u pacientů s idiopatickou a hereditární PAH.

Je patrná negativní korelace mezi hladinou AT III a PAMP ($r=-0.272$, $p=0.037$) a pozitivní korelace mezi aPTT a PAMP ($r=0.261$, $p=0.046$) a mezi hladinou t-PA a PAMP ($r=0.289$, $p=0.038$).

Mezi hladinou vysoce citlivého CRP a CI jsme zaznamenali pozitivní korelaci ($r=0.504$, $p<0.001$). Dále jsme zaznamenali pozitivní korelaci mezi hladinou AT III a CI ($r=0.279$, $p=0.038$), a hladinou faktoru VIII a CI ($r=0.412$, $p=0.026$).

Při hodnocení vztahu mezi koagulačními parametry a PAR jsme zaznamenali negativní korelaci mezi hladinou AT III a PAR ($r=-0.308$, $p=0.039$) (obr. 9.2.) a pozitivní korelaci mezi t-PA a PAR ($r=0.373$, $p=0.018$).

9.3.6. Vztah koagulačních parametrů k hemodynamice u nemocných s PAH asociovanou se systémovými onemocněními pojiva

V tabulce 9.6. je shrnuta analýza vztahu mezi jednotlivými hemokoagulačními a vybranými hemodynamickými parametry u pacientů s PAH asociovanou se systémovými onemocněními pojiva.

Není patrná významnější závislost mezi vyšetřenými koagulačními parametry a PAMP, CI, PAR.

9.3.7. Vztah koagulačních parametrů k hemodynamice u nemocných s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou

V tabulce 9.8. jsou uvedeny výsledky analýzy vztahu mezi jednotlivými hemokoagulačními a vybranými hemodynamickými parametry u pacientů s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou.

Zjistili jsme pozitivní korelaci mezi INR a PAMP ($r=0.527$, $p=0.014$) a negativní korelaci mezi hladinou proteinu C a PAMP ($r=-0.929$, $p=0.003$), proteinu S a PAMP ($r=-0.786$, $p=0.036$) (obr. 9.3., 9.4.), mezi hladinou koagulačního faktoru VIII a PAMP ($r=-0.786$, $p=0.036$) a mezi hladinou von Willebrandova faktoru a PAMP ($r=-0.498$, $p=0.022$).

Zaznamenali jsme pozitivní korelaci mezi vysoce senzitivním CRP a CI ($r=0.454$, $p=0.045$) a mezi hladinou von Willebrandova faktoru a CI ($r=0.483$, $p=0.027$). Korelace mezi INR a CI je negativní ($r=-0.499$, $p=0.021$)

Dále jsme prokázali negativní korelaci mezi hladinou proteinu S a PAR ($r=-0.886$, $p=0.019$) a pozitivní korelaci mezi INR a PAR ($r=0.493$, $p=0.038$).

Tab. 9.3.

Hematologické parametry u nemocných s PAH a v kontrolní skupině

	PAH N=93	Kontroly N=79	p
Fbg (g/l)	3.50(2.20;5.60)	3.25(2.30;4.17)	0.016
APTT (s)	34.7(26.0;49.5)	31.5(26.4;38.3)	<0.001
INR	1.10(0.90;2.20)	0.97(0.83;1.10)	<0.001
PC (%)	106.0(65.0;154.0)	112.0(81.0;131.0)	0.850
PS (%)	94.0(58.0;135.0)	80.0(60.0;110.0)	0.040
AT III (%)	83.0(59.0;111.0)	101.0(80.7;121.0)	<0.001
APC	2.70(1.80;3.90)	2.60(1.90;3.70)	0.241
D-dimer (µg/l)	84.0(26.0;594.0)	147.0(25.0;333.7)	0.004
CRP (mg/l)	12.6(3.5;53.3)	0.30(0.11;0.88)	<0.001
CRP senz (mg/l)	0.74(0.07;7.96)	0.26(0.02;3.60)	<0.001
APA IgG (U/ml)	2.78(1.56;8.51)	1.79(0.72;7.04)	<0.001
APA IgM (U/ml)	1.97(0.54;15.02)	1.50(0.88;4.33)	0.014
vWF (%)	137.6(61.4;239.6)	106.1(65.8;145.0)	<0.001
t-PA (ng/ml)	6.34(1.83;16.44)	3.94(2.40;9.40)	<0.001
PAI (ng/ml)	77.8(45.6;108.2)	56.7(15.7;106.1)	<0.001

Spojité proměnné jsou popsány jako medián (5-95 percentil)

Chi-kvadrát test maximální věrohodnosti byl použit pro analýzu kategoriálních dat, Kruskal-Wallisův pro data spojitá. Statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

Tab. 9.4.

Hematologické parametry u jednotlivých podskupin PAH

	IPAH + HPAH (N=59)	CTD-PAH (N=13)	CHD-PAH (N=21)	P
Fbg (g/l)	3.60 (2.30;6.90)	4.00 (2.38;5.10)	2.90 (2.10;4.90)	0.003
APTT (s)	36.1 (26.1;49.5)	31.0 (26.0;69.6)	33.2 (25.8;49.0)	0.165
INR	1.10 (0.90;2.20)	1.00 (0.78;3.08)	1.10 (0.98;2.04)	0.076
PC (%)	107.0 (52.0;154.0)	120.0 (65.0;167.0)	94.0 (70.0;131.0)	0.357
PS (%)	95.0 (63.0;138.0)	100.0 (57.0;132.0)	80.0 (55.0;124.0)	0.434
AT III (%)	84.0 (60.0;112.0)	84.0 (63.0;118.0)	80.0 (53.0;109.0)	0.547
APC	2.70 (1.80;3.90)	2.80 (1.80;3.60)	2.70 (1.80;4.00)	0.941
D-dimer (µg/l)	81.0 (20.0;594.0)	136.0 (31.0;6400.0)	72.0 (29.0;191.0)	0.180
CRPsenz (mg/ml)	0.59 (0.08;7.96)	2.02 (0.17;9.65)	0.57 (0.05;4.24)	0.073
APA IgG (U/ml)	2.78 (1.41;8.51)	3.44 (1.80;16.28)	2.69 (1.80;4.58)	0.393
APA IgM (U/ml)	1.90 (0.54;21.31)	2.51 (1.00;25.43)	2.12 (0.34;8.41)	0.522
FVIII (%)	127.0 (74.0;175.0)	177.0 (74.0;189.0)	121.0 (60.0;170.0)	0.272
vWF (%)	148.9 (79.4;236.6)	150.5 (86.6;244.0)	112.2 (50.4;236.6)	0.002
t-PA (ng/ml)	7.51 (1.83;16.83)	5.63 (3.87;17.25)	3.17 (0.99;10.22)	0.004
PAI (ng/ml)	79.2 (46.8;109.0)	88.5 (56.0;110.7)	74.3 (39.2;93.4)	0.060

Spojité proměnné jsou popsány jako medián (5-95 percentil)

Chi-kvadrát test maximální věrohodnosti byl použit pro analýzu kategoriálních dat, Kruskal-Wallisův pro data spojitá. Statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

Tabulka 9.5.

Vztah hematologických parametrů a vybraných hemodynamických parametrů u nemocných s PAH

	PAMP (mmHg)	P	CI (l/min/m ²)	P	PAR (WU)	P
Fbg (g/l)	-0.219	0.035	0.073	0.498	-0.151	0.203
APTT (s)	0.288	0.005	-0.132	0.219	0.167	0.158
INR	0.364	<0.001	-0.215	0.044	0.180	0.128
PC (%)	-0.297	0.059	0.159	0.319	-0.312	0.073
PS (%)	-0.123	0.445	0.182	0.255	-0.179	0.311
AT III (%)	-0.256	0.013	0.256	0.016*	-0.306	0.008
APC	-0.006	0.958	0.019	0.864	-0.030	0.800
D-dimer (µg/l)	-0.174	0.096	0.151	0.160	-0.149	0.208
CRP (mg/ml)	0.008	0.983	0.333	0.381	-0.048	0.911
CRP senz (mg/ml)	-0.288	0.008	0.424	<0.001	-0.141	0.263
APA IgG (U/ml)	0.022	0.835	-0.036	0.743	0.110	0.360
APA IgM (U/ml)	-0.024	0.822	-0.031	0.775	-0.041	0.732
FVIII (%)	-0.246	0.111	0.248	0.109	-0.194	0.257
vWF (%)	-0.307	0.003	0.182	0.094	-0.210	0.077
t-PA (ng/ml)	0.123	0.267	-0.262	0.019	0.125	0.316
PAI (ng/ml)	-0.232	0.028	0.126	0.251	-0.269	0.023

Korelace jsou popsány pomocí Spearmanova korelačního koeficientu. Spojité proměnné jsou popsány jako medián (5-95 percentil). Statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

Tabulka 9.6.

Vztah hematologických parametrů a vybraných hemodynamických parametrů u nemocných s idiopatickou a hereditární PAH

N=59	PAMP		CI		PAR	
	(mmHg)	P	(l/min/m ²)	P	(WU)	P
Fbg (g/l)	-0.088	0.508	0.043	0.753	-0.016	0.914
APTT (s)	0.261	0.046	-0.200	0.140	0.143	0.349
INR	0.249	0.057	-0.198	0.143	-0.012	0.936
PC (%)	-0.085	0.674	0.186	0.352	-0.132	0.559
PS (%)	0.052	0.796	0.283	0.153	0.148	0.511
AT III (%)	-0.272	0.037	0.279	0.038	-0.308	0.039
APC	0.149	0.260	-0.056	0.683	0.168	0.270
D-dimer (µg/l)	-0.229	0.081	0.182	0.180	-0.118	0.440
CRP (mg/ml)	-0.036	0.933	0.262	0.531	0.036	0.939
CRP senz (mg/ml)	-0.097	0.499	0.504	<0.001	0.015	0.929
APA IgG (U/ml)	0.064	0.631	-0.076	0.582	0.092	0.553
APA IgM (U/ml)	-0.027	0.838	-0.028	0.838	-0.108	0.483
FVIII (%)	-0.035	0.856	0.412	0.026	-0.179	0.402
vWF (%)	-0.037	0.791	0.213	0.122	-0.063	0.684
t-PA (ng/ml)	0.289	0.038	-0.215	0.134	0.373	0.018
PAI (ng/ml)	-0.047	0.732	0.058	0.680	-0.126	0.421

Korelace jsou popsány pomocí Spearmanova korelačního koeficientu. Spojité proměnné jsou popsány jako medián (5-95 percentil). Statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

Tabulka 9.7.

Vztah hematologických parametrů a vybraných hemodynamických parametrů u nemocných s PAH asociovanou se systémovými onemocněními pojiva

N=13	PAMP (mmHg)	p	CI (l/min/m²)	p	PAR (WU)	p
Fbg (g/l)	-0.425	0.147	0.204	0.547	-0.211	0.558
APTT (s)	0.353	0.237	0.282	0.400	0.140	0.700
INR	0.148	0.628	0.007	0.984	0.380	0.279
PC (%)	-0.179	0.702	0.714	0.071	-0.600	0.208
PS (%)	0.162	0.728	0.072	0.878	-0.771	0.072
AT III (%)	-0.092	0.766	0.169	0.619	-0.624	0.054
APC	-0.105	0.734	0.437	0.179	-0.565	0.089
D-dimer (µg/l)	0.088	0.775	-0.342	0.304	0.267	0.455
CRP senz (mg/ml)	-0.221	0.469	-0.032	0.926	0.389	0.266
APA IgG (U/ml)	0.471	0.104	-0.096	0.780	0.498	0.143
APA IgM (U/ml)	-0.468	0.107	-0.009	0.979	-0.286	0.424
FVIII (%)	-0.036	0.939	0.000	1.000	0.143	0.787
vWF (%)	0.223	0.464	-0.323	0.332	0.596	0.069
t-PA (ng/ml)	0.502	0.115	0.033	0.932	0.033	0.932
PAI (ng/ml)	-0.408	0.167	0.346	0.297	-0.255	0.476

Korelace jsou popsány pomocí Spearmanova korelačního koeficientu. Spojité proměnné jsou popsány jako medián (5-95 percentil). Statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

Tabulka 9.8.

