

REZISTENCE NA PROTIDESTIČKOVOU TERAPII V KARDIOLOGICKÉ PRAXI

Hana Ševčíková¹, Jan Vojáček¹, Radek Pudil¹, Jaroslav Malý², Miroslav Pecka², Ilona Fátorová²

¹1. interní klinika FN a LF UK Hradec Králové

²2. interní klinika – oddělení klinické hematologie FN a LF UK Hradec Králové

Kyselina acetylsalicylová (ASA) má nezastupitelné postavení v primární a sekundární prevenci ischemické choroby srdeční. Relativně novým patofyziologickým fenoménem s možným klinickým dopadem je rezistence na protidestičkovou terapii (ASA rezistence, clopidogrel rezistence). Definice je klinická (manifestace kardiovaskulárních trombotických příhod i přes antiagregační terapii) či laboratorní (kdy není vyvolána odpovídající laboratorní odpověď ve smyslu inhibice agregace trombocytů). Etiologie je komplexní. Faktory ovlivňující rezistenci můžeme rozdělit na genetické, buněčné a klinické. Prevalence ASA rezistence se pohybuje mezi 5–45 % v závislosti na použité metodice sledování účinnosti protidestičkové terapie. Metodiky můžeme rozdělit na in vivo a in vitro. Zlatým standardem jsou agregometrické metody (vyhodnocující agregační křivku po přidání induktoru agregace trombocytů v optickém agregometru), rychlé a jednoduché jsou poloautomatické metody (platelet function analyser 100 – PFA-100, turbidimetrické metody – ULTEGRA systém). Nevýhodou jednotlivých metodik je nejasná specifita a senzitivita. Problematika rezistence na protidestičkovou terapii vyvolává stále mnoho otázek. Zatím není možné vyjádřit se ke klinickému významu laboratorní rezistence či k rutinnímu monitorování rezistence na protidestičkovou terapii v klinické kardiologické praxi.

Klíčová slova: kyselina acetylsalicylová, ischemická choroba srdeční, clopidogrel, ASA rezistence, agregometrie.

RESISTANCE TO ANTIPLATELET THERAPY IN CLINICAL CARDIOLOGY

Antiplatelet therapy plays very important role in the treatment of ischaemic heart disease and its secondary prevention. Resistance to antiplatelet therapy ranks among the recent pathophysiological units that may have a fundamental influence on the therapy of patients treated with various drugs affecting platelet functions (acetylsalicylic acid or clopidogrel). We can define resistance to antiplatelet drugs clinically (manifestation of coronary events despite antiplatelet therapy) or laboratory (no inhibition of platelet aggregation in vitro). Etiology of resistance to antiplatelet therapy is complex. The causes of resistance can be divided into three groups (clinical, laboratory and genetic). The percentage of ASA non-responders represented in the population fluctuates from 5 to 45 % depending on the method used. Monitoring the effectivity of antiplatelet drugs can be divided into 2 groups (in vivo and in vitro). One of the most commonly used methods is optic aggregometry with inducers of aggregation. PFA-100 and ULTEGRA system are semi-automatic, rapid and simple methods. The methods are unspecific and unsensitive. There remain many unanswered questions in the topic of antiplatelet therapy resistance.

Key words: acetylsalicylic acid, ischaemic heart disease, clopidogrel, ASA resistance, aggregometry.

