



## Původní sdělení | Original research article

# Funkční vyšetření trombocytů po akutním infarktu myokardu: korelace mezi použitelnými metodami je nedostatečná

(Platelet function testing after acute myocardial infarction:  
The correlation among various assays is insufficient)

Radomír Nykl<sup>a</sup>, Jiří Plášek<sup>b</sup>, Tomáš Fürst<sup>c</sup>, Jana Fürstová<sup>d</sup>, Jaromír Gumulec<sup>e</sup>,  
Karin Lichá<sup>e</sup>, Miroslav Homza<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Kardiovaskulární oddělení, Fakultní nemocnice Ostrava, Ostrava, Česká republika

<sup>b</sup> Kardiovaskulární oddělení, Fakultní nemocnice Ostrava a Lékařská fakulta Ostravské univerzity v Ostravě, Ostrava, Česká republika

<sup>c</sup> Katedra matematické analýzy a aplikací matematiky, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého, Olomouc, Česká republika

<sup>d</sup> 1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy, Praha, Česká republika

<sup>e</sup> Ústav klinické hematologie, Fakultní nemocnice Ostrava, Ostrava, Česká republika

## INFORMACE O ČLÁNKU

## Historie článku:

Došel do redakce: 30. 9. 2015

Přepřacován: 9. 11. 2015

Přijat: 13. 11. 2015

Dostupný online: 24. 12. 2015

## Klíčová slova:

Clopidogrel

Duální protidestičková léčba

Infarkt myokardu

Kyselina acetylsalicylová

Reproducibilita

Zvýšená reziduální reaktivita

trombocytů

## SOUHRN

**Cíl:** Čtyřmi metodami jsme testovali tzv. zvýšenou reziduální reaktivitu trombocytů (high on-treatment platelet reactivity, HPR) u pacientů s akutním koronárním syndromem, kteří užívali kyselinu acetylsalicylovou (ASA) a/nebo clopidogrel, přičemž cílem bylo zhodnotit korelaci mezi metodami a variabilitu měření v rámci jednotlivých metod.

**Metody:** U 53 pacientů proběhlo dvakrát měření (během pěti dní po akutním koronárním syndromu [AKS]) metodou optické agregometrie, PFA 100/200, Multiplate® a VerifyNow®. Byla použita neparametrická korelace a lineární regrese.

**Výsledky:** Všechny metody pro clopidogrel spolu signifikantně korelují, byť jen na mírné úrovni korelace. Naopak korelace metod pro ASA je nízká a není signifikantní. Dále byla prokázána nízká reprodukovatelnost měření, nebyla prokázána souvislost mezi hodnotou troponinu I a HPR (pro ASA i clopidogrel). Také nebyla prokázána souvislost mezi typem AKS a HPR (opět pro ASA i clopidogrel).

**Závěr:** Pro hodnocení HPR je vhodné použít minimálně dvě metody, přičemž je doporučeno použít průměr alespoň dvou měření pro každou z metod.

© 2015 Published by Elsevier Sp. z o.o. on behalf of the Czech Society of Cardiology.

## ABSTRACT

**Aim:** High on-treatment platelet reactivity (HPR) after Acetylsalicylic acid (ASA) and/or Clopidogrel was identified by four different platelet function assays in high risk acute myocardial infarction patients. Correlation among the methods was examined and variability in the measurement of each platelet function assay was evaluated.

**Methods:** Each of the 53 patients was sampled twice for LTA, PFA-100/200, Multiplate®, and VerifyNow® platelet function assays in the range of 3–5 days after a myocardial infarction. Non-parametric correlation and linear regression were used to assess the variability in the data.

**Keywords:**

Acetylsalicylic acid  
Clopidogrel  
Dual antiplatelet therapy  
High on-treatment platelet reactivity  
Myocardial infarction  
Reproducibility

**Results:** All HPR platelet function assays for Clopidogrel are significantly correlated, however, the correlation values are only moderate. The correlation among the four assays for ASA is generally low and insignificant. Low reproducibility of HPR measurements and no significant correlation between Troponin I value and HPR were observed, both for ASA and Clopidogrel. No significant correlation between the type of acute coronary syndrome and HPR was observed, both for ASA and Clopidogrel.

**Conclusion:** At least two methods to identify HPR are recommended. The average of at least two measurements is recommended for any assay.

## Úvod

Duální protidestičková léčba (DAPT) je klíčovou součástí farmakoterapie po perkutánní koronární intervenci (PCI). Cílem DAPT po zavedení stentu do věnčité tepny je snížit výskyt trombotických příhod, kyselina acetylsalicylová (ASA) a clopidogrel jsou látky s prokázaným klinickým přínosem: ASA dokáže zabránit 20–25 % ischemických vaskulárních příhod v primární prevenci [1], v sekundární až 40 % [2]. Clopidogrel snižuje relativní riziko proti ASA o 8,7 % [3].

Není pochybností o tom, že DAPT je klíčovou složkou péče o pacienta po PCI, avšak účinnost této terapie se může u různých pacientů lišit. Variabilita může být způsobena vysokou reziduální reaktivitou trombocytů (high on-treatment platelet reactivity, HPR), jinak řečeno nedostatečnou inhibicí funkce krevních destiček. Ideální definici vytvořil Hankey v roce 2004 [4]. Vysoká reziduální reaktivita trombocytů může být zjištěna pomocí funkčních vyšetření trombocytů. Kolem tohoto fenoménu je řada nezodpovězených otázek: Dokážeme na základě znalosti HPR predikovat výskyt ischemických epizod? Které funkční vyšetření je nejlépe použít? Koreluje spolu výsledky jednotlivých měření? Jsme na základě zjištění HPR schopni cíleně upravit terapii pacientovi „na míru“?

Rezistence vůči clopidogrelu je pravděpodobně multifaktoriální. Je třeba brát v potaz, že clopidogrel je pro-drug, aktivace na účinnou látku je dvoukroková, závislá na polymorfismu jaterního cytochromu P450. Prevalence neoptimální odpovědi je 5–40 % [6]. Variabilita účinku kyseliny acetylsalicylové byla také popsána, nicméně souvislost s výskytem aterotrombotických příhod je doposud ne zcela jasná [7].