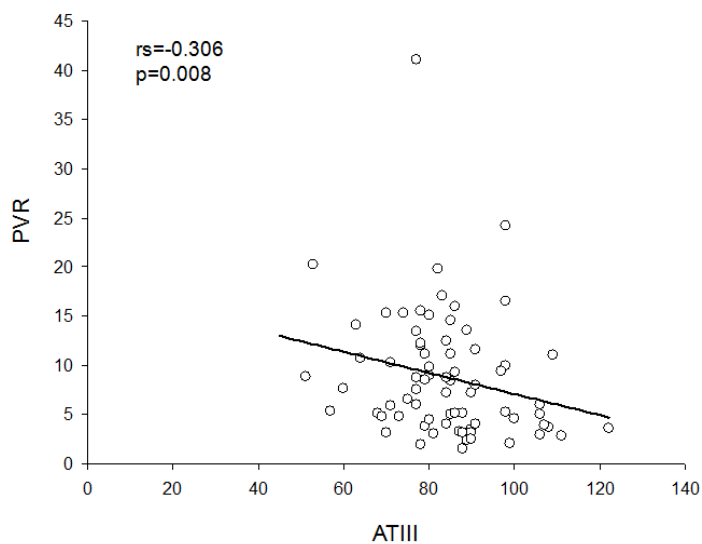
Vztah hematologických parametrů a vybraných hemodynamických parametrů u nemocných s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou

N=21	PAMP		CI		PAR	
	(mmHg)	P	(l/min/m ²)	P	(WU)	P
Fbg (g/l)	-0.136	0.556	0.255	0.265	-0.188	0.454
APTT (s)	0.381	0.088	0.043	0.854	0.106	0.675
INR	0.527	0.014	-0.499	0.021	0.493	0.038
PC (%)	-0.929	0.003	0.286	0.535	-0.600	0.208
PS (%)	-0.786	0.036	0.464	0.294	-0.886	0.019
AT III (%)	-0.336	0.136	0.263	0.250	-0.299	0.227
APC	-0.126	0.586	0.049	0.831	-0.244	0.329
D-dimer (µg/l)	0.277	0.224	0.374	0.095	-0.036	0.887
CRP senz (mg/ml)	-0.427	0.060	0.454	0.045	-0.368	0.147
APA IgG (U/ml)	-0.043	0.853	0.063	0.786	0.015	0.951
APA IgM (U/ml)	0.140	0.545	-0.118	0.610	0.214	0.395
FVIII (%)	-0.786	0.036	0.571	0.180	-0.486	0.329
vWF (%)	-0.498	0.022	0.483	0.027	-0.467	0.050
t-PA (ng/ml)	-0.051	0.830	-0.116	0.627	-0.346	0.174
PAI (ng/ml)	-0.282	0.215	0.256	0.263	-0.348	0.157

Korelace jsou popsány pomocí Spearmanova korelačního koeficientu. Spojité proměnné jsou popsány jako medián (5-95 percentil). Statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

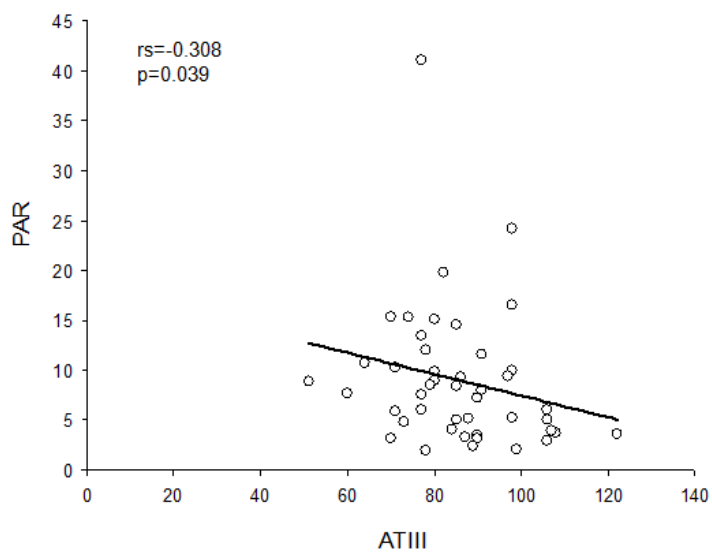
Obr. 9.1.

Vztah mezi PAR (WU) a hladinou AT III (%) u nemocných s PAH (n=73)



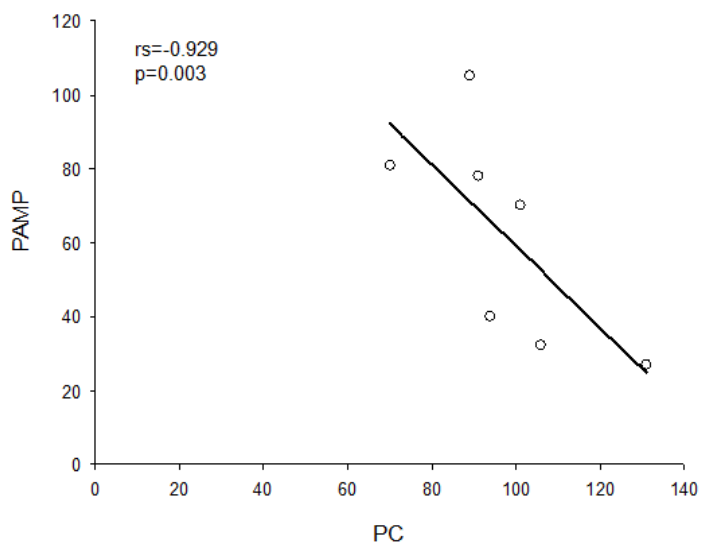
Obr. 9.2.

Vztah mezi PAR (WU) a hladinou AT III (%) u nemocných s idiopatickou a hereditární PAH (n=45)



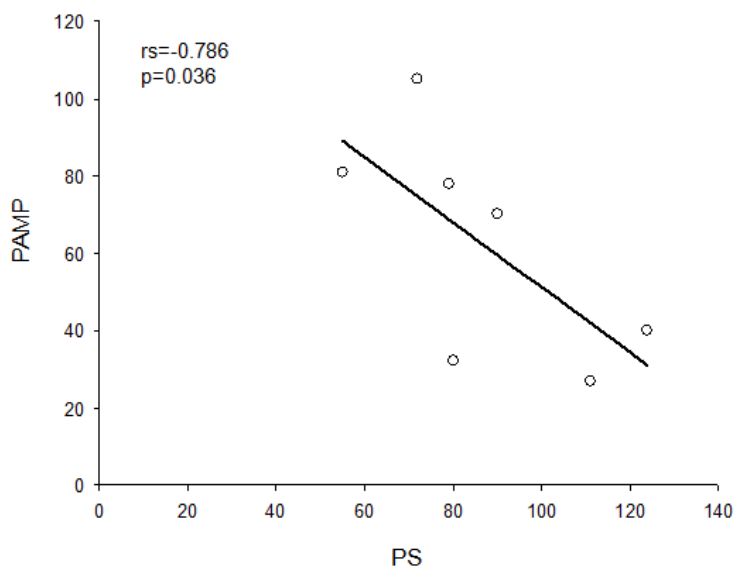
Obr. 9.3.

Vztah mezi hladinou proteinu C (%) a PAMP (mmHg) u nemocných s CHD-PAH (n=7)



Obr. 9.4.

Vztah mezi hladinou proteinu S (%) a PAMP (mmHg) u nemocných s CHD-PAH (n=7)



9.4. Diskuse

Zjištěné rozdíly ve věku mezi jednotlivými podskupinami nemocných s PAH (pacienti s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou byli mladší než pacienti s ostatními typy PAH) lze vysvětlit rozdílnou délkou rozvoje onemocnění. U PAH asociované s vrozenou srdeční vadou trvá vyvolávající příčina od narození a tedy i manifestace PAH přichází v relativně mladším věku. Roky a mnohdy i desítky let rozvoje onemocnění jsou příčinou statisticky signifikantně závažnějších hemodynamických parametrů v této podskupině. Dokumentovaná nižší saturace tepenné krve kyslíkem je způsobena pravo-levým zkratem při Eisenmengerově syndromu. Nižší celková plicní kapacita u pacientů s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva je způsobena výskytem hemodynamicky nevýznamného postižení plicního intersticiu při systémové chorobě. Závažnost funkčního postižení je z hlediska validity diagnózy PAH akceptovatelná.

Stanovení aPTT slouží jako rychlý vyhledávací test pro poruchy endogenního koagulačního systému, citlivě zachycuje faktory VIII a IX. Naopak měření INR slouží jako vyhledávací test pro stanovení koagulačních poruch v exogenním systému (faktory II, V, VII a X). Signifikantní prodloužení aPTT i INR u nemocných s PAH ve srovnání s kontrolami odráží vliv endogenního exogenního koagulačního systému na vzniku trombotické arteriopatie.

CRP je proteinem akutní fáze. Jeho koncentrace v séru nebo v plazmě stoupá v průběhu základní nespecifické odpovědi na infekční a neinfekční zánětlivé procesy včetně cévních postižení (43). CRP se tvoří v játrech a za normálních okolností je v séru přítomen ve stopovém množství. Zvýšená hodnota CRP je vždy spojena s patologickými procesy. Zvýšené hodnoty jsou nespecifické (44, 45). U pacientů s PAH může být zvýšená hladina CRP odrazem role zánětu v remodelaci plicních cév. Belgičtí autoři analyzovali CRP u 104 nemocných s PAH (46). Zjistili jeho signifikantně vyšší hladinu ve srovnání s kontrolním souborem. Vyšší hladina CRP v souboru nemocných s PAH korelovala s funkční třídou podle NYHA, s tlakem v pravé síni, negativně korelovala se vzdáleností dosaženou při testu šestiminutovou chůzí a byla také negativním prediktorem prognózy.

V našem souboru 93 nemocných s PAH zjišťujeme statisticky signifikantně vyšší hladinu CRP i vysoce citlivého CRP ve srovnání s kontrolami. Při analýze jednotlivých podskupin PAH je hladina vysoce citlivého CRP vyšší u nemocných s PAH asociovanou se systémovými onemocněními pojiva, rozdíl však není statisticky významný. Nález lze interpretovat jako nespecifický obraz zánětlivé reakce, která mimo jiné aktivuje také koagulační systém. Nepozorovali jsme korelaci mezi hladinou CRP a PAR.

Fibrinogen může být krátkodobě zvýšen jako protein akutní fáze a dlouhodobě bývá zvýšen u chronických zánětlivých procesů (47).

V celém souboru PAH nalézáme statisticky signifikantně vyšší hladinu fibrinogenu ve srovnání s kontrolním souborem. Mezi jednotlivými podskupinami PAH byla hladina fibrinogenu signifikantně vyšší u pacientů s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva. Nález lze opět interpretovat jako obraz chronické zánětlivé reakce, která je součástí cévní remodelace plicních arteriol u nemocných s PAH, zejména u PAH asociované se systémovým onemocněním pojiva. Není patrná korelace mezi hladinou fibrinogenu a hemodynamickou závažností plicní hypertenze charakterizovanou pomocí PAR.

D-dimery jsou příčně zesítěné štěpné produkty fibrinu vznikající působením plasminu. Jejich výskyt ukazuje na reaktivní fibrinolýzu a na přítomnost koagula (48).

Neprokázali jsme signifikantně vyšší hladinu D-dimeru u pacientů s PAH. Mezi jednotlivými podskupinami PAH nebyl významný rozdíl. Rovněž jsme nepozorovali vztah mezi hladinou D dimeru a hemodynamickou závažností PAH. Hladina D-dimeru byla zatím u PAH ve vztahu k tíži plicní hypertenze analyzována pouze u nemocných se systémovou sklerodermií (49). Autoři rovněž neprokázali závislost hladiny D-dimeru na tíži plicní hypertenze. Ta však byla pouze odhadována pomocí dopplerovské echokardiografie, invazivní hemodynamická data nebyla k dispozici.

