

LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ HEMOSTÁZY PŘI KARDIOLOGICKÝCH VÝKONECH

Jaroslav Malý, Miroslav Pecka, Petr Dulíček, Martin Blažek

II. interní klinika LF UK a FN Hradec Králové

V současnosti je známa celá řada klinických stavů, při kterých je pro nemocného nezbytné udržovat sníženou krevní srážlivost. Tyto léky mohou na jedné straně život zachránit, na druhé straně, zejména při špatném dávkování ohrozit. Z těchto důvodů je při podávání těchto léků nutné pečlivě dodržovat indikace, intervaly sledování a doporučené léčebné rozmezí. Laboratorní monitorování parametrů hemostázy při antitrombotické léčbě či prevenci v kardiologii je základním předpokladem úspěšnosti kardiologických intervencí.

Klíčová slova: antitrombotická léčba, monitorování antitrombotické léčby.

LABORATORY ASSESSMENT OF HAEMOSTASIS IN CARDIOLOGICAL INTERVENTIONS

Currently a number of clinical conditions are known, in which it is necessary to maintain coagulation decreased. On one hand, these medications can be life-saving, on the other hand, their inappropriate dosage can be life-threatening. Therefore it is essential to adhere to strict indications, intervals monitoring and the recommended therapeutic range when administering these medications.

Laboratory monitoring of parameters of haemostasis during antithrombotic treatment or prevention in cardiology is a fundamental prerequisite for successful cardiology intervention.

Key words: antithrombotic treatment, monitoring of antithrombotic treatment.

Interv Akut Kardiolog 2005;4:90–92

Úvod

V kardiologii a angiologii lze inhibice koagulace dosáhnout řadou způsobů:

1. inhibice iniciální fáze koagulace:
 - inhibitory tkáňového faktoru (tissue factor pathway inhibitor)
 - inhibitory ostatních koagulačních faktorů
2. zamezením přeměny protrombinu na trombin:
 - inhibitory F IIa (Trombin)
 - inhibitory F Xa
3. blokádu účinku trombinu:
 - přímé inhibitory
 - nepřímé inhibitory: blokují trombin zprostředkovaně aktivací antitrombinu (nefrakcionovaný heparin, nízkomolekulární heparin)
4. posílení přirozené antikoagulační odpovědi organismu rekombinantní fyziologické proteiny s antikoagulační aktivitou (rekombinantní protein C, rekombinantní trombomodulin); tyto faktory stimulují přirozenou antikoagulační schopnost organismu
5. potlačení geneze faktorů závislých na vitamínu K:
 - antagonisté vitamínu K (kumarinové preparáty).

Monitorování antikoagulační léčby v kardiologii

Stále nejčastějším prostředkem v kardiologii je léčba nefrakcionovaným heparinem.

Monitorování antikoagulační léčby preparáty heparinu

Monitorování léčby heparinem představuje stále velký problém. Dosud není k dispozici test, který by odrážel antitrombotické působení heparinu u nemocného. Příčiny jsou jednak v polyvalentním účinku heparinu a dále v testu samotném. Během léčby je důležité zajistit vyváženou hladinu nefrakcionovaného heparinu, která je schopna udržovat efektivní hypokoagulační stav a současně neohrožuje pacienta krvácením.

Monitorování léčby nefrakcionovaným heparinem (UFH)

Nižší léčebné dávky nefrakcionovaného heparinu se sledují pomocí aktivovaného parciálního tromboplastinového testu (APTT). U těchto dávek se předpokládá, že koagulační čas tohoto testu je přímo úměrný hladině heparinu v plazmě nemocného.

Aktivovaný parciální tromboplastinový test (APTT)

APTT popisuje hlavně vnitřní cestu koagulačního děje. V přítomnosti fosfolipidů krevních destiček a po kontaktní aktivaci plazmy chudé na destičky se test startuje přidáním chloridu vápenatého.

- Heparin má poněkud odlišné vlastnosti v systému in vivo a in vitro, ke kterým je nutné během monitorování přihlížet. V systému in vivo je heparin z části vyvazován PF4 uvolněným z krevních destiček. Dále je nutné brát odlišnou účast v systému

antitrombinové a anti Xa aktivity. K antikoagulačnímu efektu přispívají i některé další fyziologické faktory, jako je tělesná hmotnost, plazmatické proteiny (zejména v době zánětu), cirkadiální rytmus. Toto vše souhrnně přispívá k citlivosti reagencií v případě vyhodnocení terapeutického účinku heparinu v systému APTT (tabulka 1).

