

Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové

Rezistence na antiagregační léčbu v terapii onemocnění kardiovaskulárního systému

Hana Ševčíková

Autoreferát disertační práce
Doktorský studijní program vnitřní nemoci

Hradec Králové

2014

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

Autor: MUDr. Hana Ševčíková

1. Interní kardiologická klinika Lékařské fakulty UK v Praze a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Školitel: Prof. MUDr. Jan Vojáček, DrSc.

1. Interní kardiologická klinika Lékařské fakulty UK v Praze a Fakultní nemocnice Hradec Králové

Oponenti:

Prof. MUDr. Jiří Vítovec, CSc., 1. interní kardiologická klinika LF MU FN U sv. Anny, Brno

Doc. MUDr. Jan Šochman, CSc., IKEM, Praha

Tato práce vznikla za podpory grantu IGA MZČR NR 9174-4.

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

Prof. MUDr. Jan Bureš, CSc.

Předseda komise pro obhajoby disertačních prací

V doktorském studijním programu vnitřní nemoci

Obsah

1. Souhrn:	4
2. Summary:	5
3. Úvod do problematiky.....	6
3.1. Ischemická choroba srdeční a její manifestace	6
3.2. Koagulační kaskáda, tkáňový faktor a aterotrombóza	6
3.3. Destičky, jejich funkce a role v procesu hemostázy a (atero)trombózy.....	6
3.4. Protidestičková terapie	7
3.5. Rezistence na protidestičkovou terapii x vysoká reziduální destičková aktivita x neúčinná protidestičková terapie	7
3.6. Laboratorní měření destičkové aktivity.....	7
3.7. Možný význam jednotlivých metod v klinické praxi.....	8
4. Cíle disertační práce:	9
5. Materiál a metodika:	10
5.1. Soubor pacientů:	10
5.2. Odběr vzorků a jejich zpracování:	10
5.3. Statistické zpracování:.....	10
6. Výsledky.....	11
6.1. Demografické složení a klinická charakteristika souboru	11
6.2. Výsledky vyhodnocení destičkové reaktivity a grafické zpracování	12
7. Diskuze:	14
8. Závěr:.....	17
9. Použitá literatura:.....	18
10. Přehled publikační činnosti:	20

1. Souhrn:

Úvod:

Nezastupitelné postavení v terapii onemocnění kardiovaskulárního systému má protideštičková terapie. Vzhledem k interindividuální variabilitě v destičkové aktivitě a rekurujícím trombotickým komplikacím i přes zavedenou terapii narůstá význam možnosti testování destičkových funkcí v praxi.

Cíle:

Cílem práce bylo popsání výskytu vysoké reziduální destičkové aktivity ve sledovaném souboru, hledání možného vlivu přidružených chorob a konkomitantní terapie na variabilitu destičkových funkcí a posouzení variability destičkové aktivity v čase a potažmo reproducibility našeho měření.

Metodika a výsledky:

Sledováni byli pacienti s kardiovaskulárním onemocněním léčení kyselinou acetylsalicylovou (v dávce 100mg/den). K monitorování destičkových funkcí byla zvolena optická agregometrie (LTA) s kationickým propylgalátem. Celkem bylo zařazeno 207 pacientů, reziduální destičková aktivita byla stanovována za použití LTA vstupně a při kontrole (medián 9 měsíců). Dávka léku nebyla měněna. V průběhu sledování 82,1% ze souboru vykazovalo při obou měřeních adekvátní míru suprese destičkové aktivity, 16,9% z vyšetřovaného souboru vykazovalo nedostatečnou míru suprese destičkových funkcí alespoň při jednom z provedených měření. Výsledky poukazují na značnou variabilitu destičkových funkcí v čase ($p=0,67$). Statisticky nevýznamné rozdíly v destičkové reaktivitě vyšly ve skupině pacientů s akutními koronárními syndromy ($p=0,37$), s chronickými formami ischemické choroby srdeční ($p=0,70$), ve skupině hypertoniků ($p=0,30$), diabetiků ($p=0,30$), obézních osob ($p=0,48$) či osob se srdečním selháním ($p=0,21$) a mezi pohlavími ($p=0,99$). Statisticky významný rozdíl v destičkových funkcích ve skupině pacientů s hyperlipidemií ($p=0,007$) vzhledem k nízké síle testu nelze považovat za relevantní. Nebyl prokázán statisticky významný vliv podávané medikace: pro ACE-i ($p=0,86$), betablokátory ($p=0,12$) a statiny ($p=0,47$). Stran reproducibility dat z pohledu statistika z výsledků Bland Altmanova testu a jeho grafického znázornění vyplývá, že testovaná veličina oplývá nízkou mírou opakovatelnosti a vysokou mírou variability.

Závěry:

Z našich závěrů pro praxi vyplývá, že rutinní zavedení testování destičkových funkcí do klinické praxe naráží na řadu úskalí. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v destičkové aktivitě mezi pohlavími či v závislosti na přidružených chorobách ani v souvislosti s konkomitantní medikací. Výsledky získané za použití LTA s kationickým propylgalátem vykazují vysokou míru variability a malou míru reproducibility, výsledky se v čase mění aniž by bylo zasahováno do terapie a aniž by byl nalezen jednoznačný vysvětlující a potenciálně ovlivnitelný faktor.

2. Summary:

Introduction:

Antiplatelet therapy is a cornerstone in the management of cardiovascular diseases. With regard to interindividual variability in platelet reactivity and recurrence of thrombotic events despite therapy the importance of platelet function monitoring seems to be much higher.

Objectives:

The aim of our study was to describe the prevalence of high on treatment platelet reactivity in our study population. We were looking for the potential relationship between platelet reactivity and comorbidities or medication and tried to assess measurement reproducibility.

Methods and results:

207 patients with cardiovascular diseases on ASA treatment (daily dose 100mg) were enrolled. Platelet functions were monitored by optic aggregometry (LTA) with cationic propylgallate as inductor. Residual platelet reactivity was assessed initially and afterwards (median value 9 months) without changes in ASA dose. In 82,1% suppression of platelet reactivity was adequate in both assessments, in 16,9% suppression of platelet reactivity was inadequate in at least one of the measurements. Our results show wide variability in platelet reactivity in time ($p=0,67$). No statistically significant differences in platelet reactivity were found in subpopulation with acute coronary syndromes ($p=0,37$), with chronic stable coronary artery disease ($p=0,70$), with hypertension ($p=0,30$), with diabetes mellitus ($p=0,30$), with obesity ($p=0,48$) or with heart failure ($p=0,21$). No intersex difference was found ($p=0,99$). No relevant is statistically significant difference in platelet reactivity in patients with hyperlipidaemia ($p=0,007$). Test power is low. Concomitant medication has no statistically significant influence on platelet reactivity: ACE-inhibitors ($p=0,86$), beta-blockers ($p=0,12$) and hypolipidemics ($p=0,47$). Monitored quantity seems to have poor reproducibility and high variability (according to Bland-Altman method).