AT III, protein C a protein S patří k přirozeným inhibitorům koagulace. AT III je plazmatický inhibitor trombinu. Aktivuje faktor X a tvoří s ním inaktivní komplex. Deficit může být vrozený nebo získaný při konzumpci (50). Protein C reguluje aktivitu koagulačních faktorů

V a VIII. Jeho vrožený deficit vede k venózním trombózám. Získaný deficit může souviset s nedostatkem vitamínu K (51). Protein S je vitamin K dependentní kofaktor s antikoagulačním a profibrinolytickým účinkem na aktivovaný protein C. Jako aktivní kofaktor působí jen volná forma (40% proteinu C). Deficit může být vrožený nebo získaný a je spojen s vysokým rizikem vzniku žilních trombóz. Získaný deficit vzniká při nedostatku vitamínu K, při jaterních onemocněních, v graviditě, při hormonální antikoncepci (52, 53).

V minulosti se nepodařilo u 83 pacientů s PAH prokázat významnější výskyt deficitu AT III, proteinu C nebo S (31). Při vyšetření našeho souboru 93 nemocných s PAH jsme rovněž neprokázali deficit proteinu C nebo S ve srovnání s kontrolami. Zajímavým zjištěním však je, že proteiny C a S negativně korelují s hodnotou středního tlaku v plicnici u pacientů s PAH asociovanou s vroženou srdeční vadou a protein S negativně koreluje s PAR u těchto nemocných. To může přispět k vysvětlení typického vzniku trombóz in situ i ve velkých plicních cévách u pacientů s Eisenmengerovým syndromem.

Hladina AT III byla v našem souboru na rozdíl od předchozích zjištění statisticky signifikantně nižší než v kontrolním souboru. Nepozorovali jsme rozdíl mezi jednotlivými typy PAH. Zjišťujeme ale negativní korelaci mezi hladinou AT III a PAMP, CI i PAR v celém souboru PAH a pak v podskupině nemocných s idiopatickou a hereditární PAH.

Von Willebrandův faktor bývá u PAH typicky zvýšen a považuje se také za nezávislý negativní prediktor prognózy (54). Také v našem souboru jsme prokázali statisticky významně vyšší hladinu vWF u nemocných s PAH proti kontrolnímu souboru, zejména u pacientů s idiopatickou, hereditární PAH a u nemocných s PAH asociovanou se systémovými onemocněními pojiva. Neprokázali jsme závislost hladiny vWF na tíži plicní hypertenze charakterizované hodnotou PAR.

Výskyt vyšších titrů antifosfolipidových protilátek u pacientů s PAH bývá dáván do souvislosti s poškozením cévní endothelu. Předpokládá se, že se vyskytuje především u pacientů s PAH asociovanou se systémovými onemocněními pojiva. Existují práce, které dokumentují asociaci mezi rozvojem PAH a pozitivitou antifosfolipidových protilátek u systémových onemocnění pojiva (55, 56). V našem souboru nemocných s PAH jsou hladiny

antifosfolipidových protilátek signifikantně vyšší než v kontrolním souboru, a to jak ve třídě IgM, tak ve třídě IgG. Mezi jednotlivými podskupinami PAH jsme nenalezli statisticky významný rozdíl. Stejně tak jsme nenalezli vztah mezi hladinou antifosfolipidových protilátek a hemodynamickými parametry.

Tkáňový aktivátor plazminogenu je hlavním aktivátorem fibrinolýzy. Je tvořen v buňkách cévního endotelu, odkud je uvolňován do oběhu jako reakce na podněty (stres, fyzická zátěž). V přítomnosti nerozpustného polymerního fibrinu aktivuje plazminogen a proteolytickým šrpením vzniká plazmin, který vede k odbourávání fibrinu. Poruchy ve fibrinolytickém systému zvyšují riziko žilní i arteriální trombózy (57, 58).

Při vyšetření hladiny t-PA u nemocných s PAH jsme našli vyšší hladiny než u kontrol. Při srovnání hladin t-PA u jednotlivých podskupin jsme pozorovali statisticky významně nižší hodnoty u pacientů s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou proti ostatním typům PAH. Toto zjištění může rovněž přispět k vysvětlení typického nálezu trombů vznikajících in situ ve velkých plicních cévách u pacientů s tímto typem PAH. U pacientů s idiopatickou a hereditární PAH jsme našli pozitivní korelaci mezi hladinou t-PA a PAMP a mezi hladinou t-PA a PAR.

PAI je glykoprotein syntetizovaný buňkami cévního endotelu a hepatocyty. PAI reguluje fibrinolýzu inhibicí t-PA. Bývá zvýšen u trombózy, maligních onemocnění, jaterních onemocnění, při pooperačních stavech a při sepsi. Existuje vztah mezi zvýšenými koncentracemi PAI a kardiovaskulárními rizikovými faktory (59, 60).

Při vyšetření hladiny PAI u nemocných s PAH jsme našli signifikantně vyšší hodnoty než u jedinců v kontrolním souboru. Jednotlivé podskupiny PAH se v koncentracích PAI statisticky signifikantně nelišily. Při hodnocení vztahu koncentrace PAI a hemodynamických parametrů jsme zjistili negativní korelaci mezi hladinou PAI a PAMP a PAR.

Při vyšetření pacientů s PAH zjišťujeme řadu abnormalit v koagulačním systému, které jsou integrální součástí patogenetických změn probíhajících při rozvoji PAH a vedou ve svém

důsledku ke vzniku trombotické arteriopatie. Vyšší hladiny CRP a fibrinogenu jsou nespecifickým projevem zánětu, který se na rozvoji PAH rovněž podílí.

Potvrdili jsme absenci deficitu proteinu C a S v populaci nemocných s PAH, nově jsme prokázali významně nižší hladiny dalšího přirozeného inhibitoru koagulace – AT III.

Při srovnání koagulačního profilu u jednotlivých podskupin PAH zjišťujeme zejména u pacientů s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou vedle ostatních abnormit signifikantně nižší hladinu t-PA. To může vysvětlit výraznější trombogenní potenciál těchto nemocných dokumentovatelný rozvojem in situ vznikajících trombóz i ve velkých plicních cévách.

Analýza závislosti koagulačních parametrů na vybraných hemodynamických parametrech přináší rozporuplné výsledky (negativní korelace hladiny AT III s hemodynamickými parametry a překvapivě negativní korelace mezi PAI a hemodynamickými parametry, ve většině případů absence jakékoli závislosti). Nelze tedy uzavřít, že hemodynamicky závažnější plicní hypertenze je spojena s výraznější koagulační poruchou. Toto zjištění také dokumentuje skutečnost, že závažnost plicní hypertenze nelze popsat pouhými několika parametry centrální hemodynamiky, ale řadou parametrů, které dokumentují stav myokardu pravé komory, jaterní a renální funkce, funkční třídu a funkční zdatnost.

9.5. Závěr

Koagulační profil u pacientů s PAH je charakteristický řadou abnormálních nálezů (nižší hladina přirozených inhibitorů koagulace, vyšší hladina antifosfolipidových protilátek, vyšší hladina von Willebrandova faktoru a vyšší hladina inhibitorů fibrinolýzy).

U nemocných s PAH asociovanou se systémovými onemocněními pojiva prokazujeme vyšší hladiny CRP a fibrinogenu.

U pacientů s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou je akcentována porucha fibrinolýzy. Neprokázali jsme jednoznačný vztah mezi koagulační poruchou a hemodynamickou závažností plicní hypertenze charakterizovanou PAMP, CI a PAR.

10. Výskyt plicní arteriální hypertenze v České republice

10.1. Úvod

Na sklonku 19. století, v roce 1891, Romberg popsal sklerózu plicní tepny. Jednalo se velmi pravěpodobně o první dokumentovaný případ primární plicní hypertenze (PPH). Tento termín zavedl v roce 1951 David Dresdale pro nález etiologicky nevysvětlitelné plicní hypertenze u mladších jinak zdravých jedinců (61). Větší zájem o plicní hypertenzi vzbudil v druhé polovině minulého století zvýšený výskyt PPH u pacientek užívajících některá anorektika. Reakcí na tuto skutečnost bylo pořádání prvního WHO sympózia o plicní hypertenzi v roce 1973 v Ženevě.

Ve snaze podrobněji poznat epidemiologii PPH byl v USA v roce 1981 iniciován národní registr tohoto onemocnění. Do roku 1985 bylo zařazeno celkem 187 pacientů z 32 center. Analýza těchto dat přinesla zatím nejrozsáhlejší údaje o epidemiologii PPH (35). Z USA pochází také údaje o výskytu PPH, které byly získány retrospektivní analýzou 120 nemocných s PAH diagnostikovaných na základě striktních klinických a hemodynamických kritérií na Mayo Clinic (62). V dalších letech byly retrospektivně analyzovány dostupné údaje o výskytu PPH ve Francii, Izraeli a Japonsku (63).

V roce 1994 byly publikovány některé údaje o epidemiologii PAH v Belgii na základě analýzy dat u 24 nemocných diagnostikovaných během 2 let (64).

Z následujících let pocházejí také údaje o epidemiologii chronické plicní hypertenze ve Švýcarsku (65). Do švýcarského registru bylo od ledna 1999 do prosince 2004 zařazeno 252 nemocných s PAH, plicní hypertenzí při respiračních onemocněních a s CTEPH.

Francouzský národní registr zařadil prospektivně od října 2002 do října 2003 konsekutivně všechny pacienty s PAH ve věku nad 18 let, kteří byli sledováni nebo nově diagnostikováni v celkem 17 univerzitních centrech (36). Byly získány údaje o 674 nemocných, u nichž byla diagnóza stanovena na základě katetrizace. Práce na základě striktně dodržovaných kritérií popsala epidemiologii PAH v dospělé francouzské populaci.

Informace o výskytu PAH ve Skotku vycházejí ze dvou relativně rozdílných zdrojů. Jednak z údajů expertního centra, které dispenzarizuje všechny nemocné s PAH ve Skotku a pak z národní databáze nemocných propuštěných po hospitalizaci (66).

V USA byl v roce 2004 iniciován jednotný registr plicní hypertenze. Celkem bylo do něj zahrnuto 578 pacientů s PAH diagnostikovaných v letech 1982-2006 (67).

Jediná práce o výskytu PAH v čínské populaci pochází z údajů získaných v letech 1999-2004 (68). Analyzováno bylo celkem 72 nemocných s idiopatickou a familiární PAH.

V poslední době vznikají registry podporované farmaceutickým průmyslem. Umožňují zahrnout relativně velké počty pacientů. Mezi jejich ambice nepatří popisovat epidemiologii, ale především terapeutickou strategii v reálném životě. Mezi největší registry tohoto typu patří americký registr REVEAL, který má prospektivně zahrnout data z 54 center v letech 2006-2012 (69).

Klinická problematika plicní cirkulace má v České republice dlouhou historii. Před více jak 40 lety existovaly v Praze 3 výzkumné kardiopulmonální skupiny (na II. interní klinice Všeobecné nemocnice, v Ústavu pro choroby oběhu krevního v Praze – Krčí a v Ústavu klinické a experimentální terapie). Byly zdrojem řady cenných publikací, které si získaly světový ohlas. Postupem času byly aktivity utlumeny, jednak díky nepřízni politických okolností, a také díky omezenému zájmu o onemocnění plicní cirkulace, která v té době byla stále terapeuticky velmi nevděčná.

V roce 1998 jsme se pokusili zájem o klinickou problematiku plicní hypertenze v České republice obnovit. Iniciovali jsme vznik specializovaného centra pro plicní hypertenzi na II. interní klinice Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, které se tak stalo prvním pracovištěm v ČR zaměřeným na komplexní diagnostiku a léčbu chronické plicní hypertenze.

Svoji iniciativu jsme zahájili retrospektivní analýzou počtu diagnóz PPH stanovených na českých kardiologických a pneumologických klinikách v letech 1980-1999. Podařilo se nám získat data o 17 diagnostikovaných pacientech (59 % žen, průměrný věk 43,6 roku) bez dalších údajů o jejich osudu (39). Od roku 1998 do dubna 2005 byla v našem centru stanovena diagnóza PAH u 71 % nemocných. Průměrný věk v celém souboru byl 47 let, 62 % představovaly ženy. Idiopatickou PAH mělo 34 nemocných, familiární PAH 4 nemocní, PAH

při systémových onemocněních pojiva 24 pacientů a PAH v důsledku vrozených levo-
pravých zkratových vad 7 pacientů. PAH při jaterním onemocnění byla diagnostikována ve 2
případech. Průměrný střední tlak v plicnici byl 57 mmHg, průměrný srdeční index 2,12
l/min/m² a průměrná plicní arteriolární rezistence 12,9 WU. Ve funkční třídě NYHA I a II
bylo 14 % nemocných, ve funkční třídě NYHA III 38 % nemocných a ve funkční třídě
NYHA IV 48 % nemocných (70).