- V některých případech zejména tam, kde dochází k výraznějšímu vyvazování heparinu na plazmatické proteiny, může docházet k tomu, že dávky a hladiny APTT nekorelují. V takových případech je vhodné sledovat hladinu heparinu v plazmě jinými metodami (např. chromogenní metodou).
- Během monitorování hladin heparinu, zejména při antikoagulační terapii žilní trombózy, může docházet k následujícím problémům:

1. jde o akutní stav, který je provázen vzestupem bílkovin ranné fáze, které soutěží s AT o vazbu na UFH; jedná se zejména o tyto sloučeniny: vitronektin, na histidin bohatý glykoprotein – HRG (histidin rich glycoprotein), PF4
2. pokles AT – při poklesu pod 50 % může docházet k tzv. "heparinové rezistenci" – tj. nedostatku AT, při kterém nedochází ke vzniku ternárního komplexu [AT. trombin. heparin]; zjišťují se kratší časy APTT, než by odpovídalo dané léčbě; v těchto případech je nutné podat intravenózně AT
3. zvýšené hladiny F VIII a fibrinogenu (vyvolané akutním stavem); dochází

Článek přijat redakcí: 2. 3. 2005
Článek přijat k publikaci: 6. 4. 2005

prof. MUDr. Jaroslav Malý, CSc.
II. interní klinika LF UK a FN, Sokolská 408, 500 05 Hradec Králové
e-mail: maly@fnhk.cz

ke zkrácení časů APTT i při terapeutických dávkách heparinu, díky zvýšené aktivitě FVIII a zvýšeným hladinám fibrinogenu; hovoříme o tzv. „nepravé heparinové rezistenci“

4. dochází k prodloužení APTT a to:
 - extrémně: při deficitu F XII a faktorů kontaktní fáze (plná korekce po přidání normální plazmy)
 - méně výrazně: v přítomnosti protilátke typu LA (nedojde ke korekci).

Při heparinizaci krve u mimotělních oběhů se využívá vysokých dávek heparinu, které nejsou měřitelné APTT. V těchto případech se léčba heparinem monitoruje pomocí aktivovaného koagulačního testu – ACT.

Poznámky k léčbě heparinem

Trombocyty je nutné vyšetřit před léčbou a v průběhu léčby. Pokles trombocytů pod $100 \times 10^9/l$ nebo pokles o více než $1/3$ mohou svědčit pro heparinem indukovanou trombocytopenii.

Heparin neprochází placentární bariérou. Heparin se nedostává do mateřského mléka. Tzv. „heparinová rezistence“ se popisuje při plicní embolii, bývá nejčastěji při konzumpci antitrombinu při masivní plicní embolii provázené hypotenzí. Při léčbě nitroglycerinem a aprotininem, při vysoké hladině fibrinogenu a F VIII u nádorů, gravidity a zánětů je sledování APTT obtížné a nepřesné.

Při těchto stavech je nutné se orientovat na hladiny heparinémie a nebo sledováním hladiny antiXa.

Aktivovaný koagulační test (Activated Clotting Time – ACT)

ACT je metoda zavedená v r. 1966 Hattersleyem a podobná svým principem APTT, ale provádí se na rozdíl od APTT přímo s krví. Metoda využívá kontaktních látek, jako jsou silica, celite nebo kaolin, ale bez přidání fosfolipidů. Kontaktní aktivátory jsou umístěny ve speciálních „cartriges“, které jsou uzpůsobeny k měření ACT pomocí zvláště k tomuto účelu uzpůsobených přístrojů. Po přidání vzorku do „cartriges“ se iniciuje kontaktní fáze srážecího procesu a tvorba fibrinu je měřena mechanickými nebo optickými přístroji.

- Silica, celite, kaolin jsou různé formy jemně drcených křemičitanů s velkými kontaktními povrchy.