Conclusions:

In conclusion routine platelet function monitoring has many limitations. We don't found statistically significant difference in platelet reactivity between sex or in relation to comorbidities or medication. Our results with LTA (propylgallate as agonist) showed wide variability and inadequate reproducibility. We found wide results variability in time, without changes in therapy or knowledge of suggestible factors.

3. Úvod do problematiky

Ischemická choroba srdeční je jednou z hlavních příčin mortality a morbidit v populaci. Svou roli v procesu aterotrombózy hrají spolu s dalšími faktory krevní destičky a proto nezastupitelnou roli v terapii ischemické choroby srdeční má protideštičková terapie. Pochopení této problematiky a možnosti monitorování destičkových funkcí by mohlo přispět ke zlepšení léčebné strategie a možná i prognózy u pacientů s aterotrombotickými kardiovaskulárními chorobami.

3.1. Ischemická choroba srdeční a její manifestace

Ischemie srdečního svalu je způsobena nepoměrem mezi zásobením myokardu kyslíkem a spotřebou kyslíku. Etiopatogeneticky se na ischemii podílí vedle stupně zúžení cévy rovněž porucha vazodilatace či abnormální vazokonstrikce věnčitých tepen a nasedající koronární trombóza. Rozlišujeme akutní a chronické formy ischemické choroby srdeční. Pod pojmem akutní koronární syndromy se rozumí všechny stavy patofyziologicky spojené s nestabilním plátem a na něj nasedající trombózou v koronární cévě.⁽¹⁾

3.2. Koagulační kaskáda, tkáňový faktor a aterotrombóza

Společným patofyziologickým mechanismem koronárních syndromů je vznik různého stupně koronární trombózy nasedající na rupturu aterosklerotického plátu. Pokud dojde k ruptuře aterosklerotického plátu, je uvolňováno velké množství tkáňového faktoru, který zahajuje aktivaci koagulační kaskády.⁽¹⁾ Aktivace koagulační kaskády může probíhat dvěma cestami, které se potom sbíhají do systému společného vedoucího k tvorbě fibrinové zátky.

3.3. Destičky, jejich funkce a role v procesu hemostázy a (atero)trombózy

Trombocyty jsou nejmenší bezjaderné krevní elementy, které mají nezastupitelnou roli v procesu hemostázy a hemokoagulace. Patofyziologicky hrají jednu z rolí v procesu aterotrombózy. Otázkou zůstává role zánětu ve vztahu k destičkové aktivitě, která dosud nebyla zcela objasněna.⁽²⁾ Destičky a některé jejich aktivátory mohou být ovlivněny zánětlivým procesem.⁽³⁾

3.4. Protidestičková terapie

Kyselina acetylsalicylová

Kyselina acetylsalicylová (ASA) patří mezi nejstarší a nejčastěji používané látky s antiagregačním efektem v kardiologické praxi. V nižších dávkách působí mechanismem irreverzibilní acetylace destičkové cyklooxygenázy. ^(4,5) Klinické studie dokumentují benefit ASA v primární a sekundární prevenci ischemických příhod.

Thienopyridiny

Mechanismem účinku je blokáda vazby adenosindifosfátu na destičkový receptor. Vzhledem k vysoké interindividuální variabilitě v odpovědi na clopidogrel byly vyvinuty nové léky, mezi které patří prasugrel, cangrelor a ticagrelor. Bývá popisována jejich vyšší účinnost, rychlejší nástup protidestičkového účinku, jeho delší trvání a menší variabilita v destičkové odpovědi než po podání clopidogrelu. ⁽⁶⁾ Oba léky (prasugrel i ticagrelor) jsou z hlediska klinické účinnosti v léčbě akutních koronárních syndromů srovnatelné (na základě výsledků proběhlých studií).

IIb/IIIa blokátory

Dalším mechanismem inhibice destičkové agregace je blokáda interakce mezi fibrinogenem a IIb/IIIa glykoproteinovými (GP) receptory. GP IIb/IIIa receptory mají svou roli ve finální části cesty destičkové agregace.

3.5. Rezistence na protidestičkovou terapii x vysoká reziduální destičková aktivita x neúčinná protidestičková terapie

Pojem aspirinová či clopidogrelová „rezistence“ se zdá být zavádějící. Na základě výsledků laboratorního in vitro sledování destičkové aktivity můžeme pouze hovořit o nekompletní blokádě destičkových funkcí či o vysoké reziduální destičkové aktivitě při terapii. ⁽⁷⁾ Vysoká destičková aktivita při antiagregační terapii je spojována s vyšším kardiovaskulárním rizikem. Etiologie nedostatečné efektivity protidestičkové terapie je komplexní. Faktory ovlivňující účinnost protidestičkové léčby můžeme rozdělit do tří základních skupin (genetické, buněčné a klinické) jak pro thienopyridiny tak pro ASA.

3.6. Laboratorní měření destičkové aktivity

Za optimální metodu je v současné době považována taková, která je jednoduchá (navíc levná), snadno proveditelná s rychle dostupnými výsledky, reprodučibilní, standardizovaná s přesně stanovenými referenčními rozmezími (kdy výsledky jsou porovnatelné mezi jednotlivými centry

danou metodu používajícími), metoda by měla být rovněž specifická, výsledky by měly korelovat s klinickými výstupy. ⁽⁸⁾ Metody používané ke stanovení účinnosti protidestičkové terapie lze schematicky rozdělit na metody in vivo či in vitro.