Ze souboru pacientů s PAH žijících v roce 2007 v České republice jsme se pokusili získat
základní epidemiologická data o skutečném výskytu onemocnění v dospělé české populaci.

10.2. Metodika

Do sledování byli zařazeni všichni pacienti s PAH ve věku 18 let a výše diagnostikovaní před
1.1. 2007 a sledování k tomuto datu v centru pro plicní hypertenzi na II. interní klinice
Všeobecné fakultní nemocnice v Praze a na Klinice kardiologie Institutu klinické a
experimentální medicíny v Praze. Dále byli zařazeni pacienti s PAH ve věku 18 let a výše
nově diagnostikovanou na těchto dvou pracovištích od 1.1. 2007 do 31.12. 2007.

Diagnóza PAH předpokládala invazivní hemodynamické vyšetření, hodnotu středního tlaku
v plicnici ≥ 25 mmHg v klidu a hodnotu tlaku v zaklíněné plicnici pod 15 mmHg. Za datum
diagnózy bylo považováno datum pravostranné srdeční katetrizace. Nomenklatura podskupin
PAH vychází z klinické klasifikace PAH. Z analýzy byli vyloučeni nemocní s těžkou
poruchou ventilačních parametrů (FVC nebo TLC nebo FEV1 < 60 % náležitých hodnot) a
nemocní s významným onemocněním levého srdce. Přítomnost vazoreaktivity byla
posuzována při testu akutní plicní vazodilatace. Jako vazodilatans byl použit intravenózní
nebo inhalační syntetický analog prostacyklinu. Pozitivní test byl definován jako pokles
středního tlaku v plicnici alespoň o 10 mmHg vstupních hodnot s konečnou hodnotou
středního tlaku v plicnici pod 40 mmHg bez poklesu srdečního výdeje.

Incidence PAH byla stanovena analýzou případů nově diagnostikovaných během roku 2007.
Prevalence PAH byla stanovena analýzou diagnostikovaných případů aktuálně
dispenzarizovaných k definovanému datu. Výpočet prevalence a incidence vycházel z počtu

8257780 dospělých obyvatel v České republice ke konci roku 2007. Výpočet byl standardizován na 100 000 dospělých obyvatel (71).

10.3. Výsledky

10.3.1. Soubor nemocných

Do registru bylo zařazeno 191 pacientů s PAH. Celkem 79.6 % nemocných (n=152) bylo diagnostikováno na II. interní klinice Všeobecné fakultní nemocnice v Praze, 20.4 % nemocných (n=39) bylo diagnostikováno na Klinice kardiologie IKEM v Praze. U 52,3 % pacientů (n=100) byla diagnóza stanovena před 1.1. 2007, 47.7 % pacientů (n=91) bylo diagnostikováno od 1.1. 2007 do 31.12. 2007.

V souboru převažovaly ženy (n=125), průměrný věk u žen byl 51,9 roku, u mužů 51,4 roku. Rozdíl ve věku mezi pohlavím nebyl statisticky významný. Z hlediska distribuce v jednotlivých dekádách bylo nejvíce pacientů diagnostikováno ve věku 51-70 let. V roce 2007 byli diagnostikováni nemocní signifikantně starší než v letech předchozích (tabulka 10.1.).

Nejčastěji diagnostikovaným typem PAH byla idiopatická a hereditární PAH (64.4%), pak následovala PAH asociovaná s vrozenou srdeční vadou (20 %) a se systémovým onemocněním pojiva (11.4 %). Proporce těchto jednotlivých podskupin se u incidentních a prevalentních případů zásadně nelišila (tabulka 10.2.).

10.3.2. Klinické, hemodynamické a funkční parametry nemocných s PAH

V tabulce 10.3. jsou uvedeny klinické, hemodynamické a funkční parametry u pacientů s PAH v prevalenci a incidenci. Prevalentní a incidentní případy se nelišily v BMI, ve funkční třídě podle NYHA, ve vzdálenosti dosažené při testu šestiminutovou chůzí a v Borgově škále dušnosti. Dále nebyl patrný rozdíl v hodnotě tlaku v pravé síni a v hodnotě saturace tepenné krve kyslíkem. Naopak pacienti nově diagnostikovaní v roce 2007 měli signifikantně nižší hodnotu saturace smíšené žilní krve kyslíkem, měli nižší srdeční výdej a srdeční index a vyšší

hodnoty systolického, diastolického a středního tlaku v plicnici. S tím souvisí také signifikantně vyšší hodnota plicní cévní rezistence v této skupině.

Test akutní plicní vazoreaktivity byl proveden u všech pacientů. Celkově byl test pozitivní u 3,1 % pacientů (n=6). U pacientů s idiopatickou PAH byl test pozitivní v 5 případech, u nemocných s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva byl test pozitivní v 1 případě. U ostatních podskupin PAH jsme vazoaktivní potenciál nezaznamenali.

Většina pacientů (71.2 %) byla diagnostikována ve funkční třídě NYHA III a IV.

10.3.3. Incidence a prevalence

Odhadovaná roční incidence PAH v dospělé české populaci je celkem 1.07 případů na 100 000 obyvatel, u mužů 0.75 na 100 000 a u žen 1.37 na 100 000.

Odhadovaná prevalence PAH v dospělé české populaci je 2.24 případů na 100 000 obyvatel, u mužů 1.6 na 100 000 a u žen 2.85 na 100 000.

10.3.4. Přežívání pacientů s PAH

V celém souboru činila doba od prvních symptomů do stanovení správné diagnózy průměrně 38.7 měsíce. U nemocných s idiopatickou a hereditární PAH byla doba od prvních symptomů do stanovení diagnózy 37.2 měsíce, u pacientů s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou 52 měsíců a tato doba se významně nelišila mezi incidentními a prevalentními případy. U nemocných s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva byla průměrná doba do stanovení správné diagnózy 30.8 měsíce, ale u nemocných diagnostikovaných nově v roce 2007 byla statisticky signifikantně kratší (průměrně 12.6 měsíce proti 46.9 měsíce u dříve diagnostikovaných, $p=0.049$) (tabulka 10.4.).

Na obrázku 8.1. je Kaplan-Meierova křivka přežití pacientů s PAH nově diagnostikovaných v roce 2007. V tomto souboru přežilo 12 měsíců 89 % nemocných, 24 měsíců 78% nemocných a 30 měsíců 74 % nemocných. Na obrázku 8.2. je znázorněno rozdílné přežívání nemocných s idiopatickou a hereditární PAH a s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou

a s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva. Nejlepší prognózu mají pacienti s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou.

Tab. 10.1.

Věková struktura pacientů v incidenci a prevalenci

Věk pacientů	Celkem	Srovnání pohlaví			Pacienti v prevalenci dle období diagnózy		
		Muži	Ženy	p	< 2007	2007	p
Věk v kategoriích							
≤ 30 let	N=27 (14.1%)	N=7 (10.6%)	N=20 (16.0%)	0.259	N=20 (20.0%)	N=7 (7.7%)	0.003
30 – 40	N=24 (12.6%)	N=9 (13.6%)	N=15 (12.0%)		N=18 (18.0%)	N=6 (6.6%)	
40 - 50	N=30 (15.7%)	N=16 (24.2%)	N=14 (11.2%)		N=16 (16.0%)	N=14 (15.4%)	
50 - 60	N=40 (20.9%)	N=12 (18.2%)	N=28 (22.4%)		N=18 (18.0%)	N=22 (24.2%)	
60 - 70	N=42 (22.0%)	N=12 (18.2%)	N=30 (24.0%)		N=20 (20.0%)	N=22 (24.2%)	
> 70 let	N=28 (14.7%)	N=10 (15.2%)	N=18 (14.4%)		N=8 (8.0%)	N=20 (22.0%)	
Věk sumárně							
Medián	55.2	51.6	56.4	0.760	47.8	59.8	<0.001
Průměr	51.9	51.9	51.9		47.0	57.3	
5%-95%	24.4 - 75.3	26.7 – 75.1	23.3 – 75.7		19.4 – 73.7	27.4 – 75.7	

Chi-kvadrát test maximální věrohodnosti byl použit pro analýzu kategoriálních dat, Mann Whitney U test pro data spojitá; statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

Tab. 10.2.

Zastoupení jednotlivých typů PAH podle doby stanovení diagnózy

Diagnóza	Do roku 2007	Rok 2007	Celkem	p
IPAH +HPAH	N=70 (70.0%)	N=53 (58.2%)	N=123 (64.4%)	0.098
CTD-PAH	N=12 (12.0%)	N=9 (9.9%)	N=21 (11.0%)	0.817
CHD-PAH	N=16 (16.0%)	N=23 (25.3%)	N=39 (20.4%)	0.150
ostatní	N=2 (2.0%)	N=6 (6.6%)	N=8 (4.2%)	0.154
Celkem	N=100 (0.0%)	N=91 (0.0%)	N=191 (0.0%)	

Fisherův přesný test.

Statisticky významné výsledky jsou označeny *

Tab. 10.3.

Klinické, hemodynamické a funkční parametry u pacientů s PAH podle roku diagnózy

	Do roku 2007 N = 100	Rok 2007 N = 91	Celkem N = 191	p
Ženy	N=65 (65.0%)	N=60 (65.9%)	N=125 (65.4%)	0.892
NYHA I – II	N=34 (34.0%)	N=21 (23.1%)	N=55 (28.8%)	0.229
NYHA III	N=64 (64.0%)	N=67 (73.6%)	N=131 (68.6%)	
NYHA IV	N=2 (2.0%)	N=3 (3.3%)	N=5 (2.6%)	
Borg 0 - 2	N=20 (20.0%)	N=15 (16.5%)	N=35 (18.3%)	0.092
Borg 3 – 4	N=24 (24.0%)	N=20 (22.0%)	N=44 (23.0%)	
Borg 5 a vic	N=27 (27.0%)	N=44 (48.4%)	N=71 (37.2%)	
Věk¹ (roky)	47.0 47.8 (19.4; 73.8)	57.3 59.8 (27.4; 75.7)	51.9 55.2 (24.4; 75.3)	<0.001
BMI¹ (kg/m²)	28.4 26.0 (18.3; 35.9)	27.8 26.5 (19.5; 37.9)	28.1 26.1 (18.7; 37.5)	0.146
6MWD¹ (m)	332. 4 356.0 (150.0; 511.0)	314.0 332.5 (128.0; 474.0)	322.8 339.0 (129.0; 500.0)	0.313
RAP¹ (mmHg)	10.0 9.0 (3.0; 20.0)	9.8 9.0 (2.0; 21.0)	9.9 9.0 (2.0; 20.0)	0.934
PAMP¹ (mmHg)	65.8 56.5 (32.0; 89.0)	51.8 47.0 (27.0; 91.0)	59.2 54.0 (29.0; 91.0)	0.004
PASP¹ (mmHg)	88.2 91.0 (45.0; 134.0)	80.7 77.0 (40.0; 132.0)	84.6 85.0 (44.0; 132.0)	0.017
PCWP¹ (mmHg)	10.5 11.0 (5.0; 15.0)	11.9 12.0 (7.0; 15.0)	11.2 11.0 (6.0; 15.0)	0.003
CI¹ (l/min/m²)	1.9 1.7 (0.8; 3.3)	2.4 2.4 (1.1; 3.9)	2.1 2.0 (0.9; 3.5)	<0.001
SaO₂¹ (%)	92.5 94.5 (78.0; 98.1)	91.7 93.5 (79.0; 98.0)	92.2 94.0 (78.0; 98.0)	0.461
SvO₂¹ (%)	66.4 66.0 (55.8; 78.7)	70.0 72.0 (56.0; 81.2)	68.1 68.0 (56.0; 81.0)	0.002
TLC¹ (% n.h.)	97.0 97.0 (71.8; 125.0)	91.3 90.9 (67.0; 119.6)	94.1 93.5 (70.0; 120.8)	0.018
FEV₁¹ (%n.h.)	95.5 94.3 (63.0; 124.8)	85.9 84.1 (61.0; 108.5)	90.9 89.0 (62.3; 123.0)	0.001
FVC¹ (% n.h.)	96.7 95.0 (72.0; 124.0)	88.8 90.0 (65.0; 113.0)	92.8 92.0 (68.1; 121.0)	0.006
DLCO¹ (% n.h.)	62.0 65.0 (30.6; 88.8)	58.4 58.1 (26.6; 92.0)	60.1 61.0 (29.4; 90.4)	0.130
EF LK¹ (%)	60.9 61.5 (46.0; 74.0)	59.3 58.0 (45.0; 72.0)	60.2 59.5 (45.0; 73.0)	0.199
PAR¹ (WU)	20.1 16.0 (4.2; 42.2)	10.8 8.5 (3.0; 25.8)	15.5 12.1 (3.2; 31.0)	<0.001
CO¹ (l/min)	3.4 3.2 (1.6; 6.4)	4.3 3.9 (2.1; 7.1)	3.9 3.5 (1.7; 6.8)	<0.001

¹ průměr, medián (5-95 percentil)

Mann-Whitney U test pro spojitá data; Chi-kvadrát test maximální věrohodnosti pro kategoriální data

Statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

Tab. 10.4.