Sledovaný systém: přeměna fibrinogenu na fibrin

Reakční směs: vyšetřovaná krev + aktivátor

Startovací reagenty: krev

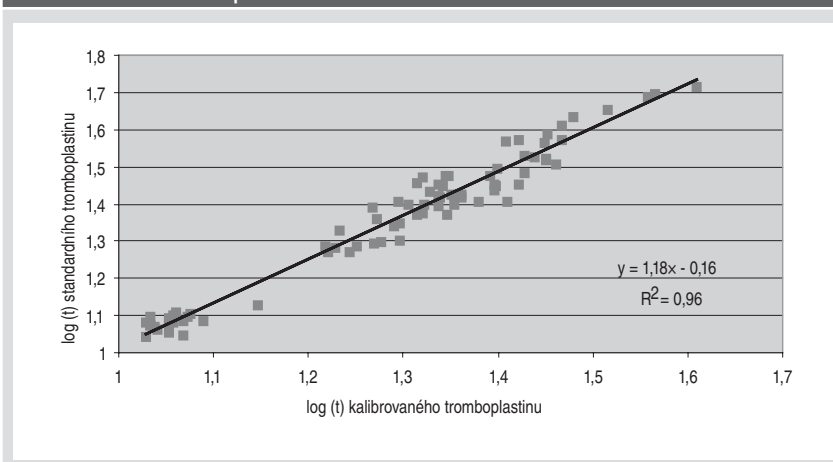
Časy kontrolní plazmy: 120–180 s

Terapeutické hodnoty: 300–600 s

Tabulka 1. Léčba heparinem. Nomogram podávání heparinu i. v. podle hmotnosti nemocného (Hirsh et al. 2001)

Počáteční dávka:	80 j/kg bolus i. v. dále 18 j./kg/hodinu
APTT < 1,2× kontrola	80 j/kg bolus i. v. dále 4 j/kg/hodinu i. v.
APTT 1,2–1,5× kontrola	40 j/kg bolus i. v. dále 2 j/kg/hodinu i. v.
APTT 1,5–2,3× kontrola	dávkování neměnit
APTT 2,3–3× kontrola	snížit i. v. dávku o 2 j/kg/hodinu
APTT > 3× kontrola	zastavit heparin na 1 hodinu a potom snížit i. v. podávání heparinu o 3 j/kg/hod.

Graf 1. Kalibrace trombolastinu



ACT je výrazně ovlivněn hladinou heparinu (prodloužený čas je úměrný koncentraci heparinu). Test dále ovlivňují tyto faktory: nevyváženost aktivovaných koagulačních faktorů a inhibitorů, lýza destiček, zvýšená hemodiluce, hypotermie nemocných a jiné.

Test je závislý hlavně na kontaktní fázi a získané časy mohou mít značný rozptyl. Výhody tohoto testu jsou v jeho jednoduchém provedení a v použití přímo na klinickém pracovišti ke kontrole heparinové dávky. ACT je využitelný jen pro nefrakcionovaný heparin, který je podáván ve vysokých dávkách při mimotělovém oběhu, tak jak je tomu při hrudní chirurgii nebo u dialýzy. APTT nelze v těchto případech použít, protože monitoruje nižší hladiny heparinu. Citlivost k LMWH a hirudinu je velmi nízká, a proto test nelze využít ke sledování hladiny těchto přípravků.

Monitorování léčby LMWH

LMWH jsou hepariny vyrobené řízenou enzymatickou frakcionací. Mají proto přibližně strukturovanou délku polysacharidového řetězce a z toho vyplývá, že mají i lépe definovatelnou molekulovou hmotnost. Nízkomolekulární hepariny vykazují, vzhledem ke své struktuře (nedostatek polysacharidových jednotek pro vznik komplexu [AT. LMWH. trombin]), méně interakci s trombinem a přednostně inaktivují F Xa.

Na základě těchto skutečností je účinnost nízkomolekulárních heparinů předvídatelnější, než účinnost UFH. Navíc LMWH mají nižší afinitu k endotelu, plazmatickým bílkovinám, makrofágům a destičkám.

Na podkladě anti Xa aktivity nízkomolekulárních frakcí heparinu je založen princip jeho stanovení v plazmě. Nízkomolekulární heparin tvoří s antitrombinem dimerní komplex [AT. LMWH], který vyvazuje v nadbytku dodané definované množství čistého F Xa. Zbytkové množství F Xa lze měřit koagulačně nebo metodou chromogenních substrátů. Pokles faktoru Xa je nepřímo úměrný koncentraci LMWH.

S testem neinterferují FDP a zvýšené hladiny F VIII. Tyto složky výrazně ovlivňují APTT a ACT.

Rozmezí hodnot anti Xa nutné při prevenci: 0,3–0,7 anti Xa U/ml

Léčebné rozmezí hodnot anti Xa při dávkování 2× denně 0,5–1,1 anti Xa U/ml, při dávkování 1× denně 1–1,6 U/ml.

Jednoznačně je doporučeno monitorování anti Xa u nemocných s renální insuficiencí, dětí, těhotných, obézních nemocných.