Interv Akut Kardiolog 2006;5:256–258

Úvod

Kyselina acetylsalicylová (ASA) patří mezi nejstarší a nejčastěji používané látky s antiagregačním efektem v kardiologické praxi. Salicylová kyselina byla objevena roku 1838, ale měla řadu nežádoucích efektů, pro které nebyla široce používána. Kyselina acetylsalicylová (stabilní a lépe tolerovaná forma kyseliny salicylové) byla v roce 1899 nazvána Aspirinem. Antiagregační efekt ASA byl popsán v roce 1971. Byl popsán dvojitý mechanismus antiagregačního efektu kyseliny acetylsalicylové. Ve vysokých dávkách (nad 6 g denně) má ASA přímý hypoprotrombinový efekt, v nižších dávkách působí mechanismem ireverzibilní acetylace destičkové cyklooxygenázy (COX)⁽¹⁾. V osmdesátých letech minulého století byly objeveny dvě izoformy COX (COX-1, COX-2). ASA je neselektivním inhibitorem obou izoform COX⁽¹⁾ (kdy citlivost COX-2 k ASA je 170x menší v porovnání s COX-1)⁽⁴⁾. Kyselina acetylsalicylová má své postavení v primární i sekundární prevenci ischemické choroby srdeční. Physician's Health Study v letech 1988–1989 prokázala 44% snížení incidence prvního infarktu myokardu u mužů léčených aspirinem proti placebo⁽²⁾. Podávání ASA u pacientů s akutním infarktem myokardu snižuje mortalitu o 23 % (ISIS-2)⁽²⁾. V sekundární prevenci ischemické choroby srdeční ASA snižuje

riziko vaskulárních příhod o 23 % u osob s vysokým kardiovaskulárním rizikem⁽²⁾. Druhým nejčastěji používaným antiagregačním lékem je clopidogrel ze skupiny thienopyridinů, který blokuje adenosindifosfát (ADP) indukovanou agregaci trombocytů. Efektem protidestičkové terapie se zabývaly např. studie CAPRIE, CURE, CREDO, CLARITY-TIMI-28⁽⁷⁾. U pacientů léčených clopidogrelem bylo prokázáno statisticky významné snížení relativního rizika mozkové příhody, infarktu myokardu či náhlé smrti (CAPRIE). Ve studii CURE byl prokázán efekt duální antiagregace u pacientů s akutním koronárním syndromem na snížení rekurence koronárních příhod ve srovnání s ASA v monoterapii. CREDO popsalo snížení relativního kardiovaskulárního rizika a efektivitu podávání clopidogrelu u pacientů podstupujících perkutánní koronární intervenci (PCI). Efekt clopidogrelu v porovnání s placebem na snížení relativního rizika náhlé smrti, rekurence myokardiálního infarktu či ischemie popisuje CLARITY-TIMI-28.

Definice

Mezi relativně nové patofyziologické fenomény patří rezistence na protidestičkovou terapii. Nejvíce sledovanou problematikou je ASA rezistence, nověji

MUDr. Hana Ševčíková

1. interní klinika FN a LF UK Hradec Králové

e-mail: ha.sevcikova@seznam.cz

Článek přijat redakcí: 9. 11. 2006

Článek přijat po přepracování: 1. 12. 2006

Článek přijat k publikaci: 6. 12. 2006

pak clopidogrelová rezistence (jejíž prevalence je popisována mezi 5–10 %)⁽⁷⁾. Prevalence ASA rezistence se pohybuje mezi 5–45 % v závislosti na použité metodice sledování⁽⁶⁾. Rezistenci na kyselinu acetylsalicylovou (či clopidogrel) můžeme definovat klinicky, kdy i přes pravidelné užívání ASA (či clopidogrelu) dochází k rozvoji kardiovaskulárních trombotických příhod. Vedle klinické definice stojí definice laboratorní (kdy nedojde i přes podávání ASA či clopidogrelu k vyvolání požadovaného laboratorního efektu ve smyslu inhibice agregace trombocytů)^(3, 4). V poslední době proběhla řada studií zabývajících se otázkou ASA rezistence. Byla stanovována prevalence ASA rezistence např. ve skupinách pacientů s ischemickou chorobou srdeční, po aortokoronárním bypassu či po cévní mozkové příhodě. Prevalence ASA rezistence se lišila v závislosti na použité metodice sledování efektu protidestičkové terapie (Eikelboom a kol., 2002, Macchi a kol., 2002, Zimmermann a kol., 2001)^(2, 3, 7). Clopidogrelová rezistence byla studována u pacientů s akutním infarktem myokardu (Matetzky a kol.)^(5, 7).