Doba od prvních symptomů do stanovní diagnózy PAH

Diagnóza	Do roku 2007 (N=79)¹	Rok 2007 (N=77)¹	Celkem¹	p
IPAH + HPAH	35.3 22.0 (1.0; 120.0)	39.6 23.0 (2.0; 120.0)	37.2 22.0 (2.0; 120.0)	0.749
CTD-PAH	46.9 24.0 (6.0; 192.0)	12.6 12.0 (2.0; 24.0)	30.8 12.0 (2.0; 192.0)	0.049
CHD-PAH	31.2 20.5 (0.0; 120.0)	61.6 36.0 (1.0; 251.0)	52.0 24.0 (0.0; 251.0)	0.244
ostatní	18.0 18.0 (12.0; 24.0)	53.7 50.0 (6.0; 120.0)	44.8 26.0 (6.0; 120.0)	0.286
Celkem	35.8 22.0 (1.0; 120.0)	41.6 24.0 (2.0; 120.0)	38.7 24.0 (0.0; 0.0)	0.523

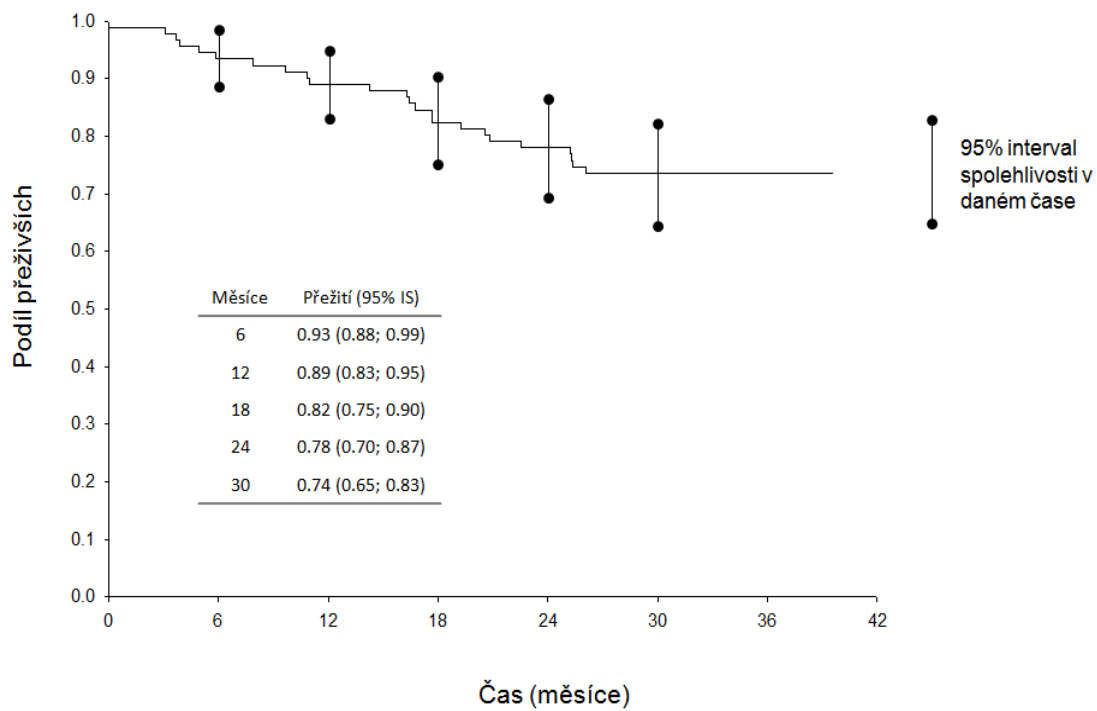
¹ průměr, medián (5-95 percentil)

Mann-Whitney U test pro spojitá data

Statisticky významné výsledky jsou označeny tučně.

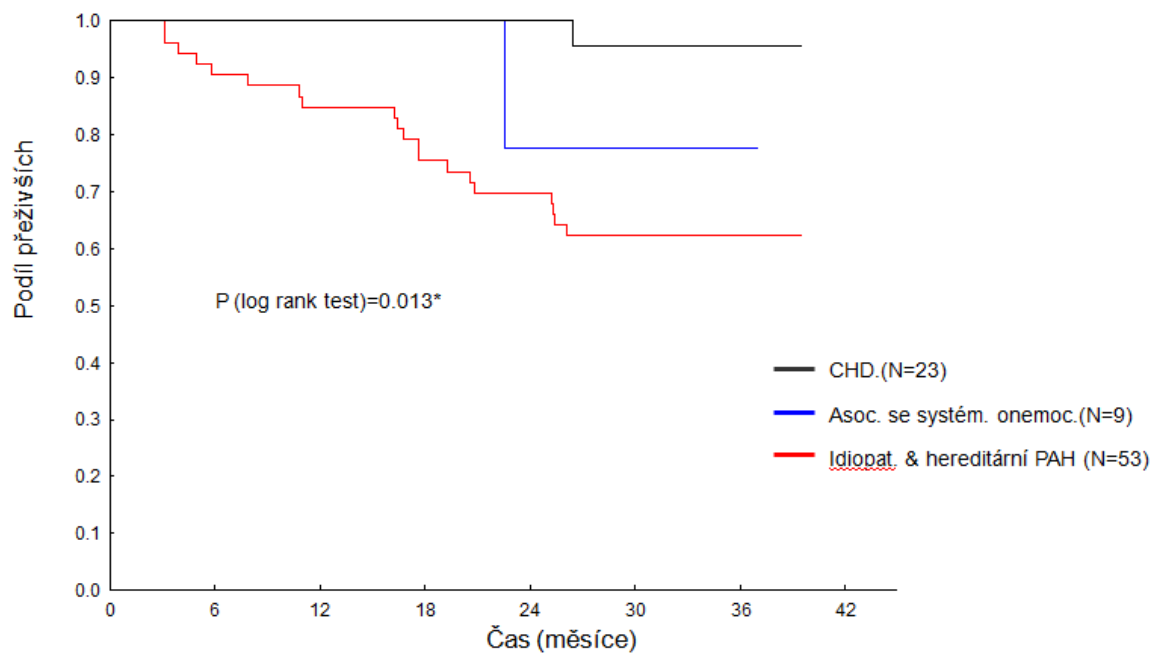
Obr. 10.1.

Celkové přežití pacientů v incidenci roku 2007 (N=91)



Obr. 10.2.

Přežití pacientů v incidenci roku 2007 podle typu PAH (N=85)



10.4. Diskuse

Francouzský registr PAH přinesl dosud nejpřesnější epidemiologická data o pacientech s tímto onemocněním. Ostatní publikované registry nezahrnuly buď celé spektrum jednotlivých typů PAH, především asociovaných forem (americký registr iniciovaný v roce 1981), nebo nebyla diagnóza ve všech případech ověřena invazivním hemodynamickým vyšetřením ve specializovaném centru (skotský registr).

Mezi pacienty postiženými PAH převažují ženy (v americkém národním registru nemocných s PPH byl poměr žen a mužů 1.9:1, ve francouzském registru bylo 65.3 % žen, v naší studii je 65.4 % žen). Především v souvislosti se zařazením asociovaných forem PAH je výskyt PAH patrný i u nemocných ve vyšším věku. Průměrný věk nemocných ve francouzském registru se pohyboval kolem 50let, naši pacienti jsou průměrně asi o 2 roky starší. Prevalentní pacienti jsou starší než pacienti s nově stanovenou diagnózou a tento námi zjištěný rozdíl je prakticky identický jako u nemocných zařazených do francouzského registru.

Nejčastějším typem PAH je idiopatická PAH (64.4 % v našem souboru, 39.2 % ve francouzském registru). Druhým nejčastějším typem PAH je v ČR PAH asociovaná s vrozenou srdeční vadou (20 % všech případů PAH), ve francouzském registru PAH asociovaná se systémovým onemocněním pojiva (15.3 % všech PH). Vyšší výskyt PAH asociované s vrozenou srdeční vadou mezi pacienty s PAH diagnostikovanou nově v roce 2007 souvisí zřejmě s nově dostupnou specifickou farmakoterapií pro tuto skupiny nemocných s PAH. Třetí nejčastější skupinou PAH jsou v ČR nemocní s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva, ve francouzském registru pacienti s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou. Vyšší zastoupení nemocných s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou v ČR může být dán dokonalejší centralizací pacientů s vrozenými srdečními vadami v ČR. Dalším vysvětlením může být skutečnost, že problematikou péče o PAH se ve Francii zabývají především pneumologové, v ČR kardiologové.

Hemodynamické parametry u našich nemocných jsou charakteristické nálezem těžké prekapilární plicní hypertenze s nízkým srdečním výdejem a vysokou plicní cévní rezistencí. Podobně jako v jiných registrech je výskyt nemocných se zachovalou vazoreaktivitou velmi

malý a nepochybně souvisí s pozdě stanovenou diagnózou (71.2 % nemocných je diagnostikováno ve funkční třídě NYHA III a IV, ve francouzském registru bylo v těchto funkčních třídách 75 % nemocných). Horší hemodynamické parametry u nemocných nově diagnostikovaných v roce 2007 ve srovnání s prevalentními případy lze vysvětlit přežíváním pacientů s lepší prognózou ve skupině prevalentních případů

Odhad roční incidence PAH u dospělých ve francouzském registru je 0.24 případu na 100 000 obyvatel, ve skotském registru 0.76 nových případů na 100 000 obyvatel. Odhad prevalence PAH je ve francouzském registru 1.5 případu na 100 000 dospělých obyvatel, ve skotském registru 5.2 případu na 100 000 dospělých obyvatel. Značný rozdíl v odhadu je dán rozdílnou metodikou stanovení diagnózy PAH: zatímco skotský registr čerpá z analýzy hospitalizačních dat a podmínkou zařazení nebylo invazivní hemodynamické vyšetření, ve francouzském registru byla u všech nemocných diagnóza PAH potvrzena katetrizačně. Proto se také francouzská data považují za minimální incidenci a prevalenci. Naše výsledky ukazují vyšší incidenci a prevalenci v dospělé české populaci (roční incidence 1.07 na 100.000 obyvatel, prevalence 2.24 na 100 000 obyvatel). Zdánlivě vyšší výskyt PAH v ČR je dán dobrou organizací centralizace péče o tyto nemocné v relativně nevelké zemi. Vzhledem k tomu, že u všech pacientů v českém registru byla diagnóza PAH rovněž potvrzena katetrizačně, lze předpokládat, že stanovení incidence a prevalence se významně blíží skutečnému výskytu onemocnění v evropské populaci.

Přežívání pacientů s PAH nově diagnostikovaných v roce 2007 a léčených moderní specifickou farmakoterapií je velmi nepříznivé. Jednoleté přežívání našich nemocných (89 %) je zcela srovnatelné s přežíváním nově diagnostikovaných pacientů ve francouzském národním registru (89 %). Registry jsou nenahraditelným zdrojem dat o reálném osudu nemocných s PAH. Na rozdíl od hodnocení mortality v otevřených fázích původně zaslepených randomizovaných klinických studií totiž umožňují hodnocení celého vzorku populace od okamžiku stanovení diagnózy a ne pouze selektovaného homogenního vzorku pacientů sledovaných od okamžiku zařazení do klinické studie.