Optická agregometrie

Optická agregometrie (LTA) byla dlouhou dobu považována za zlatý standard v testování destičkových funkcí. Agregometrické metody jsou založené na vyhodnocení změny optické hustoty při agregaci trombocytů po přidání induktoru. Jako induktorů agregace se používá řada agens. Problémem je variabilita výsledků v závislosti na použitém induktoru a jeho koncentraci, nedostatečná specifita, nejasná senzitivita (vzhledem k nestabilitě trombocytů a chybějícím standardům, výrobcem agregometrů bývá senzitivita udávána jako 10% odchylka od maximální amplitudy agregační křivky, rovněž není zcela jasná korelace výsledků agregometrie s klinikou). ⁽⁹⁾

Poloautomatické metody

K testování efektu protidestičkové terapie lze využít poloautomatické analyzátoři (PFA-100 – platelet function analyser 100, ULTEGRA/VerifyNow – rapid platelet function assay). Výhodou těchto metod je jednoduchost a rychlost. Vhodnost pro testování efektivity protidestičkové terapie je otázná.

3.7. Možný význam jednotlivých metod v klinické praxi

Dosud nemáme jasné důkazy z velkých prospektivních multicentrických studií, že úprava terapie dle výsledku monitorování destičkových funkcí jasně a prokazatelně zlepšuje klinické výstupy. Výsledky testů závisejí na použitém induktoru agregace a jeho koncentraci. Testy používající kyselinu arachidonovou jsou považovány za relevantní k monitoraci účinku ASA. ⁽⁸⁾ VerifyNow, MULTIPLATE a VASP analýza jsou jediné tři metody ověřené v klinických studiích a získané výsledky by mohly stratifikovat riziko u nemocných léčených antiagregační terapií.

4. Cíle disertační práce:

Cílem naší práce bylo:

1. zpracování charakteristiky získaného souboru se zaměřením se na výskyt vysoké reziduální destičkové aktivity při terapii kyselinou acetylsalicylovou (ASA) v jednotlivých populacích souboru a hledání možného vztahu rizikových faktorů aterosklerózy a destičkové hyperreaktivity či vlivu konkomitantní medikace na destičkovou aktivitu
2. posouzení případné variability destičkové aktivity v čase a vyjádření se k reproducibilitě získaných výsledků
3. v neposlední řadě měla naše práce podat stručný přehled současných možností sledování destičkové aktivity při antiagregační terapii a jejího významu v praxi s řadou neopominutelných úskalí

5. Materiál a metodika:

5.1. Soubor pacientů:

Sledován byl soubor pacientů naší kliniky léčených ASA (v dávce 100mg/den minimálně 5 dní před zařazením do studie). Celkem bylo zařazeno 207 pacientů, 56 žen a 151 mužů ve věku 43-85 let (průměrný věk 67 ± 9 let). Vylučovacími kritérii byla: kontraindikace podávání protidestičkové terapie, trombocytopenie, trombocytóza, anémie, polycytemie či jiné hematologické choroby, malignity, závažná jaterní insuficience či postižení ledvin, end-stage chronických chorob, noncompliance v terapii či nemožnost podpisu informovaného souhlasu. Reziduální destičková aktivita byla stanovována za použití LTA vstupně a při kontrole (medián 9 měsíců). Od všech zařazených pacientů byla získána základní klinická data, klidové EKG a odebrány krevní vzorky ke zpracování. Dávka léku nebyla měněna.

5.2. Odběr vzorků a jejich zpracování:

Odebírali jsme 2 zkumavky citrátové krve (3ml). Dodané vzorky se zpracovaly centrifugací (na 800-900 otáček/min získána plazma bohatá na destičky a na 3500-4000 otáček/min plazma chudá na destičky). Po přidání induktoru agregace (zvolen kationický propylgalát) vyhodnocována agregační odpověď. Na agregační křivce se hodnotí maximální amplituda agregační křivky a strmost nástupu agregační křivky – tzv. slope. Referenční (léčebné rozmezí) pro slope bylo stanoveno na 35-65%/min, hodnoty nad 65%/min jsou považovány za léčbu nedostatečnou. Stanovení agregační křivky se provádí na optických agregometrech AFACT, centrifugace krevních vzorků na centrifugách JOUAN CR3i.

5.3. Statistické zpracování:

Data byla zpracovávána pomocí statistického programu Microsoft Excel a v programu NCSS 2007, Statistica. Při zpracovávání dat bylo použito metod deskriptivní statistiky, dvouvýběrového t-testu, případně neparametrického Mann-Whitney nebo Kolmogorov-Smirnov testu. Dále byly použity kontingenční tabulky, chí kvadrát test nezávislosti případně Fisherův exaktní test a McNemarův test. Ke grafickému znázornění byly použity sloupkové a krabičkové grafy. Za statisticky významné byly považovány hodnoty $p < 0,05$. Grafické zobrazení shody/reproducibility je vyjádřeno pomocí Bland-Altmanova grafu.

6. Výsledky

6.1. Demografické složení a klinická charakteristika souboru

Sledovaná skupina zahrnovala 207 pacientů. Charakteristika souboru je uvedena v tabulce č.1.

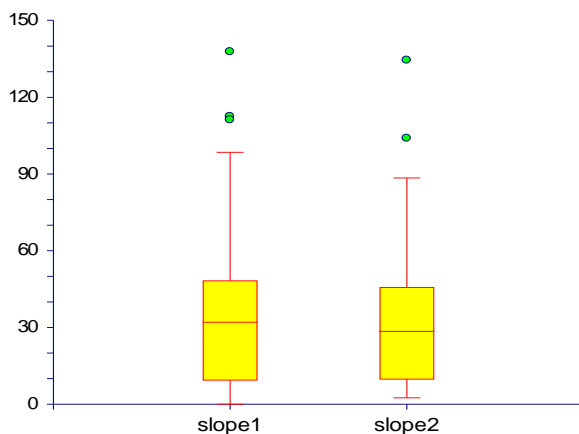
Tabulka 1. Charakteristika souboru

	N	%
muži	151	72.9
ženy	56	27.1
věk	67±9	
diabetes mellitus	89	43.0
hypertenze	157	75.8
hyperlipidemie	129	62.3
chronická ischemická choroba srdeční	90	43.5
akutní koronární syndrom	86	41.5
postižení tří cév	57	27.5
postižení dvou cév	54	26.1
postižení jedné cévy	41	19.8
postižení 0 cév	32	15.5
nemoc periferních cév	58	28.0
obesita	65	31.4
srdeční selhání (NYHA II-III)	63	30.4
fibrilace síní	39	18.8
onemocnění ledvin	34	16.4
chronická obstrukční nemoc plicní	34	16.4
antikoagulancia	28	13.5
betablokátory	181	87.4
ACEi	178	86.0
statiny	184	88.9
antidiabetika/inzulin	56	27.1
duální antiagregace	83	40.1
kalciové blokátory	43	20.8
diuretika	119	57.5
nitráty	31	15.0
inhibitory protonové pumpy	31	15.0