Etiologie

Etiologie rezistence na protidestičkovou terapii je komplexní. Faktory ovlivňující ASA rezistenci můžeme rozdělit do tří základních skupin (genetické, buněčné a klinické – viz tabulky 1, 2). Z genetických faktorů ovlivňují ASA reaktivitu polymorfismy enzymů zúčastněných v metabolismu kyseliny arachidonové, polymorfismy destičkových glykoproteinových receptorů (GPIa/IIa, Ib/V/IX, IIb/III), polymorfismy kolagenového receptoru či receptoru pro von Willebrandův faktor (vWf), polymorfismy faktoru XIII (Val 34 Leu)^(2, 3, 4, 5, 10). Z buněčných faktorů jmenujme aktivaci trombocytů nezávislou na ASA (erytrocyty, trombinem, kolagenem, adrenalinem či ADP indukovanou), zvýšenou senzitivitu destiček na kolagen či ADP. Dalšími buněčnými faktory jsou overexprese COX-2 a COX-2 mRNA při zvýšeném obratu trombocytů (COX-2 je asi 170x méně citlivá vůči ASA než COX-1), tvorba prostaglandinů (8-iso-PGF) neenzymatickou peroxidací. Hladina resolvinů (metabolitů mastných kyselin), prostaglandinů (PGH₂) či regenerace COX-1 v jaderných buňkách rovněž ovlivňuje trombocytární reaktivitu^(2, 3, 4, 5, 10). Z exogenních (klinických) faktorů nelze opomenout nespoupráci v terapii, lékové interakce (zejména abúzus nesteroidních protizánětlivých léků – NSAID, které interagují s vazebným místem pro ASA na COX-1), malabsorpci (jako příčinu snížené biologické dostupnosti léku)^(2, 3, 4, 5, 10). Rovněž fyzická zátěž, stres, poloha či cigaretový kouř mohou ovlivňovat trombocytární reaktivitu. Zvýšený obrat trombocytů (reakce na stres, stav po aortokoronárním bypassu) vede k vyplavování většího počtu trombocytů dosud neovlivněných ASA a může být další možnou příčinou ASA rezistence. Z klinických faktorů nelze vyloučit ani vliv věku či pohlaví (vyšší incidence ASA rezistence je popisována u osob vyššího věku a u žen). Trombocytární reaktivita je ovlivněna i přidruženými chorobami (jako je hyperlipidémie, hyperglykémie, chronická renální insuficience, srdeční selhávání). U akutních koronárních syndromů je popisován hyperkoagulační stav spojený se sníženou senzitivitou vůči antiagregačním lékům v prvních 7 dnech až 3 měsících po příhodě⁽⁹⁾. U pacientů s akutním koronárním syndromem byla popsána vyšší prevalence ASA rezistence v porovnání se zdravými dobrovolníky, vyšší výskyt ASA rezistence byl popsán rovněž u pacientů s hyperlipidemií, diabetem a u kuřáků. Ve čtyřletém sledování měly osoby ASA rezistentní 88% incidence kardiovaskulární příhody oproti 44% incidence koronární příhody u ASA-responďerů⁽¹¹⁾. Klinickou příčinou selhání terapie ASA je rovněž jiný patofyziologický podklad základního onemocnění (arteriitida, embolizace)^(2, 3, 4, 5, 10). Byla popsána souvislost ASA rezistence s dávkou, kdy s narůstající dávkou ASA klesá incidence ASA rezistence (i přesto byla popsána rezistence např. i u dávek 1 300 mg)⁽²⁾. Faktory ovlivňující selhání terapie clopidogrelem můžeme rovněž rozdělit do tří skupin (genetické, buněčné, klinické – viz tabulka 3). Z genetických příčin jsou to polymorfismy cytochromu P 450 (CYP 2C19, CYP 3A4, 3A5), polymorfismy receptoru pro adenosindifosfát (ADP), z faktorů klinických jde opět o nespoupráci