Cílem naší práce je zjistit korelaci výsledků mezi jednotlivými metodami pro ASA a clopidogrel, dále opakovatelnost měření jednotlivých metod. Dalším cílem bylo najít souvislost hodnot HPR s hodnotou troponinu I (TnI) či typem infarktu (infarkt myokardu s elevací úseku ST [STEMI]/infarkt myokardu bez elevací úseku ST [non-STEMI]). V místě cévního poškození je obnažena a aktivní celá řada proteinů (von Willebrandův faktor, kolagen), které vedou k aktivaci trombocytů [8]. Lze předpokládat, že čím větší je oblast myokardiálního poškození, tím větší masa krevních destiček je aktivována, což může posléze znesnadnit jejich efektivní inhibici.

Použitými metodami jsou světelná agregometrie (LTA), systém PFA-100/200, VerifyNow® a impedanční agregometrie (Multiplate®). Všechny tyto metody jsou běžně používány v klinické praxi a studiích [5]. Přesnější popis viz níže. Námi prezentovaná práce je subanalýzou studie REACT-MI (uspořádání studie viz [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) NCT 01381185).

## Metody

### Studovaná populace

V naší práci jsme použili výsledky 53 pacientů s akutním koronárním syndromem (STEMI v 59 %), u všech byla provedena PCI, byli přijati na Koronární jednotku intenzivní péče FN Ostrava (celkem bylo mezi roky 2011 a 2014 ošetřeno 478 pacientů se STEMI a 518 s non-STEMI). Nejčastějším důvodem, proč pacient nebyl zařazen mezi vyšetřované pacienty, byl *de novo* AKS (bez předchozí terapie ASA či clopidogrelem) a dále předléčení pacientů novými antitrombotiky.

Je 65 pacientů splnilo vstupní kritéria studie REACT-MI. S cílem minimalizovat ovlivnění výsledků měření funkčních testů byla použita striktní vylučovací kritéria: hodnoty hematokritu ( $< 0,25$  a  $> 0,75$ ), anémie ( $< 80$  g/l), polyglobulie ( $> 160$  g/l), syndrom systémové zánětlivé odpovědi (SIRS), renální insuficience atd. Pět pacientů splňujících kritéria nepodepsalo informovaný souhlas, dva byli ztraceni ze sledování, u jednoho byl porušen studijní protokol. U některých pacientů se vyskytly i problémy se sběrem vzorků, zejména pak někteří pacienti odmítli druhé měření pro větší množství krve při odběru. Přesnější statistiku lze najít v sekci Výsledky. Každý pacient podstoupil selektivní koronarografii (SKG) s PCI v prvních 24 hodinách po přijetí. Je třeba si uvědomit, že AKS se u těchto pacientů vyskytl i přesto, že užívali ASA a/nebo clopidogrel – jednalo se o pacienty v sekundární prevenci, tedy vysoce rizikovou populaci. Pokud neužíval pacient clopidogrel, představovala nasycovací dávka 600 mg *p.o.* V případě HPR potvrzené alespoň dvěma metodami byla dle studijního protokolu dávka ASA (nebo clopidogrelu či obou látek) navýšena na dvojnásobnou (200 mg ASA denně a/nebo 150 mg clopidogrelu denně). Přesný popis studované populace lze najít v tabulce 1.

### Odběr vzorků

Den po provedení PCI (minimálně 12 hodin po posledním podání nízkomolekulárního heparinu či nefrakcionovaného heparinu) a poté mezi třetím a pátým dnem po PCI bylo odebráno celkem pět zkumavek:

- zkumavka s 3,2% Na-citrátem (Quickův test, aktivovaný parciální tromboplastinový čas, fibrinogen, von-Willebrandův faktor, LTA);
- zkumavka s pufrovaným 3,8% citrátem pro PFA analýzu (dle protokolu PFA-100®; Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Marburg, Německo);
- zkumavka pro systém VerifyNow® (Accumetrics, San Diego, CA, USA);
- zkumavka S-Monovette s vysušeným hirudinem (Multiplate®, Dynabyte Informationssysteme GmbH, Mnichov, Německo);

**Tabulka 1 – Charakteristika studované populace (průměr + standardní odchylka, eventuálně procenta)**

|                       |               |
|-----------------------|---------------|
| Věk (roky)            | 66 ± 11,29    |
| Výška (cm)            | 171 ± 7,32    |
| Hmotnost (kg)         | 82,38 ± 13,94 |
| BMI                   | 29,04 ± 4,09  |
| Obvod pasu (cm)       | 90,45 ± 14,17 |
| Mužské pohlaví        | 75 %          |
| STEMI                 | 59 %          |
| Arteriální hypertenze | 92 %          |
| Dyslipidemie          | 67 %          |
| Diabetes mellitus     | 51 %          |
| CABG                  | 15 %          |
| Srdeční selhání       | 51 %          |
| Abúzus kouření        | 35 %          |

BMI – index tělesné hmotnosti; CABG – aortokoronární bypass; STEMI – infarkt myokardu s elevací úseku ST.

- zkumavka s K<sub>3</sub>EDTA (plná krev, distribuční šíře trombocytů, retikulocyty, genetické vyhodnocení).

Dále byl proveden odběr Tnl a kreatinkinázy MB (CK-MB) za 8 a 16 hodin po PCI.

### **Funkční vyšetření trombocytů**

Metoda LTA je považována za zlatý standard. Principem je měření světelné transmitance vzorku plazmy, ta se zvyšuje postupnou agregací trombocytů, která je způsobena přidáním induktoru agregace. Průběh agregace je poté vyjádřen jako procenta přítomnosti destiček ve vzorku (0 % má plazma bohatá na destičky, 100 % plazma bez destiček). Jako zvýšenou reaktivitu destiček hodnotíme, jestliže přesáhne 46 % maximální 5 μmol/l ADP-indukované agregace.