Monitorování léčby hirudinem

Když vyloučíme APTT, který je v případě hirudinu spojen s řadou problémů, zbývá několik testů, kterými lze přesně stanovit hladinu hirudinu v plazmě (např. chromogenní metoda, ELISA aj.). V praxi se však nejčastěji používá ecarinový test.

Stanovení hladiny hirudinu (Ecarinový test, Ecarin Clotting Test – ECT)

Ecarinový test byl publikován Novakem a Buchou v roce 1996 (Novak a Bucha, 1996).

Sledovaný systém: po aktivaci koagulačního systému ecarinem dochází k přeměně protrombinu na trombin a následně fibrinogenu na fibrin.

Reakční směs: vyšetřovaná plazma

Startovací reagentie: ecarin

- Ecarin je metaloproteáza z jedu hada *Echis carinatus*, který aktivuje přeměnu protrombinu na trombin v prostředí nezávislém na fosfolipidech a Ca^{2+} .

Při reakci se nejprve tvoří mezotrombin, který je rychle inaktivován ecarinem na mezotrombin – des – F1, jež spontánně přechází na α trombin. Trombin pak vyvolá přeměnu fibrinogenu na fibrin. Heparin neovlivňuje výsledek testu. ECT může být vyšetřen v plné krvi nebo plazmě.

Monitorování antikoagulační léčby preparáty kumarinového typu

Protrombinový test

(tromboplastinový test)

Test zachycuje vnější cestu aktivace koagulačního děje, při kterém přeměna fibrinogenu na fibrin není ovlivněna faktory XII, XI, IX, VIII a fosfolipidy krevních destiček. Test je startován přidáním kalciového tromboplastinu (směs tromboplastinu a iontů Ca^{2+}).

$$INR = \left(\frac{tP}{tN} \right)^{ISI}$$

INR a ISI

Po doporučení ICSH (Mezinárodní výbor pro standardizaci v hematologii) a WHO byl v r. 1982 zaveden pro vyjádření tromboplastinového testu:

Mezinárodní normalizovaný poměr – INR (International Normalized Ratio)

Výsledek laboratoře je vyjádřen poměrem tromboplastinového času nemocného (tP) a času směsné kontrolní plasy (tN). Podle rozhodnutí WHO jsou laboratorní výsledky vyjadřovány v mezinárodních normalizovaných poměrech – INR. Tento způsob je jednotný v celém světě.

INR vyjadřuje poměr tP/tN získaný s tromboplastinem BCT 67/40 (referenční reagentie WHO od r. 1978, lidský tromboplastin uložený v lyofilizované formě v kapalném dusíku). U ostatních tromboplastinů se zjišťuje:

Index citlivosti – ISI (International Sensitivity Index)

Index citlivosti – ISI udává směrnici používaného tromboplastinu, která byla získána porovnáním referenčního tromboplastinu s tromboplastinem kalibrovaným (graf 1).

Hodnota INR pro daný vzorek a aktuální tromboplastin se vypočte ze vztahu:

ISI – hodnota indexu citlivosti použitého tromboplastinu; tP, tN – časy pacienta a normálu (kontroly)

Fyziologické rozmezí INR: neléčení 0,8 – 1,2; léčení (přihlíží se k diagnóze).

Monitorování trombolytické léčby

Při jednorázovém podání

trombolytika

Indikace: infarkt myokardu

Léčba: jednorázová dávka trombolytika (streptokináza 1,5 milionu jednotek, altepláza 100 mg i. v.)

Monitorování: neprovádí se

Kontinuální podávání trombolytika

Indikace: arteriální a žilní uzávěry, plicní embolie

Léčba: kontinuální dávkování trombolytika (streptokináza 100 000 j za hodinu)

Monitorování: trombinový test

Léčebné rozmezí: 30–90 sekund

Monitorování antiagregační léčby

Sledování inhibice agregační křivky stimulované kolagenem

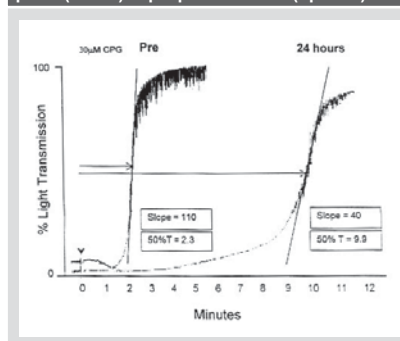
Zjistí se hodnota agregační křivky po stimulaci kolagenem před zahájením léčby a následně se tato hodnota sleduje po celou dobu léčby přibližně v měsíčních intervalech

Léčebné rozmezí: 15–30 % maxima křivky před léčbou.