6.2. Výsledky vyhodnocení destičkové reaktivity a grafické zpracování

171 osob (82,1%) vykazovalo v obou měřeních adekvátní supresi agregace, 24 osob (11,6%) vykazovalo nedostatečnou míru suprese destičkových funkcí při prvním měření, 11 osob (5,3%) při kontrolním měření, pouze u 2 pacientů (1,0%) byla opakovaně prokázána vyšší reziduální destičková reaktivita (což ukazuje, že setrvale vysoká destičková reaktivita je relativně vzácným fenoménem). 16,9% vykazovalo nedostatečnou míru suprese destičkových funkcí alespoň při jednom z provedených měření (což svědčí pro variabilitu dat). Graf 1. Kvantitativně jsme zpracovali hodnoty slope 1 a slope 2 zda se liší mezi pohlavími, v závislosti na komorbiditách nebo medikaci. Statisticky nevýznamné rozdíly v destičkové reaktivitě byly zjištěny ve skupině pacientů s akutními koronárními syndromy ($p=0,37$), s chronickými formami ischemické choroby srdeční ($p=0,70$), u hypertoniků ($p=0,30$), u diabetiků ($p=0,30$), u obézních osob ($p=0,48$), u osob se srdečním selháním ($p=0,21$) či v závislosti na pohlaví ($p=0,99$). Nebyl prokázán statisticky významný vliv konkomitantní medikace ve vztahu k destičkové aktivitě: pro ACE-i ($p=0,86$), betablokátory ($p=0,12$) a statiny ($p=0,47$). Zjištěný statisticky významný rozdíl ve skupině pacientů s hyperlipidemií ($p=0,007$) nelze vzhledem k nízké síle testu považovat za relevantní.

Graf 1. Grafické vyjádření hodnot účinnosti/neúčinnosti terapie ASA (dle optické agregometrie) ze vstupního měření (slope1) a z kontrolního měření (slope2) v celém sledovaném souboru (bez selekce na jednotlivé podskupiny)



Legenda:

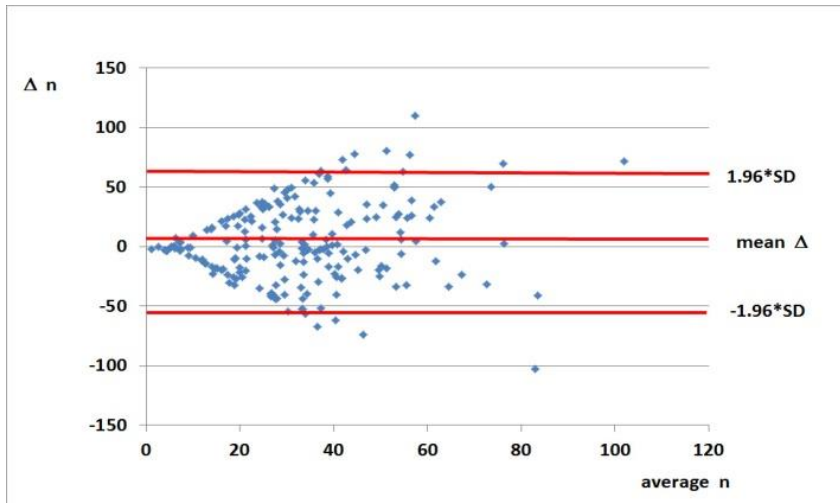
Na ose y jsou vyneseny hodnoty strmosti nástupu agregační křivky v %/min, které informují o účinnosti či neúčinnosti ASA terapie (35-65%/min považováno za tzv. terapeutické rozmezí), v krabičkovém grafu jsou znázorněny hodnoty mediánu, prvního a třetího kvartilu, maxima a minima i hodnoty odlehlé, hodnoty slope 1 a 2 se statisticky významně neliší ($p=NS$)

Destičková reaktivita a tudíž efektivita ASA terapie se statisticky významně nelišila ve skupinách osob s akutními koronárními syndromy, s diabetem, arteriální hypertenzí či se srdečním selháním, u osob léčených ACEi, betablokátory či statiny pro oba odběry i v porovnání se skupinami chroniků, nediabetiků, normotoniků či osob bez manifestního selhávání a u osob bez konkomitantní terapie. Byl nalezen statisticky významný rozdíl v účinnosti ASA terapie mezi pacienty s hyperlipidemií a bez

hyperlipidémie, kdy s ohledem na nízkou sílu testu se může jednat o náhodný jev. Ke grafickému vyjádření byly použity sloupcové grafy.

Pokusili jsme se vyjádřit se k reproducibilitě výsledků pomocí Bland-Altmanova testu a grafického znázornění v podobě Bland-Altman plotu. Z pohledu statistika z výsledků vyplývá, že testovaná veličina (slope) oplývá nízkou mírou opakovatelnosti a vysokou mírou variability, podle čehož lze předpokládat, že existuje řada faktorů ovlivňujících výslednou hodnotu. Graf 2

Graf 2. Bland-Altman plot



Legenda:

Grafické zobrazení shody/reproducibility vynáší rozdíly hodnot mezi vstupním a kontrolním měřením proti průměru těchto dvou měření. Ukazuje schematicky chyby měření a non-uniformitu dat. Horizontální linie grafu vyjadřují limity shody, které jsou definovány jako průměrný rozdíl $\pm 1,96$ směrodatné odchylky rozdílů měření. Z charakteru křivky v grafu 2 lze usuzovat na non-uniformitu a diverzifikaci dat.