Metoda PFA-100/200 (Platelet Function Analyser) testuje primární hemostázu, výsledkem je stanovení „closure time“, což je doba do uzavření vyšetřovací kapiláry trombem u respondérů užívajících ASA je minimální hodnota 180 s, u clopidogrelu 106 s. Je třeba zdůraznit, že výsledek ovlivňuje hodnota von Willebrandova faktoru.

VerifyNow® je metodou POCT (point of care testing), stanovuje agregaci indukovanou agonistou (epinefrinem, ADP). Porovnáváme při ní poměr množství agregovaných destiček před podáním agonisty a po něm, respondér na ASA u tohoto testu dosahuje hodnoty < 550, u clopidogrelu < 230 (stejně jako ve studii GRAVITAS [9]).

Multiplate®, též mnohočetná impedanční agregometrie (MEA), vyšetřuje agregaci z plné krve, působením elektrického proudu a přidáním agonisty se mění adherence erytrocytů, leukocytů a trombocytů vůči platinovým elektrodám, čímž se mění probíhající elektrický proud, změnu signálu zaznamenáváme jako agregační křivku a my poté hodnotíme parametr AUC (plochu pod křivkou, area under curve). Všechny metody jsou detailně popsány v přehledovém článku o funkčních vyšetřeních trombocytů [10]. Analyzátor Multiplate® nebyl k dispozici od úplného začátku studie, proto je sesbíráno menší množství dat. Vyšetření LTA pro ASA nebylo prováděno pro již známou nízkou reprodukovatelnost [4].

### **Statistické metody**

Pro porovnání výsledků mezi jednotlivými metodami byla použita neparametrická korelace (Spearmanův korelační koeficient). Úroveň < 0,05 je považována za statisticky významnou. Ke zhodnocení reproducibility jednotlivých měření jsou použity bodové diagramy.

## **Výsledky**

V tabulce 2 jsou zaznamenány výsledky měření HPR všemi použitými metodami pro ASA i clopidogrel. K posouzení

**Tabulka 2 – Přehled výsledků všech použitých metod**

| Lék         | Metoda      | Měření      | n  | Průměr | Medián | Min. | Max. |
|-------------|-------------|-------------|----|--------|--------|------|------|
| ASA         | PFA         | První       | 44 | 195,7  | 170,5  | 77   | 300  |
|             |             | Druhé       | 41 | 187,1  | 145    | 72   | 300  |
|             | LTA         | Neprovedeno |    |        |        |      |      |
|             | VerifyNow®  | První       | 48 | 418,8  | 413    | 207  | 634  |
|             |             | Druhé       | 40 | 434,2  | 423,5  | 71   | 614  |
| Clopidogrel | Multiplate® | První       | 28 | 15,9   | 11,5   | 2    | 111  |
|             |             | Druhé       | 18 | 17,5   | 14     | 5    | 63   |
|             | PFA         | První       | 48 | 213,9  | 300    | 44   | 300  |
|             |             | Druhé       | 43 | 203,4  | 170    | 68   | 300  |
|             | LTA         | První       | 40 | 22,1   | 15,5   | 3    | 70   |
|             |             | Druhé       | 15 | 27,6   | 26     | 10   | 47   |
|             | VerifyNow®  | První       | 47 | 174,7  | 162    | 6    | 380  |
|             |             | Druhé       | 39 | 168,9  | 160    | 44   | 305  |
|             | Multiplate® | První       | 28 | 24,5   | 20,5   | 1    | 95   |
|             |             | Druhé       | 18 | 25,1   | 24     | 7    | 48   |

ASA – kyselina acetylsalicylová; LTA – světelná agregometrie.

**Tabulka 3 – Neparametrická korelace mezi metodami při prvním odběru, signifikantní hodnoty zvýrazněny**

| První měření      | LTA (CL)     | PFA (ASA) | PFA (CL)     | VerifyNow® (ASA) | VerifyNow® (CL) | Multiplate® (ASA) | Multiplate® (CL) |
|-------------------|--------------|-----------|--------------|------------------|-----------------|-------------------|------------------|
| LTA (CL)          | 1,00         | -0,06     | <b>-0,69</b> | 0,31             | <b>0,64</b>     | -0,02             | <b>0,53</b>      |
| PFA (ASA)         | -0,06        | 1,00      | 0,27         | -0,19            | 0,01            | -0,20             | -0,31            |
| PFA (CL)          | <b>-0,69</b> | 0,27      | 1,00         | -0,17            | <b>-0,58</b>    | -0,15             | <b>-0,60</b>     |
| VerifyNow® (ASA)  | 0,31         | -0,19     | -0,17        | 1,00             | <b>0,31</b>     | 0,30              | <b>0,46</b>      |
| VerifyNow® (CL)   | <b>0,64</b>  | 0,01      | <b>-0,58</b> | <b>0,31</b>      | 1,00            | 0,35              | <b>0,56</b>      |
| Multiplate® (ASA) | -0,02        | -0,20     | -0,15        | 0,30             | 0,35            | 1,00              | <b>0,58</b>      |
| Multiplate® (CL)  | <b>0,53</b>  | -0,31     | <b>-0,60</b> | <b>0,46</b>      | <b>0,56</b>     | <b>0,58</b>       | 1,00             |

ASA – kyselina acetylsalicylová; CL – clopidogrel; LTA – světelná agregometrie.

shody výsledků byla použita non-parametrická korelace. V prvním kroku byla hodnocena korelace mezi metodami při prvním měření (druhý den po PCI). Výsledky uvádí tabulka 3, statisticky významná data jsou zvýrazněna. Z uvedeného vyplývá, že všechny metody měření HPR pro clopidogrel jsou více konzistentní než pro ASA. Korelace metod pro clopidogrel je signifikantní, avšak míra korelace je jen střední. Na druhé straně korelace mezi hodnotami HPR pro ASA není signifikantní pro žádný pár metod. U metody VerifyNow® je prokázána významná korelace mezi výsledky HPR pro ASA a clopidogrel, totéž platí pro Multiplate®. Nízká reproducibilita výsledků pro ASA naznačuje, že výběr metody má větší vliv na hodnotu HPR než samotný zkoumaný přípravek, což je jistě překvapující zvěř.