Tabulka 1. Endogenní příčiny ASA rezistence

BUNĚČNÉ	GENETICKÉ
cesty neblokové ASA (indukce agregace erytrocyty, trombinem, kolagenem, adrenalinem, ADP, cytokiny)	polymorfismus COX-1, COX-2, TxA2 syntetázy
☒ senzitivita trombo na kolagen a ADP	polymorfismus GPIa/IIa, Ib/V/IX, IIb/IIIa R
overexprese COX-2 (rychlá regenerace trombo), overexprese COX-2 mRNA	polymorfismus receptoru pro kolagen, vWf
regenerovaná COX-1 (Mo, Ma, endotelie)	polymorfismus f XIII (val 34 leu)
resolvin	
8-iso-PGF	

Tabulka 2. Exogenní příčiny ASA rezistence

noncompliance
malabsorpce
lékové interakce (NSAID)
kouření
fyzická zátěž, posturální reakce, stres
věk, pohlaví
zvýšený obrat trombocytů
hyperlipidémie, hyperglykémie
netrombotická etiologie cévního uzávěru (arteriitida, embolizace)
hyperkoagulační stav u akutních koronárních syndromů
dose dependence

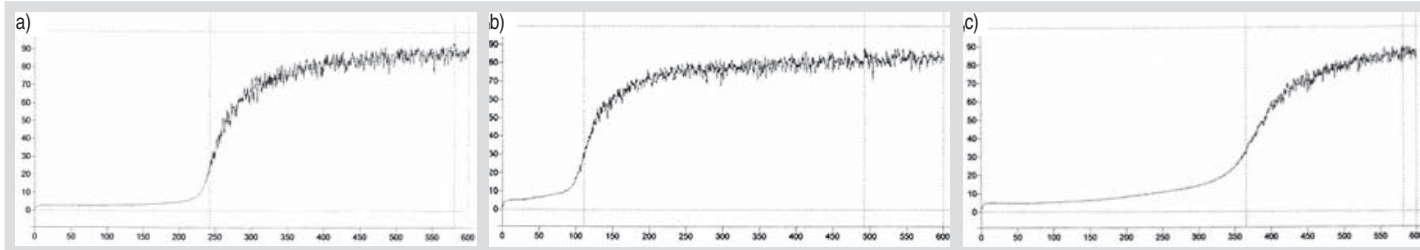
Tabulka 3. Příčiny clopidogrelové rezistence

noncompliance
lékové interakce
BMI, diabetes, inzulínorezistence, stres
interindividuální a intraindividuální variabilita v aktivitě CYP 45
akcelerovaný obrat trombocytů
genové polymorfismy CYP 450

Tabulka 4. Metody sledování účinnosti protidestičkové terapie

METODA	POZITIVA	NEGATIVA
krvácivost	jednoduché	nespecifické nesenzitivní závislé na řadě faktorů
β-tromboglobulin, df 4, solubilní P elektin v séru, 11-dehydrotromboxan B2 v moči	korelace s klinikou	mimodestičkové zdroje tromboxanu závislost na renálních funkcích nejasná specifita a senzitivita
Cytoflowmetrie pomocí značených protilátek		
Optická agregometrie	zlatý standard	nejasná specifita a senzitivita variabilita výsledků
PFA-100 (CEPI, CADP)	jednoduché rychlé plná krev senzitivita 96,1 % specifita 88,6 %	nejasná korelace s klinikou
ULTEGRA (rapid platelet function assay)	jednoduché rychlé plná krev	

Obrázek 1. Agregáčn křivky: a) agregáčn křivka osoby neléčené ASA, b) agregáčn křivka mimo terapeutické rozmezí (nedostatečná léčba ASA), c) agregáčn křivka v terapeutickém rozmezí (dostatečná léčba ASA)



v terapii, inadekvátní dávkování, lékové interakce (mezi clopidogrelem a farmaky metabolizovanými přes cytochrom P450), přidružené choroby (diabetes, obezita), stresové situace, či zvýšený obrát trombocytů⁽⁷⁾. Byla popsána i korelace mezi sníženou odpovědí na ASA a současně sníženou odpovědí na clopidogrel⁽¹²⁾.