7. Diskuze:

Lze říci, že protidestičková terapie je zcela nezastupitelná u pacientů s kardiovaskulárními chorobami a její význam je podložen řadou velkých klinických studií. Snaha o její optimalizaci má své opodstatnění. Téma destiček a jejich reaktivity v souvislosti s antiagregační terapií je komplexním problémem. Nadále zůstává potřeba správné definice v případě zjištěné nedostatečné odpovídavosti na protidestičkovou terapii.⁽¹⁰⁾ Zdá se, že nejvhodnějším termínem je vysoká reziduální destičková reaktivita. I přesto se v literatuře používá termín rezistence klinická či laboratorní, které ale nejsou identické.⁽¹¹⁾ Problémem zůstává, že „rezistence“ je definována na základě in vitro sledování a nelze říct, že in vitro zjištěné destičkové funkce vypovídají o selhání léčby.⁽¹²⁾ Vedle fenoménu vysoké reziduální destičkové aktivity můžeme nalézt i pojem destičková hyperreaktivita (jako vystupňovaná destičková odpověď na podání agonisty u pacientů dosud bez protidestičkové terapie).⁽¹³⁾ Destičková hyperreaktivita byla popsána jako nezávislý rizikový faktor pro vaskulární komplikace.⁽¹³⁾ Vyšší prahová („baseline“) destičková aktivita by mohla tudíž souviset s nedostatečnou mírou inhibice agregace při terapii protidestičkovými léky. Prevalence vyšší reziduální destičkové reaktivity při zavedené antiagregační terapii se značně liší v závislosti na použitém testu ke sledování destičkových funkcí. Zdá se, že „pravá rezistence“ na protidestičkové léky je při použití specifických testů velmi vzácným fenoménem⁽¹²⁾ Dat o nedostatečné míře suprese destičkové aktivity při duální antiagregaci je méně než o samotné aspirinové či clopidogrelové „rezistenci“. Je popisovaná interindividuální variabilita a heterogenita v destičkové odpovědi a je snaha popsat faktory ovlivňující destičkovou reaktivitu a zapříčiňující variabilitu v destičkové odpovědi. Vyjádřit se ke klinickému významu monitorace destičkových funkcí je poněkud problematické. Incidence tohoto fenoménu je popisována mezi 14,7-26,9% při použití optické agregometrie s odpovídajícími silnými induktory agregace či VerifyNow metody.⁽¹⁴⁾ Ve studiích je popisována korelace mezi nedostatečnou odpovídavostí na protidestičkové léky a výskytem nežádoucích kardiovaskulárních příhod, ale je velká variabilita dat (v definici fenoménu, v použité metodě, v použitých induktorech agregace a definovaném stupni inhibice destičkové aktivity, v definovaném sledovaném souboru), navíc chybí jasně dokumentovaný vztah mezi vysokou reziduální destičkovou aktivitou a klinickými příhodami.⁽¹³⁾ Používané testy mají variabilní prediktivní sílu pro výskyt kardiovaskulárních příhod. Existují důvody, proč nadále není monitorování destičkové aktivity zavedeno do rutinní klinické praxe: není jasný důkaz, že popisovaný vztah mezi laboratorně zjištěnou vysokou reziduální destičkovou aktivitou a trombotickými komplikacemi je způsoben rezistencí na lék, neexistuje konzistentní a uniformní metoda na testování destičkových funkcí, při testování není zohledňována problematika primární hemostázy, prakticky vůbec není brán v potaz průběh PCI (techniká náročnost, velikost a počty stentů, rozsah stentovaného úseku...). Nevíme ani, kdy je nejlepší čas na otestování destičkových funkcí a ani nevíme, který test nejlépe predikuje riziko trombotických příhod. Velmi podstatnou otázkou je tudíž správné načasování testování destičkových funkcí. Je nutno posoudit nakolik sledování reziduální destičkové aktivity při terapii v časové souvislosti s prováděním perkutánní koronární intervence (kdy je trombogenní potenciál nejvyšší právě v souvislosti s možným poškozením cévní stěny při intervenci a uvolněním trombinu jako mohutného induktoru agregace destiček) vyjadřuje míru účinnosti/neúčinnosti protidestičkové terapie. Je obecně známo, že trombinem indukovaná agregace destiček je fenomén neblokovatelný protidestičkovými léky. Proto nejspíše nelze hovořit o selhání protidestičkové léčby, vysoká reziduální destičková reaktivita může být pouhým projevem hyperkoagulačního stavu. Otázkou pak je zda testovat destičkové funkce v

akutní fázi (kdy nejlépe nelze hovořit o selhání protideštičkové terapie, protože destičky jsou aktivovány jinými mechanismy, ne zcela blokovatelnými ASA) či měřit destičkové funkce nejdříve po 6 týdnech od akutní příhody, kdy dochází postupně k normalizaci hyperkoagulačního stavu a akutní zánětlivé odpovědi organismu (na druhou stranu tyto pacienti ale již nejsou v nejvyšším trombotickém riziku a tudíž by tolik neprofitovali z případné úpravy terapie).⁽¹³⁾ V klinické praxi není dost dobře možné demonstrovat význam úpravy protideštičkové terapie na základě výsledků testování destičkových funkcí v populaci osob se stabilními formami koronární nemoci, protože v dané skupině je velmi malý výskyt komplikujících akutních příhod.⁽¹³⁾ V doporučených postupech naší kardiologické společnosti se zatím o rutinním monitorování destičkové aktivity a optimalizaci protideštičkové terapie na základě získaných výsledků nehovoří. Řada používaných testů nemá vysokou prediktivní hodnotu pro klinické výstupy v souvislosti se zjištěnou laboratorní vysokou reziduální destičkovou aktivitou. Z literatury vyplývá, že test ideální pro monitoraci destičkových funkcí by měl detekovat prahovou destičkovou hyperreaktivitu (týkající se osob dosud neléčených), predikovat riziko trombotických komplikací a tudíž umožnit individualizaci protideštičkové terapie na základě získaných výsledků a zároveň predikovat i krvácivé riziko.⁽¹³⁾ Od testování destičkových funkcí očekáváme detekci destičkové reaktivity jak v normální populaci (neléčené) tak u osob s koronárním postižením, detekci individuální variability v destičkové reaktivitě na fixní dávky protideštičkových léků s ev. možností optimalizace protideštičkové terapie na základě získaných výsledků.⁽¹³⁾ Poloautomatické testy, které máme k dispozici (a které by splnily požadavek snadnosti na zpracování, rychlosti a dostupnosti) nejsou schopny spolehlivě predikovat destičkovou hyperreaktivitu a protrombotické riziko.⁽¹³⁾ Porovnání výsledků jednotlivých používaných laboratorních metod vykazuje velmi slabou nebo žádnou korelaci.^(13,15) Je popisována řada faktorů ovlivňujících výsledky a stejně tak je popisována velká variabilita získaných výsledků v průběhu střednědobého a dlouhodobého sledování v dostupné literatuře (práce popisují destičkovou reaktivitu v heterogenních souborech, za použití různých metod, s různou koncentrací induktoru, bez objektivního posouzení compliance v terapii). Při volbě vhodného testu je nutno zamyslet se nad řadou otázek. První otázkou je volba vhodného protisrážlivého činidla při odběru vzorků krve k vyšetření destičkových funkcí, použité protisrážlivé činidlo může totiž výsledky destičkových testů modifikovat. Dalším problémem je závislost a variabilita získaných výsledků na použitém induktoru a jeho koncentraci, proto otázkou zůstává volba vhodného stimulu k testování destičkové aktivity. Je obecně známo, že destičky jsou velmi citlivé na nejrůznější zevní podněty, které by mohly ovlivnit jejich aktivitu. Při odběru krevních vzorků je běžně používané antikoagulační činidlo citrát, který ale může ovlivňovat intracelulární koncentraci kalcia (a kalcium má vliv na destičkové funkce), proto pak je vhodné zamyslet se nad tím, zda nepoužívat spíše hirudin nebo chloromethylketon.⁽¹⁶⁾ Dalším problémem je vhodný stimulus agregace, který by co nejvíce napodoboval fyziologickou stimulaci trombocytů in vivo. Jednotlivé používané metody mají své limity. Limitací téměř všech prací na téma rezistence na protideštičkovou terapii je jejich nejednotná metodika, rozdílná doba, kdy se měřil účinek léku po jeho podání, různé metody testování a různá množství použitého induktoru.⁽¹⁷⁾ Nelze se zcela jasně vyjádřit k prognostickému potenciálu použitých metod. Data z jiných prací (kde v souboru u pacientů se zvýšenými hladinami TF a sníženými hladinami TFPI bylo větší zastoupení osob s vysokou reziduální destičkovou aktivitou při ASA terapii)⁽¹⁸⁾ rovněž podporují myšlenku, že hladiny TF a TFPI mohou být pojítkem mezi trombotickým a zánětlivým procesem. Trombogenní efekt zánětu může být vysvětlován zvýšením hladiny TF a snížením hladiny TFPI, což je provázáno zvýšením destičkové aktivity. Dosud není ale znám přesný mechanismus, kterým TF a TFPI ovlivňují účinnost