V tabulce 4 vidíme stejnou analýzu, avšak pro druhá měření (třetí až pátý den po PCI). Závěry pozorované u prvního měření se opakují. Výsledky hodnot HPR pro clopidogrel jsou dokonce ještě více konzistentní, korelační koeficient je také vyšší. Hodnoty HPR pro ASA opět nejsou konzistentní, tentokrát však s výjimkou metody VerifyNow®, ta navíc koreluje s výsledky Multiplate®, nicméně s nízkou hodnotou korelace (0,53). Korelace VerifyNow® pro ASA a clopidogrel ve druhém měření prokázána nebyla, totéž platí pro Multiplate®. Objevila se určitá překvapivá korelace u metody PFA.

Nejjednodušším způsobem, jak porovnat první a druhá měření, je vložit výsledky do bodového diagramu, jsou-li data naprosto reprodukovatelná, leží v diagonále.

Výsledky naznačují, že metoda PFA se zdá být nejlepší. Korelace mezi prvním a druhým měřením pro ASA je

$r = 0,43$  ( $p = 0,011$ ) a pro clopidogrel  $r = 0,54$  ( $p < 0,001$ ). Výsledky metod VerifyNow® ( $r = 0,3$ ,  $p = 0,075$ ) a LTA ( $r = 0,5$ ,  $p = 0,06$ ) pro clopidogrel jsou na hranici významnosti. U LTA může být důvodem nižší počet vzorků z druhého měření (viz tabulku 2). Korelace mezi prvním a druhým měřením pro ASA metodou VerifyNow® je  $r = 0,39$  ( $p = 0,017$ ). Nízký počet vzorků může být rovněž důvodem pro nesignifikantní korelaci u metody Multiplate® ( $r = 0,32$ ,  $p = 0,19$  pro ASA a  $r = 0,44$ ,  $p = 0,07$  pro clopidogrel). Celkově vzato, hodnoty korelace jsou relativně nízké. Obrázek 1 znázorňuje reproduibilitu hodnot PFA pro clopidogrel, obrázek 2 totéž pro metodu VerifyNow® pro clopidogrel. Dalším cílem bylo najít případnou korelaci mezi hodnotou TnI a hodnotami HPR, nicméně žádná signifikantní korelace prokázána nebyla. Taktéž nebyla prokázána souvislost mezi typem AKS (STEMI nebo non-STEMI) a hodnotami HPR. Metoda Multiplate® pro clopidogrel při prvním měření ukazovala jistý rozdíl, nicméně při druhém měření to již prokázáno nebylo.

## Diskuse

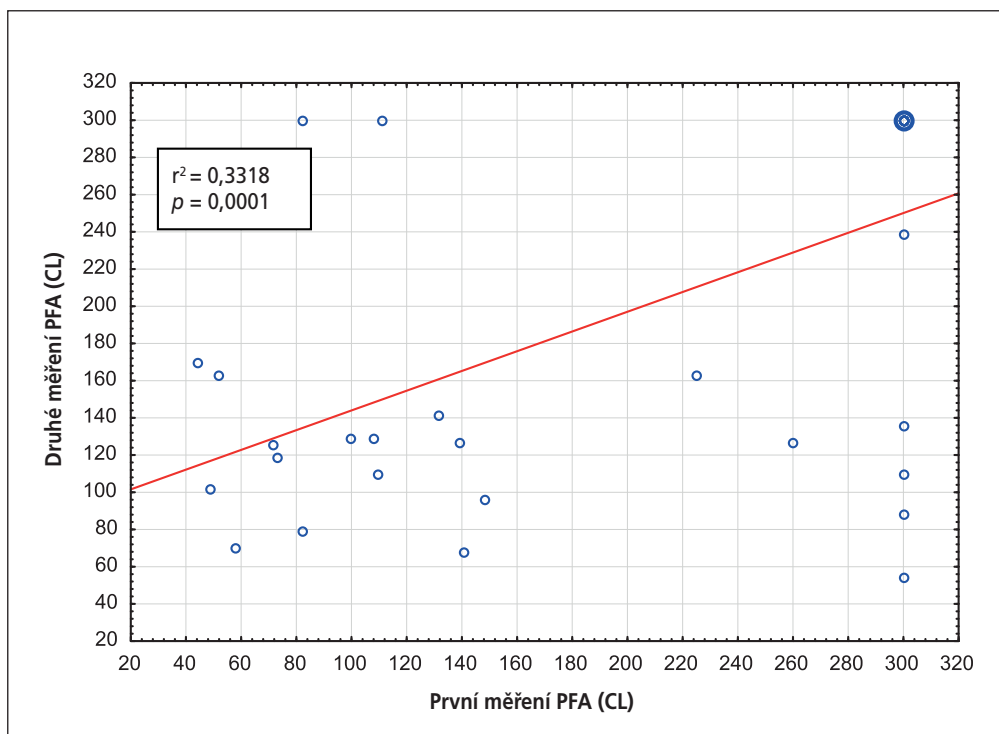
Musíme zdůraznit, že studie začala ještě před vydáním nových doporučených postupů [11], které se týkají protidestickové terapie.