Metody testování účinnosti protidestičkové terapie

Metody používané ke stanovení účinnosti protidestičkové terapie lze rozdělit na metody in vivo či in vitro (tabulka 4). Nejjednodušší je stanovení krvácivosti, které je z dnešního pohledu nespecifické, málo senzitivní, závislé na řadě koincidujících faktorů. In vivo je možné stanovit za použití ELISA metod hladinu β -tromboglobulinu, destičkového faktoru 4 či solubilního P-selektinu v séru či metabolitu tromboxanu (11-dehydrotromboxan B2) v moči^(3, 8). Průtoková cytometrie s použitím značených protilátek se využívá k detekci destičkových glykoproteinových receptorů⁽⁹⁾. Zlatým standardem ve stanovení účinnosti protidestičkové terapie jsou agregometrické metody využívající induktorů agregace (ADP, kolagenu, kyseliny arachidonové, ristocetinu, kationického propylgalátu), založené na vyhodnocení změny optické hustoty při agregaci trombocytů v optickém agregometru po přidání induktoru⁽⁶⁾. Nevýhodou je variabilita výsledků v závislosti na použitém induktoru a jeho koncentraci, nedostatečná specifita, nejasná senzitivita (vzhledem k nestabilitě trombocytů a chybějícím standardům pro srovnání), výrobcem agregometrů bývá senzitivita udávána jako 10% odchylka od maximální amplitudy agregáčn křivky, rovněž není zcela jasná korelace výsledků s klinikou⁽³⁾. Nověji se jako induktoru agregace trombocytů využívá kationického propylgalátu (v naší hematologické laboratoři se využívá kationický propylgalát v koncentraci 300 μ mol/l, který je mimořádně citlivý na přítomnost ASA v organizmu). K vyšetření se používají 2 zkumavky citrátové krve, v optickém agregometru se po přidání kationického propylgalátu zpracovává plazma bohatá na trombocyty oproti plasmě chudé na trombocyty a vyhodnocuje se agregáčn křivka (obrázek 1). Na křivce se hodnotí maximální amplituda a strmost nástupu (slope) agregáčn křivky. Hodnoty slope mezi 35–65% jsou tzv. v terapeutickém rozmezí, pokud hodnota slope přesáhne 65%, hovoříme o nedostatečně účinné protidestičkové terapii. Nověji se k testování efektu terapie jak ASA tak clopidogrelem využívají poloautomatické analyzátory (PFA-100 – platelet function analyser 100, ULTEGRA – rapid platelet function assay). Výhodou těchto metod je jednoduchost a rychlost⁽³⁾. PFA-100 měří destičkové funkce za použití

plné krve⁽¹⁰⁾. Cartridge obsahují biologicky aktivní membránu, která je kryta buď kolagenem a epinefrinem (CEPI) nebo kolagenem a ADP (CADP). Stanovuje se tzv. closure time (čas potřebný k úplnému uzavření mikroskopického otvoru v důsledku indukce agregace trombocytů v souvislosti s přítomností induktoru agregace a střížných sil indukovaných konstantním průtokem krve kapilárou), closure time pro CEPI je 120–130 s, pro CADP pak 90–100 s. Ultegra systém je založen na turbidimetrickém principu, cartridge obsahují částice potažené lidským fibrinogenem a destičkové induktory. Využívá se rovněž nesrážlivé krve⁽⁶⁾.