protidestičkové terapie. Individuální odpověď na protidestičkové léky může být rovněž podmíněna geneticky. Za potenciálně protrombotické varianty, které by mohly souviset se sníženou odpovědí na terapii ASA jsou považovány a v literatuře uváděny zejména polymorfismus genu pro COX-1, overexprese COX-2 mRNA na destičkách a endotelových buňkách, polymorfismus PLA1/A2 genu kódujícího IIIa (GPIIIa) a polymorfismus v 807T (873A). Vztah výše popsaných genových polymorfismů k nedostatečné odpovědi na ASA terapii a potažmo ke klinickým dopadům stran optimalizace terapie by mohl mít svůj význam zejména v populaci osob s vysokým kardiovaskulárním rizikem. ⁽¹⁹⁾ Byla nalezena silná asociace mezi polymorfismem P1a membránového receptoru GPIIIa a byl popsán i vztah mezi tímto polymorfismem a akutní koronární trombózou. ⁽²⁰⁾ Další otázkou do diskuze je, jak postupovat v terapii v případě, že detekujeme nedostatečnou míru suprese destičkové aktivity při zavedené terapii. Pomýšlelo se, že nedostatečnou míru suprese destičkové aktivity by mohlo překonat navýšení dávky, ale byla popsána nedostatečná odpověď na terapii i při dávce ASA 1300mg/den. Další možností jak překonat vysokou reziduální destičkovou reaktivitu je přidání jiného protidestičkového léku. Ani přidání clopidogrelu do terapie u pacientů se sníženou odpovědí na ASA nemusí vést k lepším výsledkům, protože existuje fenomén rezistence při duální antiagregaci ⁽¹⁴⁾, navíc pacienti s vyšší reziduální destičkovou aktivitou při terapii ASA mívají zpravidla vyšší reziduální destičkovou aktivitu při terapii clopidogrelem. V takovém případě by možností bylo použití nových P2Y₁₂ inhibitorů, kdy nově dostupné léky by měly být potentními inhibitory agregace trombocytů (měly by vykazovat rychlejší nástup a větší míru antiagregačního účinku). Ukazují se jako vysoce účinné zejména v akutní fázi infarktu myokardu. ⁽²¹⁾

Postavení testování destičkových funkcí v současné klinické praxi

Mají velmi limitovanou schopnost detekovat destičkovou hyperreaktivitu, protrombotické či krvácivé riziko u dosud neléčených (zdravých) jedinců. Popisovaná vysoká reziduální destičková reaktivita je vysoce závislá na použitém testu a použitém agonistovi. Zatím chybí test, který by napodoboval fyziologické podmínky stimulace destičkové agregace a zároveň by byl vhodný pro klinické použití. ⁽¹³⁾ A stejně tak v dostupných studiích chybí i objektivizované posouzení compliance (jako jedné z nejčastějších příčin vysoké reziduální destičkové aktivity při terapii). Je sporné zda na základě výsledků monitorování destičkových funkcí můžeme predikovat výskyt hlavních nežádoucích kardiovaskulárních příhod (MACE) a měnit protidestičkovou terapii. ⁽¹³⁾