Z výsledků vyplývá, že měření pro ASA i clopidogrel nejsou dobře opakovatelná. Z tohoto pohledu se jako nejrobustnější jeví metoda PFA, korelace prvního a druhého měření zde byla nejvyšší a statisticky významná. Korelace

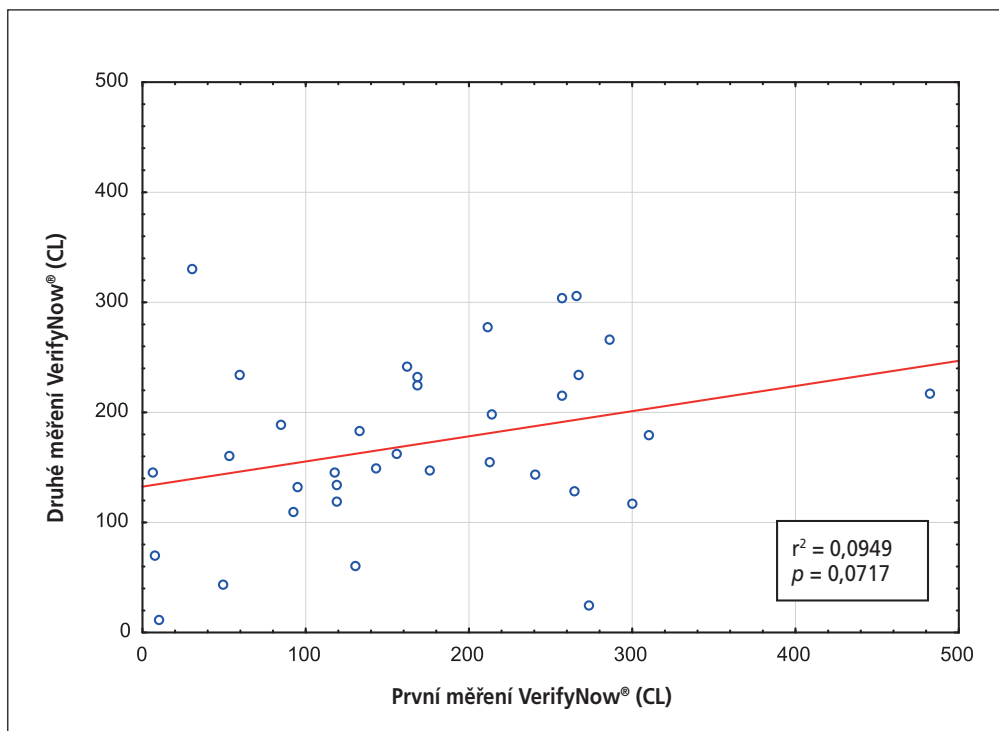
**Tabulka 4 – Neparametrická korelace mezi metodami při druhém odběru, signifikantní hodnoty zvýrazněny**

| Druhé měření      | LTA (CL)     | PFA (ASA)   | PFA (CL)     | VerifyNow® (ASA) | VerifyNow® (CL) | Multiplate® (ASA) | Multiplate® (CL) |
|-------------------|--------------|-------------|--------------|------------------|-----------------|-------------------|------------------|
| LTA (CL)          | 1,00         | -0,08       | <b>-0,55</b> | 0,32             | <b>0,72</b>     | 0,25              | <b>0,73</b>      |
| PFA (ASA)         | -0,08        | 1,00        | <b>0,57</b>  | 0,00             | -0,13           | -0,17             | -0,31            |
| PFA (CL)          | <b>-0,55</b> | <b>0,57</b> | 1,00         | -0,26            | <b>-0,51</b>    | 0,07              | <b>-0,55</b>     |
| VerifyNow® (ASA)  | 0,32         | 0,00        | -0,26        | 1,00             | 0,22            | <b>0,53</b>       | -0,05            |
| VerifyNow® (CL)   | <b>0,72</b>  | -0,13       | <b>-0,51</b> | 0,22             | 1,00            | -0,08             | <b>0,62</b>      |
| Multiplate® (ASA) | 0,25         | -0,17       | 0,07         | <b>0,53</b>      | -0,08           | 1,00              | 0,26             |
| Multiplate® (CL)  | <b>0,73</b>  | -0,31       | <b>-0,55</b> | -0,05            | <b>0,62</b>     | 0,26              | 1,00             |

ASA – kyselina acetylsalicylová; CL – clopidogrel; LTA – světelná agregometrie.



Obr. 1 – Reproducibilita metody PFA pro clopidogrel. Upozorňujeme, že bod [300, 300] (zvýrazněn v pravém horním rohu) je společný pro 16 pacientů. CL – clopidogrel.



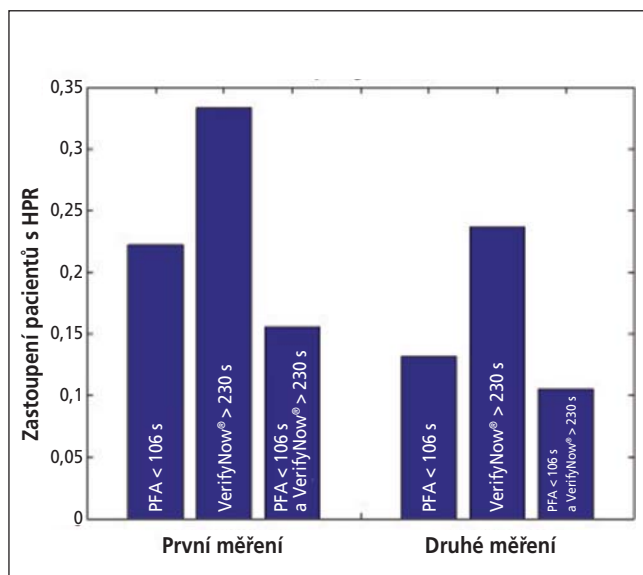
Obr. 2 – Reproducibilita metody VerifyNow® pro clopidogrel. CL – clopidogrel.

hodnot pro metodu LTA je srovnatelná, nicméně statisticky nesignifikantní, to ale může být způsobeno nižším počtem vzorků ze druhého měření. Nemůžeme se vyjádřit k tomu, zda nevyrovnanost měření není způsobena také aktuální změnou stavu organismu – podíl vyšší aktivace

trombocytů během AKS [12], uvolnění proteinů akutní fáze či hemodynamických změn v akutní fázi AKS je spekulativní.