10.5. Závěr

Registry PAH přinášejí nenahraditelné údaje především o epidemiologii a přežívání pacientů. Český registr PAH je spolu s francouzským registrem v Evropě jedinou databází, která umožňuje spolehlivě odhadnout základní epidemiologické parametry. Odhad výskytu onemocnění v ČR je vyšší než ve Francii zřejmě díky jednodušší a také striktnější centralizaci pacientů s PAH. Struktura nemocných zhruba odpovídá struktuře pacientů ve francouzském registru, obdobné je přežívání pacientů.

11. Závěrečné shrnutí

Z výsledků práce vyplývají některé nové závěry pro poznání patofyziologie PAH:

1. Prevalence alely A VNTR-5 tandemové 27 bp repeticce genu pro eNOS byla hraničně signifikantně vyšší u pacientů s PAH ve srovnání s kontrolami. U nemocných s PAH asociovanou se systémovým onemocněním pojiva je vyšší výskyt genotypu AA ve srovnání s ostatními podskupinami PAH. Vztah polymorfismů Glu298Asp a -786 T/C k PAH jsme neprokázali. Rovněž jsme neprokázali přesvědčivý vztah mezi vyšetřenými polymorfismy a vazoreaktivitou.

2. U 93 nemocných s PAH a 79 jedinců kontrolního souboru jsme vyšetřili fibrinogen, aPTT, INR, Protein C, Protein S, APC rezistenci, AT III, D-dimer, APA IgG, APA IgM, faktor VIII, von Willebrandův faktor, tPA a PAI a mutace FII, FVL s cílem popsat rozdíly v koagulačním profilu u jednotlivých podskupin PAH a zhodnotit vztah koagulačních parametrů k hemodynamické závažnosti PAH.

U nemocných s PAH jsme ve srovnání s kontrolní populací prokázali nižší hladinu přirozených inhibitorů koagulace, vyšší hladinu antifosfolipidových protilátek, vyšší hladinu von Willebrandova faktoru a vyšší hladinu inhibitorů fibrinolýzy. U nemocných s PAH asociovanou se systémovými onemocněními byly vyšší hladiny CRP a fibrinogenu. U pacientů s PAH asociovanou s vrozenou srdeční vadou je akcentována porucha fibrinolýzy.

Vztah mezi koagulační poruchou a hemodynamickou závažností plicní hypertenze charakterizovanou PAMP, CI a PAR jsme ve vyšetřovaném souboru nemocných s PAH jednoznačně neprokázali.

V druhé části práce jsou prezentována první přesná data o epidemiologii PAH v České republice. Analyzovali jsme soubor 191 pacientů s PAH, z nichž 47.7 % (n=91) bylo diagnostikováno od 1.1. 2007 do 31.12. 2007 (incidentní případy) a 52.3 % (n=100) bylo diagnostikováno před 1.1. 2007 (prevalentní případy). Mezi nemocnými s PAH převažovaly ženy (n=125). Nejvíce pacientů bylo diagnostikováno ve věku 51-70 let. Nejčastějším typem byla idiopatická a hereditární PAH. Většina pacientů měla v době diagnózy těžkou fixovanou

plicní hypertenzi, 71.2 % nemocných bylo diagnostikováno ve funkční třídě NYHA III a IV. Odhadovaná roční incidence PAH v dospělé české populaci je 1.07 případů na 100 000 obyvatel. Prevalence PAH v dospělé české populaci je 2.24 případů na 100 000 obyvatel. Pacienti s PAH nově diagnostikovanou v roce 2007 přežívali při maximální terapii 12 měsíců v 89 %, 24 měsíců v 78% nemocných a 30 měsíců v 74 %.

12. Literatura

1. Galie N, Hoeper MM, Humbert M et al: Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. The task force for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS), endorsed by the International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J*. 2009, 30(20), s 2493-537.
2. D'Alonzo GE, Barst RJ, Ayres SM et al.: Survival in patients with primary pulmonary hypertension: results from a national prospective registry. *Ann Intern Med* 1991, 115: 343-349.
3. Nichols WC, Koller DL, Slovis B et al.: Localization of the gene for familial primary pulmonary hypertension to chromosome 2q31-32. *Nat Genet* 1997, 15:277-80.
4. Morse JH, Jones AC, Barst RJ et al.: Mapping of familial primary pulmonary hypertension locus (PPH1) to chromosome 2q31-q32. *Circulation* 1997, 95:2603-6.
5. Deng Z, Morse JH, Slager SL et al.: Familial primary pulmonary hypertension (gene PPH1) is caused by mutations in the bone morphogenetic protein receptor-II gene. *Am J Hum Genet* 2000, 67:737-44.
6. Trembath RC, Thomson JR, Machado RD et al.: Clinical and molecular genetic features of pulmonary hypertension in patients with hereditary hemorrhagic telangiectasia. *N Engl J Med* 2001, 345:325-34.
7. Eddahibi S, Humbert M, Fadel E et al.: Serotonin transporter overexpression is responsible for pulmonary artery smooth muscle hyperplasia in primary pulmonary hypertension. *J Clin Invest* 2001, 108(8): 1141-50.
8. Hampl V, Weir EK, Archer SL: Endothelium-derived nitric oxide is less important for basal tone regulation in the pulmonary than the renal vessels of adult rat. *J Vasc Med Biol* 1994; 5: 22-30.
9. Yildiz P, Oflaz H, Cine N et al.: Gene polymorphism of endothelial nitric oxide synthase enzyme associated with pulmonary hypertension in patients with COPD. *Respir Med* 2003, 97(12): 1282-88.

10. Li R, Lyn D, Lapu-Bula R et al.: Relationship of endothelial nitric oxide synthase gene to plasma nitric oxide level, endothelial function, and blood pressure in African Americans. *Am J Hypertens* 2004, 17: 560-67.
11. Tanus-Santos JE, Dasai M, Flockgart DA et al.: Effects of ethnicity on the distribution of clinically relevant endothelial nitric oxide variants. *Pharmacogenetics* 2001, 11: 719-25.
12. Wang XL, Sim AS, Badenhop RF et al.: A smoking dependent risk of coronary artery disease associated with a polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene. *Nat Med* 1996, 2: 41-45.
13. Ahsan A, Mohd G, Norboo T et al.: Heterozygotes of NOS3 polymorphism contribute to reduced nitrogen oxides on high-altitude pulmonary edema. *Chest* 2006, 130: 1511-19.
14. Sandrim VC, Coelho EB, Nobre F et al.: Susceptible and protective eNOS haplotypes in hypertensive black and white subjects. *Atherosclerosis* 2006, 186: 428-32.
15. Tesauro M, Thompson WC, Rogliani P et al.: Intracellular processing of endothelial nitric oxide synthase isoforms associated with differences in severity of cardiopulmonary diseases: cleavage of proteins with aspartate vs. glutamate at position 298. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000, 97(6): 2832-35.
16. Hibi K, Ishigami T, Tamura T et al.: Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and acute myocardial infarction. *Hypertension* 1998, 32: 521-26
17. Elbaz A, Poirier O, Moulin T et al.: Association between Glu298Asp polymorphism in the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene and brain infarction: The GENIC investigators. *Stroke* 2000, 31: 1634-39.
18. Loukanov T, Hoss K, Tonchev P et al.: Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (Glu298Asp) and acute pulmonary hypertension post cardiopulmonary bypass in children with congenital cardiac diseases. *Cardiol Young* 2010, 10: 1-9.
19. Miyamoto Y, Saito Y, Nakayama M et al.: Replication protein A1 reduces transcription of the endothelial nitric oxide synthase gene containing a 786T/C mutation associated with coronary spastic angina. *Hum Mol Genet* 2000, 9(18): 2629-37.
20. Tuder RM, Cool CD, Geraci MW et al.: Prostacyclin synthase expression is decreased in lungs from patients with severe pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 1999, 159: 1925-1932.

21. Christman BW, McPherson CD, Newman JH et al.: An imbalance between the excretion of thromboxane and prostacyclin metabolites in pulmonary hypertension. *N Engl J Med* 1992, 327: 70-75.
22. Nishida M, Eshiro K, Okada Y et al.: Roles of endothelin ETA and ETB receptors in the pathogenesis of monocrotaline-induced pulmonary hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004, 44: 187-91.
23. Yuan JJ, Aldinger AM, Juhaszova M et al. Dysfunctional voltage-gated K⁺ channels in pulmonary artery smooth muscle cells of patients with primary pulmonary hypertension. *Circulation* 1998, 98: 1400-1406.
24. Yanai-Landau H, Amital H, Bar-Dayan Y et al.: Autoimmune aspects of primary pulmonary hypertension. *Pathobiology* 1995, 63: 71-75
25. Chaouat A, Weitzenblum E, Higenbottam T: The role of thrombosis in severe pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 1996, 9: 356-363.
26. Edwards BS, Weir EK, Edwards WD et al.: Coexistent pulmonary and portal hypertension: morphologic and clinical features. *J Am Coll Cardiol* 1987, 10(6): 1233-8
27. Asherson RA, Khamashta MA, Ordi-Ros J et al.: The „primary“ antiphospholipid syndrome: major clinical and serological features. *Medicine* 1989, 68: 366-74.
28. Chaouat A, Weitzenblum E, Higenbottam T: The role of thrombosis in severe pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 1996, 9: 356-63
29. Lopes AAB, Maeda NY: Abnormal degradation of von Willebrand factor main subunit in pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 1995, 8: 530-36.
30. Christ G, Graf S, Huber-Beckmann R et al.: Impairment of the plasmin activation system in primary pulmonary hypertension: evidence for gender differences. *Thromb Haemost* 2001, 86(2): 557-62
31. Wolf M, Boyer-Nedumann C, Parent F et al.: Thrombotic risk factors in pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2000, 15: 395-99.
32. Simonneau G, Fartoukh M, Sitbon O et al.: Primary pulmonary hypertension associated with the use of fenfluramines derivatives. *Chest* 1998, 114: Suppl 3: 195S-199S.
33. HIV-1 Nef is associated with complex pulmonary vascular lesions in SHIV-nef-infected macaques. *Am J Respir Crit Care Med* 2006, 174: 437-445.

34. Saleemi S: Portopulmonary hypertension. *An Thorac Med* 2010, 5: 5-9.
35. Rich S, Dantzker DR, Ayres SM et al.: Primary pulmonary hypertension. A national prospective study. *Ann Intern Med* 1987, 107: 216-223.
36. Humbert M, Sitbon O, Chaouat A et al.: Pulmonary arterial hypertension in France. Results from a national registry. *Am J Respir Crit Care Med* 2006, 173: 1023-1030.
37. Mukerjee D, St George D, Coleiro B et al.: Prevalence and outcome in systemic sclerosis associated pulmonary arterial hypertension: an application of registry approach. *Ann Rheum Dis* 2003, 62: 10888-93
38. Hachulla E, Gressin V, Guillevin L et al.: Early detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. A French nationwide prospective multicenter study. *Arthritis Rheum* 2005, 52: 3792-3800.
39. Jansa P, Susa Z, Aschermann M: Centrum primární plicní hypertenze-naše první zkušenosti. *Cor Vasa* 2000, 42(10), s. 516-517
40. Park KW, You KH, Chae IH et al. Association of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene polymorphism with acute coronary syndrome in Koreans. *Heart* 2004, 90: 282-285.
41. Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation* 1999, 100: 1515-1520.
42. Hingorani AD, Jia H, Stevens PA et al. A common variant in exon 7 of the endothelial constitutive nitric oxide synthase gene. *Clin Sci* 1995, 88: 21P.
43. Hind CRH, Pepys MB. The role of serum C-reactive (CRP) measurement in clinical practice. *Int Med* 1984; 5:112-51.
44. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ et al. Plasma concentration of C-Reactive Protein and risk of developing peripheral vascular Disease. *Circulation* 1998; 97:425-8.
45. Chenillot O, Henny J, Steinmetz J et al. High sensitivity C-reactive protein: biological variations and reference limits. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38:1003-11.
46. Quarck R, Nawrot T, Meyns B et al. C-reactive protein: A new predictor of adverse outcome in pulmonary arterial hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2009, 53 (14): 1211-1218.