8. Závěr:

Jedním z pilířů terapie, který má dopad na mortalitu (mortalitní data jsou podpořena výsledky řady velkých randomizovaných studií), je protidestičková terapie. Avšak i přes standardně vedenou protidestičkovou terapii nejsme schopni predikovat výskyt trombotických komplikací. Předpokladem dobré léčebné strategie je porozumění patofyziologickým mechanismům aterotrombózy a koagulační kaskády a mechanismu účinku protidestičkových léků. V současné době vedle klasických rizikových faktorů aterosklerotického procesu (hypertenze, diabetes mellitus, dyslipidémie, kouření, pozitivní rodinná zátěž) byl popsán vztah mezi trombotickým a zánětlivým procesem a vztah mezi vysokou reziduální destičkovou aktivitou při terapii a kardiovaskulárním rizikem. Do popředí se tudíž dostal fenomén nedostatečné odpovídavosti na protidestičkové léky a myšlenka, že vysoká reziduální destičková reaktivita při standardně vedené protidestičkové terapii je dalším nezávislým rizikovým faktorem trombotických komplikací. Dosud nebyly zcela jednoznačně prokázány výhody optimalizace terapie na základě získaných laboratorních výsledků. Dosud není rutinní monitorování destičkových funkcí součástí doporučených postupů české kardiologické ani Evropské kardiologické společnosti, pouze v doporučených postupech americké kardiologické společnosti se objevuje zmínka o úpravě protidestičkové terapie na základě měření destičkových funkcí u vysoce rizikových pacientů. I z našich závěrů pro klinickou praxi vyplývá, že rutinní zavedení testování destičkových funkcí do klinické praxe naráží na řadu úskalí. V práci jsme charakterizovali sledovaný soubor pacientů z pohledu možného vztahu mezi vysokou reziduální destičkovou aktivitou a komorbiditami či konkomitujícími medikací. Nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v destičkové aktivitě mezi pohlavími či v závislosti na jiných chorobách (akutní koronární syndromy, diabetes mellitus, arteriální hypertenze, hyperlipidémie, srdeční selhání). Ani v souvislosti se současně podávanými léky nebyl nalezen statisticky významný rozdíl. Dalším ze splněných cílů bylo vyjádření se k variabilitě získaných výsledků. Při střednědobém sledování (v průběhu měsíců) naše výsledky vykazují vysokou míru variability a malou míru reproducibility při použití optické agregometrie s kationickým propylgalátem. Získané výsledky se v čase mění aniž by bylo zasahováno do terapie (respektive po celou dobu byli pacienti na standardní dáce ASA 100mg/den, ale objektivní posouzení compliance v terapii pacientů zcela jistě chybí). V naší práci tak nebyl nalezen jednoznačný vysvětlující a potenciálně ovlivnitelný faktor daného fenoménu nedostatečné odpovídavosti na terapii ASA. Při podrobnějším sledování získaných dat pro sledované podskupiny souboru lze vypořádat jistý trend v čase (byť nebylo dosaženo statistické významnosti). Při kontrole se zdá trend k poklesu procentuálního zastoupení osob s vysokou reziduální destičkovou aktivitou a to jak ve skupině osob s akutními koronárními syndromy, tak u diabetiků, hypertoniků a osob s hyperlipidemií, obdobně je tomu pro zastoupení naopak osob s dostatečnou supresí destičkové aktivity při terapii ASA v čase. Obecně lze říci, že naše práce poukazuje na značnou interindividuální variabilitu destičkových funkcí (aniž by byl nalezen jednoznačný vysvětlující faktor), na problematickou otázku možnosti testování destičkových funkcí (s řadou uvedených limitací) a zejména pak na velmi ožehavou otázku, zda na základě laboratorních výsledků zasahovat do zavedené terapie. Měla by přispět k lepšímu pochopení komplexní problematiky ischemické choroby srdeční a optimalizace strategie její léčby.

9. Použitá literatura:

1. VOJÁČEK J, KETTNER J. *Klinická kardiologie*. 1. vyd. Hradec Králové: Nucleus, 2009. 932s. ISBN-13: 978-80-87009-58-1. Kapitola 2, Ischemická choroba srdeční, s. 93-209.
2. ZIEGLER S, POULSEN TS, MICKLEY H et al. Von Willebrand factor release induced by endotoxin. *J Laborat Clin Medicine*, 1989, vol. 113, s. 118–122.
3. REX S, BEAULIEU LM, PERLMAN DH et al. Immune versus thrombotic stimulation of platelets differentially regulates signaling pathways, intracellular protein-protein interactions, and alpha-granule release. *Thromb Haemost*, 2009, vol. 102, no.1, s. 97-110.
4. Kol. autorů. Nesteroidní protizánětlivé léky, *Pace News* 2/2002
5. ŠEVČÍKOVÁ H, VOJÁČEK J, PUDIL R et al. Rezistence na protidestičkovou terapii v kardiologické praxi. *Interv Akut kardiol*, 2006, vol. 5, s. 256-258.
6. STOREY RF. Variability of response to antiplatelet therapy. *European Heart Journal Supplements*, 2008, vol. 10 (A Suppl), s. A21-A27.
7. SEIDEL H, RAHMAN MM, SCHARF RE. Monitoring of antiplatelet therapy Current limitations, challenges, and perspectives. *Haemostaseologie*, 2011, vol. 31, no. 1, s. 41-51.
8. GACHET CH, ALEIL B. Testing antiplatelet therapy. *European Heart Journal Supplements*, 2008, vol. 10 (A Suppl), s. A28-A34
9. MALÝ J. Rezistence na kyselinu acetylsalicylovou. *Interv Akut Kardiol*, 2005, vol. 4, no. 4, s. 192–193.
10. GURBEL PA, MAHLA E, ANTONIO MJ et al. Response variability and the role of platelet function testing. *The Journal of invasive cardiology*, 2009, vol. 21, no. 4, s. 172-178.
11. KULICZKOWSKI W, WITKOWSKI A, POLONSKY L et al. Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working group on thrombosis of the European Society of cardiology. *European Heart Journal*, 2009, vol. 30, s. 426-435.
12. YANO Y, OHMORI T, HOSHIDE S et al. Determinants of trombin generation, fibrinolytic activity, and endothelial dysfunction in patients on dual antiplatelet therapy: involvement of factors other than platelet aggregability in Virchow's triad. *Eur Heart J*, 2008, vol. 29, no. 14, s. 1729-1738.