Je v obecném povědomí, že funkční vyšetření trombocytů týkající se ASA jsou špatně reprodukovatelná [12],





Obr. 3 – Průnik skupin pacientů s průkazem HPR pro clopidogrel metodami PFA a VerifyNow®. Je třeba si uvědomit, že použití dvou metod vedlo k redukci množství HPR pozitivitu, zejména v porovnání s izolovanými výsledky metody VerifyNow®. HPR – zvýšená reziduální reaktivita trombocytů.

u clopidogrelu byl předpoklad reproducibility vyšší. Z naší práce vyplývá, že v horizontu několika dnů je nízká, nelze se spolehnout na jednotlivou metodu. Chceme-li tedy někoho označit za pacienta s vysokou reziduální reaktivitou trombocytů, měli bychom to provést na základě měření alespoň dvěma metodami. Na základě našich dat nemůžeme vybrat ideální dvojici, nicméně je zde akceptovatelný průnik souborů HPR pozitivních pacientů u metod PFA a VerifyNow® (tab. 3). Samotná hranice, za kterou je již pacient označen jako HPR pozitivní, je také diskutabilní. Prokázat vztah mezi hodnotou TnI a HPR se nepodařilo ani u jednoho přípravku žádnou metodou. Existuje-li vůbec taková korelace, pak jediná metoda, která jeví potenciál ji objevit, je PFA. Porovnat tyto výsledky s jinými studiemi je prakticky nemožné, vyšetření trombocytů v nich byla použita často před stanovením finální diagnózy [13]. Odběr vzorků proběhl v časně fázi AKS, porovnávání byl s následujícími hodnotami TnI – v tomto případě funkční vyšetření mohou predikovat myokardiální poškození [14]. Typ AKS (STEMI a non-STEMI) nemá dle našich dat vliv na výsledky jednotlivých měření.

Celkově vzato je velmi obtížné porovnat naše závěry s jinými již známými výsledky – většina prací byla zaměřena na jednotlivé metody, event. byly prováděny jen jednorázové odběry (jednalo se o studie zjišťující využitelnost jednotlivých metod k diagnostice pacientů s HPR) [15]. Velmi přehledně popsali výskyt HPR Snoep a spol. v roce 2007, kdy v metaanalýze 25 studií s celkem 3 688 pacienty byla pro clopidogrel popsána HPR u 21 % (95% interval spolehlivosti [CI] 17–25 %) [16]. Jen pro doplnění, v naší práci (nejedná se o hlavní cíl naší práce) se výskyt HPR pohybuje v rozmezí 19–23 % dle metody. Nesmíme zapomenout, že jde o výsledky ex-vivo testů, nemusí tedy korelovat s „klinickou rezistencí“. Mnoho autorů se pochopitelně zaměřilo na průkaz vyššího výskytu ischemických příhod u pacientů s potvrzenou HPR [17–37]. V letech

2008 až 2011 navázaly studie, které se zabývaly změnou léčebné strategie u pacientů s HPR (například vyšší dávka clopidogrelu), nicméně HPR byla opět stanovena jednou metodou či jednorázovým měřením [9,38–46]. Prozatím žádná studie neprokázala vliv této „cílené“ léčebné strategie ve smyslu redukce ischemických kardiiovaskulárních příhod. Logickým vyústěním situace bylo najít přípravek, který by zredukoval slabiny clopidogrelu – tedy pomalý nástup účinku, velkou individuální variabilitu účinku a právě fenomén HPR.

Naše subanalýza pochopitelně nemá sílu naznačit, zda identifikace HPR pozitivních pacientů povede ke snížení výskytu ischemických příhod, nicméně považujeme za vhodné naše výsledky publikovat právě proto, že studie s cíleně upravenou strategií léčby DAPT používají k označení HPR pacientů jednu metodu či jeden sběr vzorků.

## Závěr

Kyselina acetylsalicylová a clopidogrel jsou léčiva používaná v DAPT po implantaci stentů při AKS či elektivních PCI koronárních tepen. Současná doporučení ESC [47,48] jsou, co se týče clopidogrelu, mírně zdrženlivá, preferována jsou nová antiagregancia. Jistě jsou účinnější [49,50], nesou s sebou ale i zvýšená rizika krvácivých komplikací [49–51], zejména u starších a polymorbidních pacientů. V této skupině pacientů je třeba užívání clopidogrelu zvážit, vzhledem k jeho vyšší bezpečnosti týkající se krvácení, optimálně po předchozím vyšetření HPR, z našeho pohledu minimálně dvěma funkčními vyšetřeními. Tabulka 3 ukazuje průnik souborů HPR pozitivních pacientů při užití metod PFA a VerifyNow®. Závěrem je třeba zdůraznit, že americká doporučení [52,53] nadále doporučují clopidogrel při DAPT jako lék volby k ASA.

## Prohlášení autorů o možném střetu zájmů

Autoři prohlašují, že v souvislosti s tímto článkem se nevyskytuje žádný střet zájmů.

## Financování

Institucionální grant č. 2 RVO-FNOs/2015, Ministerstvo zdravotnictví ČR.

## Prohlášení autorů o etických aspektech publikace

Autoři prohlašují, že výzkum proběhl dle etických standardů. Studie byla schválena Etickou komisí FN Ostrava.

## Literatura

- [1] Antithrombotic Trialists' Collaboration, Collaborative metaanalysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients, *British Medical Journal* 324 (2002) 71–86.
- [2] C. Potrano, B. Collier, B.G. Fitzgerald, et al., Platelet-active drugs: the relationships among dose, effectiveness, and side effects: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy, *Chest* 124 (2004) 234–264.
- [3] E.L. de Oliveira, L.B. Deepak, Clinical evaluation of clopidogrel across the whole spectrum of indications: primary and secondary prevention of coronary artery disease, *European Heart Journal* 8 (2006) G10–G14.
- [4] G.J. Hankey, J.W. Eikelboom, Aspirin resistance, *British Medical Journal* 328 (2004) 477–479.