Sledování inhibice agregační křivky stimulované kationickým propylgalátem

Sleduje se agregační křivka po stimulaci kationickým propylgalátem (CPG). Stanove-

Graf 2. Agregace s propylgalátem – křivka před (vlevo) a po podání ASA (vpravo)



ní probíhá v optickém agregometru za použití destičkami bohaté (PRP) a chudé (PPP) plazmy. Měří se výška maximální amplitudy (ma), rychlost náběhu agregační křivky (ms – slope) a doba potřebná k dosažení 50 % ma (T50) (graf 2). Je-li to možné změní se agregační odpověď před podáním protidestičkové terapie (ASA) a pak se provádí pravidelná měření v průběhu terapie, dokud se nedosáhne optimálního snížení hodnoty slope. Kontroly po dosažení této hodnoty je potom možné provádět v delších časových intervalech.

- Heparin do hodnoty 4,0 IU/ml nemá vliv na výsledek vyšetření.
- Počty destiček pod 100. 10 9/l mohou významně ovlivnit výsledek testu.
- Nelze stanovit vzorky s chylózní, ikterickou a hemolytickou plazmou.

Práce byla podporována grantem IGA MZ ČR NR/8036-3.

Literatura

- Andersson LO, Borrowcliffe TW, Holmer E, et al. Molecular weight dependency of the heparin potentiated inhibition of thrombin and activated factor X. Effect of heparin neutralization in plasma. *Thromb. Res.* 1979; 115: 531–541.
- Awtry HA, Loscalzo J. Aspirin. *Circulation*, 2000; 101: 1206–1218.
- Badimon L, Badimon JJ. Interaction of platelet activation and coagulation. In: Fuster V, Topol EJ, eds. *Atherosclerosis and coronary artery disease*. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia 1996: 639–656.
- Bultas J, Karetová D. Léčba trombotických stavů – kde jsme a kam se ubíráme. *Remedia* 2004; 14, č. 2: 182–200.
- Dalen JE. An apple a day or an aspirin a day. *Arch. Intern. Med.* 1991; 151: 1066–1069.
- Hirmerová J, Filipovský J. Klinický význam aspirinové rezistence. *Vnitř. Lék.*, 2004; 50, č. 6: 462–469.
- Hirsch J, Warkentin TE, Shaughnessy SG, et al. Heparin and low molecular weight heparin. *Chest* 2001; 119: 64S–94S.
- Marder VJ, Sherry S. Thrombolytic therapy: Current status (2). *New Engl. Med.* 1988; 318: 1512–1520.
- Mark DB, et al. Effectiveness of thrombolytic therapy with tissue plasminogen activator as compared with streptokinase for acute myocardial infarction. *New Engl. J. Med.* 1995; 332: 1418–1424.
- McKee SA, Sane DC, Dellargyris EN. Aspirin resistance in cardiovascular diseases: A review of prevalence, mechanisms and clinical significance. *Thromb. Haemost.* 2002; 88: 711–715.
- McLean J. The thromboplastic action of cephalin. *Am. J. Physiol.* 1916; 41: 250–257.
- Novak J, Bucha S. Ecarin test. *Semin. Thrombos. Haemostas.* 1996; 22: 197–202.
- Patrono C, Collier B, Dalen JE, et al. Platelet – Active Drugs. The relationship among dose, effectiveness and side effects. *Chest* 2001; 119: 39–63.
- Pecka M, Gregor J, Urbanková J, Pudil J, Malý J. Use of propyl gallate in monitoring of antiaggregation therapy with ASA in patients with cardiovascular syndrome in. Reports from the 17 th International Congress on Thrombosis 2002, ed. Cocheri S, Gensini G, Palareti G, Prisco D. Monduzzi Ed. s. 15–18.
- Samama MM, Elalamy I. Aspirine et hémostase. *Rev. Méd. Interne* 2000; 21, Suppl. 1: 27–34.
- Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 a 2. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1998; 38: 97–120.
- Vojáček J. Inhibitory destičkových glykoproteinových receptorů typu IIb/IIIa. *Remedia* 2003; 13, č. 2: 84–92.
- Vojáček J, Malý M, Hraboš V, et al. Hladina tkáňového faktoru, inhibitoru tkáňového faktoru a solubilního P-selektinu u nemocných s akutním koronárním syndromem. *Cor. Vasa* 2002; 44: 148–151.
- Widimský J, Malý J. Akutní plicní embolie a žilní trombóza. *Nakl. Triton* 2002: 304 s.