13. GOROG DA, FUSTER V. Platelet function tests in clinical cardiology. *J Am Cardiol*, 2013, vol. 61, no. 21, s. 2015-2029.
14. BREET NJ et al. *Monitoring Antiplatelet Therapy in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention* [online]. c 2011, ISBN: 978-90-9026116-4
15. CATTANEO M. The clinical relevance of response variability to antiplatelet therapy. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2011, s. 70-75.
16. BONELLO L, TANTRY US, MARCUCCI R et al. Consensus and future directions in the definition of high on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate. *J Am Coll Cardiol*, 2010, vol. 56, no. 12, s. 919-933.
17. OSMANČÍK P, PAULŮ P, TOUŠEK P et al. Měření aktivity trombocytů a účinnosti antiagregační léčby. *Cor Vasa*, 2010, vol. 52 (1 Suppl), s. S15-S21.
18. VOJACEK J, SEVCIKOVA H, SEVCIK R et al. Increased platelet residual activity in patients treated with acetosalicylic acid is associated with increased tissue factor and decreased tissue factor pathway inhibitor plasma levels. *Int J Cardiol*, 2011, vol. 146, no. 3, s. 479-481.
19. CAMBRIA-KIELY JA, SANDHI J. Aspirin resistance and genetic polymorphisms. *Journal of thrombosis and thrombolysis*, 2002, vol. 14, no. 1, s. 51-58.
20. MOTOVSKA Z, WIDIMSKY P, KVASNICKA J et al. High loading dose of clopidogrel in unable to satisfactorily inhibit platelet reactivity in patients with glykoprotein IIIA gene polymorphism: a genetic substudy of PRAGUE-8 trial. *Blood Coagulation and fibrinolysis*, 2009, vol. 20, no. 4, s. 257-262.
21. VARVAŘOVSKÝ I. Uvidíte brzy i v našich kinech: prasugrel, ticagrelor a STEMI. *Interv Akut Kardiol*, 2012, vol. 11, no. 5-6, s. 197-200.

10. Přehled publikační činnosti:

10.1. Původní články:

H.Sevcikova et al.: Good short-term but not long-term reproducibility of the antiplatelet efficacy laboratory assessment (Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis) - Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis - Manuscript ID CATH-10-12-0181.R2, volume 18, No. 2, March/April 2012, 174-180. **IF 1,016**

Vojacek J, Sevcikova H, Sevcik R, Bis J, Pecka M: Increased platelet residual activity in patients treated with acetosalicylic acid is associated with increased tissue factor and decreased tissue factor pathway inhibitor plasma levels. International Journal of Cardiology, Ref. No.: IJC-D-10-02871, 2011 Feb 3;146(3):479-81, **IF 5,509**

H.Ševčíková, J.Vojáček, J.Bis, R.Ševčík: Hodnocení účinnosti kyseliny acetylsalicylové u osob s chronickou ischemickou chorobou srdeční, Interv Akut Kardiol 2011, 10(2), 58-60

10.2. Statě ve sbornících:

H.Ševčíková, J.Vojáček, R.Pudil, J.Malý, I.Fátorová: Vyskytuje se aspirinová rezistence častěji u pacientů s akutním koronárním syndromem?, XXXII. Den mladých kardiologů 2006, Sborník abstrakt, str.23

H.Ševčíková, J.Vojáček, R.Pudil, M.Pecka, J.Malý, I. Fátorová: Aspirinová rezistence z pohledu kardiologa, Sborník abstrakt, Vnitřní lékařství 2007, 53 (5), XXVI. Dny mladých internistů, Olomouc str. 598-599

Ševčíková H., Vojáček J., Pudil R., Štásek J., Malý J.* , Dulíček P.* , Fátorová I.* , I.Interní klinika, * II.Interní klinika FNHK a LFUK, Hradec Králové: Je terapie kyselinou acetylsalicylovou stejně účinná v čase?, Cor Vasa 2008, 50 (7-8): 125

Ševčík R., Vojáček J., Bis J., Ševčíková H., Dušek J., I.interní klinika FN Hradec Králové a LFUK Hradec Králové: Rezistencia na protidoštičkovou liečbu po implantácii stentu do koronárnej arterie, Cor Vasa 2008, 50 (7-8): 125

Ševčíková H., Vojáček J., Pudil R., Štásek J., Bis J., Malý J., Dulíček P., Pecka M., Fátorová I.: Destičková reaktivita při antiagregační terapii (naše zkušenosti), Cor Vasa 2009;51(7-8)

H. Ševčíková: Cor pulmonale chronicum, Seminář z vnitřního lékařství (Kurz programu postgraduálního vzdělávání ve vnitřním lékařství 9/09)

10.3. Přehledové články:

H.Ševčíková,J.Vojáček, R.Pudil, J.Malý, M.Pecka, I.Fátorová: Rezistence na protideštičkovou terapii v kardiologické praxi, Intervenční a akutní kardiologie 2006, 5: 256-258

H.Ševčíková, J.Vojáček, R.Pudil, J.Štásek, J.Bis, R.Ševčík, J.Dušek, J.Malý, P.Dulíček: Failure of therapy or resistance to antiplatelet drugs? Cor Vasa 2009;51(1), 41-44

R. Ševčík, J. Vojáček, J. Bis, H. Ševčíková, J. Dušek, J. Štásek: Klasifikácia krvácavých komplikácií antitrombotickej liečby u kardiologických pacientov. Bleeding scale and bleeding complication of the antithrombotic therapy in cardiologic patients. Interv Akut Kardiol, 2008; 7

R. Ševčík, J. Vojáček, H. Ševčíková, J. Dušek, J. Bis, J. Štásek: Antiagregačná liečba u pacientov po perkutánnej koronárnej intervencii ušitá na mieru – hudba budúcnosti alebo najvyšší čas urobiť prvý krok?, Interv Akut Kardiol 2009; 8(4): 192–195

Hana Ševčíková, Tomáš Rozkoš, Iva Hrubá, Jan Vojáček: Acute Occlusion of Adominal Aorta, Acta Medica (Hradec Králové) 2010 Vol. 53 No. 2

H. Ševčíková, R. Pelouch, A. Matějková, P. Dulíček: Fatal Manifestation of Myeloproliferative Disease, Acta Medica (Hradec Králové) 2013, Vol. 56, No. 1

10.4. Přednášky na odborných setkáních:

- Vyskytuje se aspirinová rezistence častěji u pacientů s akutním koronárním syndromem?, Den mladých kardiologů 2006, oceněno 3.místem
- Aspirinová rezistence z pohledu kardiologa, 2007, Dny mladých internistů, Olomouc (oceněno 1.cenou předsedy České internistické společnosti)
- Aspirinová rezistence – mýtus nebo skutečnost? Rokitanského den, 2008
- Je terapie kyselinou acetylsalicylovou stejně účinná v čase? Den mladých kardiologů, 2008
- Destičková reaktivita při antiagregační terapii (naše zkušenosti), Den mladých kardiologů 2009
- Zkušenosti s monitorací antiagregační terapie v klinické praxi, Rokitanského den 2009
- Monitorování protideštičkové léčby – klinický význam z pohledu kardiologa, Regionální hematologický seminář, 2010
- Cor pulmonale chronicum – přednáška v rámci kurzu programu postgraduálního vzdělávání ve vnitřním lékařství, 9/09