- [5] P.W. Jansen, J.M. ten Berg, Platelet function testing and tailored antiplatelet therapy, *Journal of Cardiovascular Translational Research* 6 (2003) 316–328.
- [6] T.A. Nguyen, J.G. Diodati, C. Pharand, Resistance to clopidogrel: a review of the evidence, *Journal of the American College of Cardiology* 45 (2005) 1157–1164.
- [7] T. Grosser, S. Fries, J.A. Lawson, et al., Drug resistance and pseudo-resistance: an unintended consequence of enteric coating aspirin, *Circulation* 127 (2013) 377–385.
- [8] Z.M. Ruggeri, Platelets in atherothrombosis, *Nature Medicine* 8 (2002) 1227–1234.
- [9] M.J. Price, P.B. Berger, P.S. Teirstein, et al., Standard- vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention. The GRAVITAS randomized trial, *Journal of the American Medical Association* 305 (2011) 1097–1105.
- [10] J. Plasek, M. Homza, J. Gumulec, et al., Resistance to antiplatelet treatment: the Q5 clinical relevance of platelet function assay, *Cor et Vasa* 54 (2012) e305–e313.
- [11] P. Widimsky, P. Kala, R. Rokyta, Summary of the 2012 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevations. Prepared by the Czech Society of Cardiology, *Cor et Vasa* 54 (2012) e273–e289.
- [12] M. Gawaz, F.J. Neumann, I. Ott, et al., Platelet function in acute myocardial infarction treated with direct angioplasty, *Circulation* 93 (1996) 229–237.
- [13] C.P. Harrison, H. Segal, L. Silver, et al., Lack of reproducibility of assessment of aspirin responsiveness by optical aggregometry and two platelet function tests, *Platelets* 19 (2008) 119–124.
- [14] M. Frossard, I. Fuchs, J.M. Leitner, et al., Platelet function predicts myocardial damage in patients with acute myocardial infarction, *Circulation* 110 (2004) 1392–1397.
- [15] L. Bonello, U.S. Tantry, R. Marcucci, et al., Consensus and future directions on the definition of high on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate, *Journal of the American College of Cardiology* 56 (2010) 919–933.
- [16] J.D. Snoop, M.M. Hovens, J.C. Eikenboom, et al., Clopidogrel non responsiveness in patients undergoing percutaneous coronary intervention with stenting: a systematic review and meta-analysis, *American Heart Journal* 154 (2007) 221–231.
- [17] P. Barragan, J.L. Bouvier, P.O. Roquebert, et al., Resistance to thienopyridines: clinical detection of coronary stent thrombosis by monitoring of vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation, *Catheterization and Cardiovascular Interventions* 59 (2003) 295–302.
- [18] S. Matetzky, B. Shenkman, V. Guetta, et al., Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction, *Circulation* 109 (2004) 3171–3175.
- [19] P.A. Gurbel, K.P. Bliden, K. Guyer, et al., Platelet reactivity in patients and recurrent events post-stenting: results of the PREPARE POST-STENTING study, *Journal of the American College of Cardiology* 46 (2005) 1820–1826.
- [20] W. Hochholzer, D. Trenk, H.P. Bestehorn, et al., Impact of the degree of periprocedural platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective coronary stent placement, *Journal of the American College of Cardiology* 48 (2006) 1742–1750.
- [21] T. Cuisset, C. Frere, J. Quilici, et al., High post-treatment platelet reactivity is associated with a high incidence of myonecrosis after stenting for non-ST elevation acute coronary syndromes, *Thrombosis and Haemostasis* 97 (2007) 282–287.
- [22] P. Buonamici, R. Marcucci, A. Migliorini, et al., Impact of platelet reactivity after clopidogrel administration on drug-eluting stent thrombosis, *Journal of the American College of Cardiology* 49 (2007) 2312–2317.
- [23] L. Bonello, F. Paganelli, M. Arpin-Bornet, et al., Vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation analysis prior to percutaneous coronary intervention for exclusion of postprocedural major adverse cardiovascular events, *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 5 (2007) 1630–1636.
- [24] D.J. Angiolillo, E. Bernardo, M. Sabate, et al., Impact of platelet reactivity on cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease, *Journal of the American College of Cardiology* 50 (2007) 1541–1547.
- [25] C. Frere, T. Cuisset, J. Quilici, et al., ADP-induced platelet aggregation and platelet reactivity index VASP are good predictive markers for clinical outcomes in non-ST elevation acute coronary syndrome, *Thrombosis and Haemostasis* 98 (2007) 838–843.
- [26] A.M. Gori, R. Marcucci, A. Migliorini, et al., Incidence and clinical impact of dual nonresponsiveness to aspirin and clopidogrel in patients with drug-eluting stents, *Journal of the American College of Cardiology* 52 (2008) 734–739.
- [27] M.J. Price, S. Endemann, R.R. Gollapudi, et al., Prognostic significance of postclopidogrel platelet reactivity assessed by a point-of-care assay on thrombotic events after drug-eluting stent implantation, *European Heart Journal* 29 (2008) 992–1000.
- [28] T. Cuisset, G. Cayla, C. Frere, et al., Predictive value of posttreatment platelet reactivity for occurrence of postdischarge bleeding after non-ST elevation acute coronary syndrome. Shifting from antiplatelet resistance to bleeding risk assessment?, *EuroIntervention* 5 (2009) 325–329.
- [29] B. Giusti, A.M. Gori, R. Marcucci, et al., Relation of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism to occurrence of drug-eluting coronary stent thrombosis, *American Journal of Cardiology* 103 (2009) 806–811.
- [30] A. Migliorini, R. Valenti, R. Marcucci, et al., High residual platelet reactivity after clopidogrel loading and long-term clinical outcome after drug-eluting stenting for unprotected left main coronary disease, *Circulation* 120 (2009) 2214–2221.
- [31] R. Marcucci, A.M. Gori, R. Panizza, et al., Cardiovascular death and nonfatal myocardial infarction in acute coronary syndrome patients receiving coronary stenting are predicted by residual platelet reactivity to ADP detected by a point-of-care assay: a 12-month follow-up, *Circulation* 119 (2009) 237–242.
- [32] F. Sofi, R. Marcucci, A.M. Gori, et al., Clopidogrel non-responsiveness and risk of cardiovascular morbidity. An updated meta-analysis, *Thrombosis and Haemostasis* 103 (2010) 841–848.
- [33] N.J. Breet, J.W. van Werkum, H.J. Bouman, et al., Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation, *Journal of the American Medical Association* 303 (2010) 754–762.
- [34] S.S. Brar, J. ten Berg, R. Marcucci, et al., Impact of platelet reactivity on clinical outcomes after percutaneous coronary intervention. A collaborative meta-analysis of individual participant data, *Journal of the American College of Cardiology* 58 (2011) 1945–1954.
- [35] G. Parodi, R. Marcucci, R. Valenti, et al., High residual platelet reactivity after clopidogrel loading and long-term cardiovascular events among patients with acute coronary syndromes undergoing PCI, *Journal of the American Medical Association* 306 (2011) 1215–1223.
- [36] D. Sibbing, I. Bernlochner, S. Schulz, et al., Prognostic value of a high on-clopidogrel treatment platelet reactivity in bivalirudin versus abciximab treated non-ST-segment elevation myocardial infarction patients: ISARREACT-4 (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Rapid Early Action for Coronary Treatment-4) platelet substudy, *Journal of the American College of Cardiology* 60 (2012) 369–377.
- [37] G.W. Stone, ADAPT-DES: a large-scale, prospective, multicenter registry examining the relationship of platelet 376, *Journal of Cardiovascular Translational Research* 6 (2013) 371–377.
- [38] L. Bonello, L. Camoin-Jau, S. Arques, et al., Adjusted clopidogrel loading doses according to vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation index decrease rate of major adverse cardiovascular events in patients with clopidogrel resistance: a multicenter randomized prospective study, *Journal of the American College of Cardiology* 51 (2008) 1404–1411.
- [39] L. Bonello, L. Camoin-Jau, S. Armero, et al., Tailored clopidogrel loading dose according to platelet reactivity