47. Cook, NS, Ubben, D. Fibrinogen as a Major Risk Factor in Cardiovascular Disease. *TiPS* 1990, 11: 444-451.
48. Ellis DR, Eaton AS, Plank MC et al. A comparative evaluation of ELISAs for D Dimer analysis and related fibrin(ogen) degradation products: *Blood Coagul Fibrinolysis* 1993 (4): 537-49.
49. Kiatchoosakun S, Ungkasekvinai W, Wonvipaporn C et al. D-dimer and pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis. *J Med Assoc Thai* 2007 90(10): 2024-9.
50. Hathaway WE: Clinical aspects of antithrombin III deficiency. *Seminars in Hematology* 1991, 28 (1): 19-23.
51. Sturk A, Morrien-Salomons WM, Huisman MV et al. Analytical and clinical evaluation of commercial protein C assays. *Clin Chem Acta* 1987, 165: 263-270.
52. D'Angelo A, Vigano D'Angelo S, Esmon CT et al. Acquired deficiencies of protein S. Protein S activity during oral anticoagulation, liver disease and disseminated intravascular coagulation. *J Clin Invest* 1988; 81: 1445-1454.
53. Comp PC, Esmon CT. Recurrent venous thromboembolism in patients with partial deficiency of protein S, *N Engl J Med* 1984; 311: 1522-15428.
54. Kawut SM, Horn EM, Berekashvili KK et al. Von Willebrand factor independently predicts long-term survival in patients with pulmonary arterial hypertension, *Chest* 2005, 128: 2355–2362
55. Harris, EN. Evaluation of the anti-cardiolipin antibody test: report of an International Workshop held 4 April 1986. *Clin. Exp. Immunol.* 1987; 68: 215 - 222.
56. Assous N, Allanore Y, Batteux F et al. Prevalence of antiphospholipid antibodies in systemic sclerosis and association with primitive pulmonary arterial hypertension and endothelial injury. *Clin Exp Rheumatol.* 2005, 23(2):199-204.
57. Wiman B. The role of the fibrinolytic system in deep vein thrombosis. *J Lab Clin Med* 1985, 105: 265-270.
58. Ridker PM Endogenous tissue-type plasminogen activator and risk of myocardial infarction. *Lancet* 1993, 341: 1165-1168.
59. Fujii S. PAI-1 in thrombosis and arteriosclerosis. *Fibrinolysis and Proteolysis* 1997, 11: 137-140.

60. Smith FB, Lee AJ, Rumley A et al. Tissue plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor and risk of peripheral arterial disease. *Artherosclerosis*, 1995, 115: 35-43.
61. Dresdale DT, Schultz M, Michtom RJ. Primary pulmonaryhypertension: I. Clinical and hemodynamic study. *Am J Med* 1951, 11:686–705
62. Fuster V, Steele PM, Edwards WD et al. Primary pulmonary hypertension: natural history and the importance of thrombosis. *Circulation* 1984, 70(4): 580-7.
63. Abenheim L , Moride Y , Brenot F et al. International Primary Pulmonary Hypertension Study Group . Appetite-suppressant drugs and the risk of primary pulmonary hypertension . *N Engl J Med* . 1996 , 335 (9): 609 - 616 .
64. Abenheim L, Higenbottam T, Rich S et al. International primary pulmonary hypertension study 26. *Br Heart J* 1994, 71 (3): 303
65. Tueller C, Stricker H, Soccia P et al. Epidemiology of pulmonary hypertension: new data from the Swiss registry. *Swiss Med Wkly* 2008, 138 (25-26): 379-384.
66. Peacock AJ , Murphy NF , McMurray JJ et al . An epidemiological study of pulmonary arterial hypertension . *Eur Respir J* . 2007, 30 (1): 104 - 109 .
67. Thenappan T , Shah SJ , Rich S et al. A USA based registry for pulmonary arterial hypertension: 1982-2006. *Eur Respir J* 2007, 30 (6): 1103 - 1110 .
68. Jing ZC , Xu XQ , Han ZY et al . Registry and survival study in Chinese patients with idiopathic and familial pulmonary arterial hypertension . *Chest* . 2007, 132 (2): 373 - 379 .
69. McGoon MD , Krichman A , Farber HW et al . Design of the REVEAL registry for US patients with pulmonary arterial hypertension . *Mayo Clin Proc* 2008, 83 (8): 923 - 931.
70. Jansa P, Lindner J, Aschermann M et al. Zkušenosti s centralizací nemocných s plicní hypertenzí v České republice. *Lek Obz* 2005, 54(7): 316-322.
71. Zvárová J, Malý M. *Statistické metody v epidemiologii*. 2003, Nakladatelství Karolinum, Praha.

13. Seznam publikací in extenso

13.1. Publikace, které jsou podkladem dizertace

S IF

Jansa P, Hrachovinova I, Ambroz D et al: Effect of warfarin anticoagulation on thrombin generation in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension. Bratisl Lek Listy. 2010;111: 595-598. **(IF 0.345)**

Jansa P, Becvar R, Ambroz D et al. Pulmonary Arterial Hypertension Associated with Systemic Sclerosis in the Czech Republic. Clinical Rheumatology, accepted. **(IF 1.687)**

Bez IF

Jansa P, Susa Z, Aschermann M: Centrum primární plicní hypertenze-naše první zkušenosti. Cor Vasa 2000, 42(10), s. 516-517

Jansa P, Lindner J, Aschermann M, Paleček T, Škvařilová M, Horák J, Bečvář R, Tegzová D, Heller S, Kovařík A, Ambrož D, Kunstýř J, Linhart A: Zkušenosti s centralizací nemocných s plicní hypertenzí v České republice. Lek Obz 2005, 54(7): s. 316-322

Lindner J, Jansa P, Salaj P et al: Thrombophilia and pulmonary endarterectomy. Prague Med Rep. 2009;110(1):51-9.

13.2. Publikace bez vztahu k tématu dizertace

S IF

Lindner J, Jansa P, Kunstyr J, Mayer E, Blaha J, Palecek T, Aschermann M, Grus T, Ambroz D, Tosovsky J, Vitkova I: Implementation of a new programme for the surgical treatment of CTEPH in the Czech Republic – pulmonary endarterectomy. *Thorac Cardiovasc Surg* 2006, 54: 528-531. **(IF 3.608)**

Jansa P, Aschermann M, Ambroz D, Linhart A: Pulmonary arterial hypertension – the challenge in diagnosis and treatment. *Curr Med Res Opin*, 2007, 23 (Suppl 2), s. S3-S9. **(IF 2.609)**

Palecek T, Jansa P, Ambroz D, Hlubocka Z, Horak J, Skvarilova M, Aschermann M, Linhart A: Pulmonary artery pulsatility indexes in differentiating chronic pulmonary thromboembolism from pulmonary arterial hypertension. *Curr Med Res Opin*, 2007, 23 (Suppl 2), s. S35-S41. **(IF 2.609)**

Galie N, Rubin LJ, Hoeper MM, Jansa P et al: Treatment of patients with mildly symptomatic pulmonary arterial hypertension with bosentan (EARLY study): a double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2008, 371: 2093-100. **(IF 33.63)**

Jais X, D'Armini AM, Jansa P et al. Bosentan for treatment of inoperable chronic thromboembolic pulmonary hypertension: BENEFiT (Bosentan Effects in inOperable Forms of chronIc Thromboembolic pulmonary hypertension), a randomized, placebo-controlled trial. *J Am Coll Cardiol*. 2008 Dec 16;52(25):2127-34. **(IF 14.229)**

Bonderman D, Wilkens H, Wakounig S, Schaefer HJ, Jansa P, Lindner J, Simkova et al: Risk factors for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 2009, 33(2):325-31. **(IF 5.922)**

Lindner J, Maruna P, Kunstyr J, Jansa P et al: Hemodynamic instability after pulmonary endarterectomy for chronic thromboembolic pulmonary hypertension correlates with cytokine network hyperstimulation. *Eur Surg Res.* 2009;43(1):39-46. **(IF 1.5)**

Bonderman D, Wilkens H, Wakounig S, Schäfers HJ, Jansa P, Lindner J, Simkova I, Martischnig AM, Dudczak J, Sadushi R, Skoro-Sajer N, Klepetko W, Lang IM: Risk factors for chronic thromboembolic pulmonary hypertension. *Eur Respir J.* 2009 Feb;33(2):325-31. **(IF 5.922)**

Kunstyr J, Klein A, Lindner J, Rubes D, Blaha J, Jansa P, Lips M, Ambroz D, Stritesky M: Use of high-thoracic epidural analgesia in pulmonary endarterectomy: a randomized feasibility study. *Heart Surg Forum.* 2008;11(4):E202-8. **(IF 0.63)**

Belohlavek J, Rohn V, Jansa P et al.: Veno-arterial ECMO in severe acute right ventricular failure with pulmonary obstructive hemodynamic pattern. *J Invasive Cardiol.* 2010, 22(8):365-9. **(IF 0.259)**

Jansa P, Ambroz D, Maresova J et al: Pulmonary arterial hypertension-contemporary management strategy. *Bratisl Lek Listy.* 2009;110:603-8. **(IF 0.345)**

Palecek T, Jansa P, Ambroz D et al. Are pulmonary artery pulsatility indexes able to differentiate chronic pulmonary thromboembolism from pulmonary arterial hypertension? An echocardiographic and catheterization study. *Heart Vessels.* 2011;26(2):176-82. **(IF 1.882)**

Pepke-Zaba J, Delcroix M, Lang I, Mayer E, Jansa P et al. Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension (CTEPH): Results From an International Prospective Registry. *Circulation*. 2011;124(18):1973-81 **(IF 14.429)**

Bez IF

Mikulová L, Lukáš M, Mandys V, Šváb J, Jansa P, Homolka J: Střevní tuberkulóza napodobující Crohnovu nemoc. *Endoskopie* 1997, 6, s. 24-26

Homolka J, Jansa P: Plicní alveolární proteinóza-literární přehled. *Stud Pneumol Phthiseol* 1998, 58(4), s. 147-149

Homolka J, Jansa P, Střítecký M, Vaněk I: První úspěšná léčebná plicní laváž u plicní alveolární proteinózy v České republice. *Časopis lékařů českých* 2001, 140(13), s. 406-408

Jansa P, Střítecký M, Homolka J: Plicní alveolární proteinóza a její léčba celkovou plicní laváží v ČR. *Vnitřní lékařství* 2002, 48(1), s. 34-37

Jansa P: *Cor pulmonale*. Triton, Praha, 2002, 184s, ISBN 80-7254-251-6

Susa Z, Jansa P: *Plicní hypertenze*. Triton, Praha, 2002, 116s, ISBN 80-7254-256-7

Jansa P, Susa Z, Aschemann M, Špundová H, Šídová M: Primární plicní hypertenze. *Zdravotnické noviny* 2002, 51(42), příloha *Lékařské listy*, s. 28-29

Špundová H, Jansa P, Šídová M: Plicní hypertenze. *Zdravotnické noviny* 2002, 51(42), příloha *Lékařské listy*, s. 27-28

Šídová M, Jansa P, Špundová H: Antikoagulační léčba u plicní hypertenze. *Zdravotnické noviny* 2002, 51(42), příloha *Lékařské listy*, s. 30-30

Jansa P, Susa Z, Aschermann M, Špundová H, Šídová M: Současné možnosti léčby primární plicní hypertenze v ČR – jsou srovnatelné se světem? *Cor Vasa* 2002, 44(12), s. 542-543

Jansa P: Bude léčba beraprostem konečně optimálním řešením pro pacienty s plicní arteriální hypertenzí? *J Am Coll Cardiol – české vydání* 2002, 4(4), s. 318-319

Jansa P, Aschermann M, Linhart A: Primární plicní hypertenze. Target-MD s.r.o., Praha, 2003, 21s, ISBN 80-239-0571-6

Jansa P: Co nového v problematice plicní hypertenze? *Cor Vasa* 2003, 45(7-8), s. 406-408