Závěr

I přes poměrně rozsáhlé spektrum testů sledujících účinnost protidestičkových léků zůstává otázkou, do jaké míry koreluje klinická rezistence s laboratorními výsledky⁽⁹⁾. Závěrem lze tedy říci, že rezistence na protidestičkovou terapii je patofyziologickým fenoménem s možným klinickým významem. Do mechanismu aspirinové i clopidogrelové rezistence zasahuje řada faktorů (viz výše). Variabilita v odpovědi na protidestičkovou terapii je multifaktoriální (E. I. Lev a kol., 2006). ASA rezistence zůstává i přes již mnoho známého stále nevyřešeným problémem vyvolávajícím spoustu otázek. Nejpalčivější otázkou je, zda ASA rezistence má klinický význam či zda jde o pouhý laboratorní jev. Nevíme, jaká je skutečná compliance pacientů v terapii ASA (otázkou do budoucna zůstává monitorace metabolitů kyseliny acetylsalicylové v moči k možnému stanovení compliance v terapii), jaká je prevalence u osob s aktuálními koronárními syndromy a se stabilními formami koronární nemoci. Ptáme se, zda je rezistence na protidestičkovou terapii jevem trvalým či přechodným⁽³⁾ (souvisejícím s variabilitou laboratorních výsledků), další otázkou je rovněž intraindividuální variabilita (Addad a kol., 2005). Vzhledem k výše zmíněnému významu duální antiagregace u pacientů po koronární intervenci nelze opomenout potenciální klinický význam clopidogrelové rezistence, dosud ale chybí dostatek klinických dat. Nebyla zatím stanovena standardizovaná metodika detekce účinnosti protidestičkové terapie. Metodiky ke stanovení efektu protidestičkové terapie jsou málo specifické i málo senzitivní⁽⁹⁾. Zatím není možné vyjádřit se ke klinickému významu laboratorní rezistence či k rutinnímu monitorování účinnosti protidestičkové terapie v klinické kardiologické praxi a není dosud vyřešena ani otázka vhodné protidestičkové terapie u ASA či clopidogrel rezistentních osob.

Podporováno výzkumným záměrem MZO 00179906, MSM 0021620817

Literatura

- Kol. autorů. Nesteroidní protizánětlivé léky, *Pace News* 2/2002.
- McKee SA, Sane DC, Deligdisis EN. Aspirin resistance in cardiovascular disease: A review of prevalence, mechanism and clinical significance. *Thromb Haemost* 2002; 88: 711–715.
- Malý J. Rezistence na kyselinu acetylsalicylovou. *Interv Akut Kardiolog* 2005; 4: 192–193.
- Karetová D, Bultas J. Rezistence na aspirin – laboratorní odchylka nebo klinický problém? *Interní Med*. 2005; 1: 10–13.
- Wang TH, Bhatt DL, Topol EJ. Aspirin and clopidogrel resistance: an emerging clinical entity. *Eurheartj* 2006; 27: 647–654.
- Hankey GJ, Eikelboom JW. Aspirin resistance. *Lancet* 2006; 367: 606–607.
- Michos ED, Ardehali R, Blumenthal RS, Lange RA, Ardehali H. Aspirin and clopidogrel resistance. *Mayo Clin Proc*. 2006; 81(4): 518–526.

- Vojáček J, Malý M. Možnosti hodnocení funkce destiček. In: Vojáček J, Malý M, eds. *Arteriální a žilní trombóza v klinické praxi*, PA: Grada Publishing, 2004: 64–66.
- Violi F, Pignatelli P. The need for a consistent definition of aspirin resistance. *Tromb Haemost* 2006; 4: 1618–1619.
- Deligdisis EN, Boudoulas H. Aspirin resistance. *Hellenic J Cardiol* 2004; 45: 1–5.
- Stejskal D, Václavík J, Lačňák B, Prošková J. Aspirin resistance measured by cationic propylgalate platelet aggregometry and recurrent cardiovascular event during 4 years of follow-up. *Eur J Intern Med*. 2006; 17 (5): 349–354.
- Cuisset T, Frere C, Quilici J, et al. High post-treatment platelet reactivity identified low-responders to dual antiplatelet therapy at increased risk of recurrent cardiovascular event after stenting for acute coronary syndrome. *Thromb Haemost* 2006; 4(3): 542–549.