- monitoring to prevent acute and subacute stent thrombosis, *American Journal of Cardiology* 103 (2009) 5–10.
- [40] M. Valgimigli, G. Campo, N. de Cesare, et al., Tailoring treatment with tirofiban in patients showing resistance to aspirin and/or resistance to clopidogrel (3T/2R) investigators. Intensifying platelet inhibition with tirofiban in poor responders to aspirin, clopidogrel, or both agents undergoing elective coronary intervention: results from the double-blind, prospective, randomized tailoring treatment with tirofiban in patients showing resistance to aspirin and/or resistance to clopidogrel study, *Circulation* 119 (2009) 3215–3222.
- [41] T. Cuisset, C. Frere, J. Quilici, et al., Glycoprotein IIb/IIIa inhibitors improve outcome after coronary stenting in clopidogrel nonresponders: a prospective, randomized study, *JACC: Cardiovascular Interventions* 1 (2008) 649–653.
- [42] X.D. Wang, D.F. Zhang, S.W. Zhuang, Y. Lai, Modifying clopidogrel maintenance doses according to vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation index improves clinical outcome in patients with clopidogrel resistance, *Clinical Cardiology* 34 (2011) 332–338.
- [43] D. Aradi, O. Rideg, A. Vorobcsuk, et al., Justification of 150 mg clopidogrel in patients with high on-clopidogrel platelet reactivity, *European Journal of Clinical Investigation* 42 (2012) 384–392.
- [44] H. Ari, H. Ozkan, A. Karacinar, et al., The effect of high-dose clopidogrel treatment in patients with clopidogrel resistance (the EFFICIENT trial), *International Journal of Cardiology* 157 (2012) 374–380.
- [45] D. Hazarbasanov, V. Velchev, B. Finkov, et al., Tailoring clopidogrel dose according to multiple electrode aggregometry decreases the rate of ischemic complications after percutaneous coronary intervention, *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 34 (2012) 85–90.
- [46] D. Trenk, G.W. Stone, M. Gawaz, et al., A randomized trial of prasugrel versus clopidogrel in patients with high platelet reactivity on clopidogrel after elective percutaneous coronary intervention with implantation of drug-eluting stents: results of the TRIGGER-PCI (Testing Platelet Reactivity In Patients Undergoing Elective Stent Placement on Clopidogrel to Guide Alternative Therapy With Prasugrel) study, *Journal of the American College of Cardiology* 59 (2012) 2159–2164.
- [47] P.G. Steg, S.K. James, D. Atar, et al., ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation, *European Heart Journal* 33 (2012) 2569–2619.
- [48] C.W. Hamm, J.-P. Bassand, S. Agewall, et al., ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC), *European Heart Journal* 32 (2011) 2999–3054.
- [49] T. Jernberg, Prasugrel achieves greater inhibition of platelet aggregation and a lower rate of non-responders compared with clopidogrel in aspirin-treated patients with stable coronary artery disease, *European Heart Journal* 27 (2005) 1166–1173.
- [50] L. Wallentin, R.C. Becker, A. Budaj, Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes, *New England Journal of Medicine* 361 (2009) 1045–1057.
- [51] S.D. Wiviott, E. Braunwald, C.H. McCabe, et al., Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes, *New England Journal of Medicine* 357 (2007) 2001–2015.
- [52] E.A. Amsterdam, N.K. Wenger, R.G. Brindis, et al., AHA/ACC Guidelines for the management of patient with non-ST elevation acute coronary syndromes, *Journal of the American College of Cardiology* 64 (2014) e139–e228.
- [53] P.T. O’Gara, F.G. Kushner, D.D. Ascheim, et al., ACCF/AHA Guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction, *Journal of the American College of Cardiology* 61 (2013) e78–e140.

*Z anglického originálu online verze článku přeložil autor.*