Jansa P, Linhart A, Susa Z, Aschermann M: Plicní arteriální hypertenze. *Postgraduální medicína* 2003, 5(7), s. 703-709

Hlaváčková D, Jansa P: Psychosociální pomoc a výzkum její potřeby v oblastech postižených záplavami. *Urgentní medicína* 2003, 3, s. 34-36

Bělohávek J, Linhart A, Jansa P, Semrád M: Mobilní útvar v pravé síni u nemocné s těžkou plicní hypertenzí. *Cor Vasa* 2004, 46(1): s. 13-13

Jansa P, Aschermann M, Riedel M, Pařko P, Susa Z: Doporučení pro diagnostiku a léčbu plicní arteriální hypertenze v ČR. *Cor Vasa* 2004, 46(3): *Kardio*, s. K35-K44

Jansa P, Horák J, Endrys J, Sládková H, Aschermann M: Perkutánní balónková atriální septostomie v léčbě plicní arteriální hypertenze. *Kazuistiky v pneumologii* 2004, 1(1), s. 8-11

Sládková H, Jansa P, Susa Z, Aschermann M: Patofyziologie a klasifikace plicní hypertenze. *Vnitřní lékařství* 2004, 50 (9): s. 685-688

Jansa P, Sládková H, Susa Z, Aschermann M: Současné možnosti diagnostiky a léčby plicní hypertenze v České republice. *Vnitřní lékařství* 2004, 50 (9): s. 689-694

Jansa P, Aschermann M, Riedel M, Pafko P, Susa Z: Doporučení pro diagnostiku a léčbu plicní arteriální hypertenze v ČR. *Vnitřní lékařství* 2004, 50 (9): s. 698-708

Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Mayer E, Grus T, Keller S, Paleček T, Linhart A, Aschermann M, Tošovský J: Naše první zkušenosti s plicní endarterektomií pro chronickou tromboembolickou plicní hypertenzi. *Cor Vasa* 2004, 46(11): s. 552-555.

Sládková H, Susa Z, Jansa P, Aschermann M, Pšenička M, Jindra A, Jáchymová M: Nové poznatky o endotelinu-1 a atriálním natriuretickém faktoru u plicní hypertenze. *Cor Vasa* 2005, 47(1): s. 22-24.

Kunstýř J, Lindner J, Jansa P, Mayer E, Kotulák T, Lipš M, Bláha J, Rubeš D, Matias M, Střítecký M: První endarterektomie arteria pulmonalis v ČR – kazuistika. *Anest. intenziv. Med.* 2005, 16(2): s. 101-104.

Aschermann M, Jansa P: Klasifikace plicní hypertenze. *Kardioforum* 2005, 3(1): s. 5-7

Jansa P, Sedláček K: Patofyziologie a genetika plicní arteriální hypertenze. *Kardioforum* 2005, 3(1): s. 8-10

Sládková H, Jansa P, Aschermann M: Diferenciální diagnostika plicní hypertenze. *Kardioforum* 2005, 3(1): s. 24-26

Linhart A, Jansa P, Aschermann M: Klinické studie léků u plicní arteriální hypertenze. *Kardioforum* 2005, 3(1): s. 27-31

Jansa P, Aschermann M: Farmakoterapie plicní arteriální hypertenze. *Kardio fórum* 2005, 3(1): s. 32-24

Bělohávek J, Škulec R, Kovárník T, Jansa P, Linhart A, Aschermann M: Protrahovaná neinvazivní umělá plicní ventilace u pacienta s těžkou plicní hypertenzí: kazuistika. *Kardio fórum* 2005, 3(1): s. 40-43

Aschermann M, Jansa P, Škvařilová M: Plicní arteriální hypertenze – nové poznatky o genetice onemocnění. *Cor Vasa* 2005, 47(3): s. 100-104

Jansa P, Škvařilová M, Linhart A, Aschermann M: Plicní hypertenze. *Medicína po promoci* 2005, 6(4): s. 73-77

Jansa P, Škvařilová M, Linhart A, Aschermann: Farmakoterapie plicní arteriální hypertenze. *Remedia* 2005, 15(2): s. 136-145

Riedl M, Widimský J, Susa Z, Jansa P: Onemocnění plicní cirkulace. Kapitola 25 v : Aschermann et al.: *Kardiologie*, Galén Praha, 2004, s. 947-1030, ISBN 80-7262-290-0

Jansa P, Lindner J, Paleček T, Škvařilová M, Horák J, Bečvář R, Tezová D, Heller S, Kovařík A, Ambrož D, Kunstýř J, Linhart A, Aschermann M: Léčba nemocných s plicní hypertenzí. *Kardiologie pro praktické lékaře – příloha Postgraduální medicína* 2005, 7(3): s. 59-65

Paleček T, Linhart A, Jansa P, Lubanda JC, Bělohávek J, Humhal J, Susa Z, Aschermann M: Takotsubo kardiomyopatie: popis případu a přehled literatury. *Čas . Lék. čes.* 2005, 144: s. 405-408

Jansa P, Aschermann M, Lindner J, Škvařilová M, Paleček T, Bečvář R, Tezová D, Kunstýř J, Ambrož D, Linhart A: Současné možnosti léčby plicní arteriální hypertenze a chronické tromboembolické plicní hypertenze. *Kapitoly z kardiologie* 2005, 7(3): s. 102-107

Jansa P, Lindner J, Mayer E, Paleček T, Aschermann M, Linhart A, Tošovský J: Endarterektomie plicnice v léčbě chronické tromboembolické plicní hypertenze. Kazuistiky v pneumologii 2005, 2(3): s. 21-24

Škvařilová M, Jansa P, Paleček T, Horák J, Šimek S, Aschermann M: Aneurysma arterie pulmonalis u nemocné s idiopatickou plicní arteriální hypertenzí. Kazuistiky v pneumologii 2005, 2(4): s. 11-16

Jansa P, Aschermann M, Lindner J, Paleček T, Ambrož D, Linhart A: Současné možnosti diagnostiky a léčby chronické plicní hypertenze. Čas . Lék. čes. 2006, 145: s. 264-268

Lindner J, Jansa P, Kunstýř J, Bláha J, Grus T, Mlejnský F, Heller S, Škvařilová M, Ambrož D, Tošovský J, Aschermann M, Linhart A, Křivánek J, Vítková I, Stříteský M: Endarterektomie plicních tepen – chirurgická léčba chronické tromboembolické plicní hypertenze. Čas . Lék. čes. 2006, 145: s. 307-312

Jansa P, Aschermann M, Ambrož D, Bečvář R, Tegzová D, Linhart A: Plicní arteriální hypertenze u systémových onemocnění pojiva. Rheumatologia 2006, 20(1): s 13-18

Bečvář R, Štokr J, Jansa P: Nové trendy v diagnostice a léčbě systémové sklerodermie. Vnitřní lékařství 2006, 52: 712-7

Jansa P: Plicní arteriální hypertenze u vrozených srdečních vad. Interní Med. 2006, 6, s 266-269.

Jansa P: Treprostinil, stabilní analog prostacyklinu v terapii plicní arteriální hypertenze. Remedia, 2006, 16, s 113-115.

Jansa P, Ambrož D, Paleček T, Marešová J, Lindner J, Aschermann M, Linhart A: Chronická plicní hypertenze. Lékařské listy 2007, 7, s 23-27.

Jansa P, Aschermann M, Linhart A: Antagonisté receptorů pro endotelin v léčbě plicní arteriální hypertenze. *Remedia*, 2007, 17, s 270-273.

Aschermann M, Jansa P, Ambrož, Linhart A: Chronické pravostranné srdeční selhání – patofyziologie. *Srdeční selhání – mimořádná příloha Postgraduální medicíny*, 2007, s 6-10.

Jansa P, Aschermann M, Ambrož D, Marešová J, Poláček P, Linhart A: Chronické pravostranné srdeční selhání – klinický obraz a léčba. *Srdeční selhání – mimořádná příloha Postgraduální medicíny*, 2007, s 16-20.

Bělohávek J, Aschermann M, Jansa P, Linhart A: Akutní pravostranné srdeční selhání s důrazem na problematiku kriticky nemocných. *Srdeční selhání – mimořádná příloha Postgraduální medicíny*, 2007, s 34-38.

Jansa P, Ambrož D, Marešová J, Jelínková L, Poláček P, Paleček T, Aschermann M, Linhart A: Dlouhodobé zkušenosti s infuzní léčbou treprostinilem u nemocných s plicní arteriální hypertenzí v České republice. *Vnitřní Lék*, 2007, 53(4): 333-337.

Jansa P: Plicní cirkulace – staré téma s novými terapeutickými možnostmi. *Stud Pneumol Phthiseol* 2008, 68 (4): 135-136

Poláček P, Jansa P: Využití zobrazovacích metod v diagnostice plicního oběhu. *Stud Pneumol Phthiseol* 2008, 68 (4): 137-142

Skalická H, Jansa P, Paleček T, Ambrož D, Aschermann A, Linhart A: Levostranný pleurální výpotek u nemocného s plicní arteriální hypertenzí – diferenciální diagnostika. *Stud Pneumol Phthiseol* 2008, 68 (4): 143-146

Ambrož D, Pretl M, Šonka K, Jansa P, Paleček T, Linhart A: Obstrukční spánková apnoe a těžká plicní hypertenze. *Stud Pneumol Phthiseol* 2008, 68 (4): 147-150

Jansa P, Aschermann M, Linhart A: Prostanoidy v léčbě plicní arteriální hypertenze. Remedica 2008, 18: 31-34

Jansa P. Plicní hypertenze v mezioborovém pohledu. Alergie 2008, Supplementum 1: 98-102

Jansa P, Ambrož D, Paleček T, Poláček P, Marešová J, Jelínková L, Aschermann M, Linhart A: Plicní arteriální hypertenze. Kardiol Rev 2007, 9(3): 145-153

Marešová J, Jansa P, Ambrož D, Poláček P, Jelínková L, Aschermann M, Linhart A: Kombinační léčba epoprostenolem a sildenafilem u pacientky s těžkou plicní arteriální hypertenzí. Cor Vasa 2008, 50 (7-8): 299-303

Jansa P, Lindner J, Ambroz D et al: Contemporary methods in the treatment of chronic pulmonary hypertension. Cas Lek Cesk. 2009;148(2):59-64.

Lindner J, Jansa P: Chronická tromboembolická plicní hypertenze, endarterektomie plicních tepen. Maxdorf 2009, stran 152, ISBN 978-80-7345-181-3

Jansa P: Pulmonary hypertension – unusual complication of the bacterial overgrowth syndrome. Vnitr Lek 2010, 56(6): 486-7

Jansa P: Ambrisentan v léčbě plicní arteriální hypertenze. Remedica 2009, 19: 233-235.

Jansa P, Ambroz D, Polacek P et al: Plicní arteriální hypertenze. Intervenční a akutní kardiologie 2009, 8(2): 81-86.

Jansa P, Ambroz D, Polacek P et al: Plicní arteriální hypertenze. Cor et Vasa 2009, 51(7-8): 455-461.

Jansa P, Ambroz D, Polacek P et al: Plicní arteriální hypertenze. Kardiologická revue 2009, 11(4): 166-169.

Jansa P. Současný stav a perspektivy farmakoterapie plicní arteriální hypertenze. Vask. med., 2011, 3 (3): 118-122

Jansa P, Popelova J, Al-Hiti H et al. Chronická plicní hypertenze. Doporučený diagnostický a léčebný postup České kardiologické společnosti, 2010. Cor Vasa 2011;53(3): 169-182

Jansa P. Chronická plicní hypertenze. In Interna. 1. vydání, Praha, Triton, 2010. kapitola 4, 133-139.

Jansa P. , Aschermann M. Onemocnění plicního oběhu. In Vnitřní lékařství. 4. přepracované a doplněná vydání, Praha, Galen, Karolinum, 2011, kapitola 4, 310-317.

Jansa P., Lindner J., Widimský J. Chronická tromboembolická plicní hypertenze. In Akutní plicní embolie a žilní trombóza. 3. rozšířené a přepracované vydání, Praha, Triton, 2011, kapitola 12, 249-272.

Jansa P. Onemocnění plicního oběhu. In Pneumologie. 2. vydání, Praha, Maxdorf Jessenius, 2011, kapitola IX, 351-360.