

REZISTENCE NA ASPIRIN – LABORATORNÍ ODCHYLKA, NEBO KLINICKÝ PROBLÉM?

MUDr. Debora Karetová, CSc., doc. MUDr. Jan Bultas, CSc.

II. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha

Kyselina acetylsalicylová je účinným protideštičkovým lékem, u kterého byl jasně prokázán příznivý vliv na aterotrombotické komplikace u kardiovaskulárních onemocnění. Nicméně se zdá, že jeho účinek není u všech nemocných vyjádřen stejně a možnost „aspirinové rezistence“ by mohla tuto skutečnost, alespoň částečně, vysvětlit. Problémem současnosti je, že pojem rezistence není zcela přesně definován a její prevalence se v různých studiích významně liší (od 5 % do 45 %). V článku jsou diskutovány biologické mechanismy, laboratorní metody detekce a klinická významnost aspirinové rezistence.

Klíčová slova: rezistence k aspirinu, kardiovaskulární choroby, protideštičková léčba.

Úvod

Kyselina acetylsalicylová je jednou z nejběžněji užívaných substancí s prokázaným pozitivním účinkem jak v primární, tak v sekundární prevenci vzniku a rozvoje kardiovaskulárních onemocnění. V posledních letech se začalo hovořit o možném fenoménu „rezistence k acetylsalicylové kyselině“. Jde dosud o nepřesně definovaný stav, kdy nutno minimálně hovořit o tzv. klinicky vyjádřené rezistenci a rezistenci laboratorní.

Termínem **klinické rezistence** chápeme situaci, kdy medikace acetylsalicylovou kyselinou (ASA) nezabránila další trombotické příhodě. Lepším termínem pro tento jev je „selhání léčby acetylsalicylovou kyselinou“. V tomto případě však nemusí jít vždy o „nedostatečnou odpověď“, ale k trombotické příhodě může dojít při rozsáhlém aterosklerotickém postižení i při adekvátní inhibici destičkové funkce. Jde tedy o komplexní problém, kde není „viníkem“ acetylsalicylová kyselina, ale jde o progresivní průběh nemoci.

O něco lépe definovaným stavem je **laboratorní průkaz rezistence vůči medikaci ASA**. Problémem tohoto stanovení je možnost užití více metod průkazu efektu ASA, jejich rozdílná senzitivita i specifita. Doklad o selhání farmakologického efektu ASA se opírá o průkaz přetrvávající tvorby tromboxanu A_2 (stanovením jeho metabolitu v séru nebo v moči), další testy se opírají o nedostatečnou inhibici destičkové agregability in vitro i při medikaci ASA. Podnět k aktivaci a agregaci destiček však může být více, uplatňují se i jiné než tromboxanové cesty. Proto v některých studiích je non-responderství vůči ASA definováno jako neschopnost potlačit tvorbu TXA_2 , v jiných pak neovlivnění testů agregability. Ale i laboratorní testování, byť se zdá specifitější, je problematické. Studie užívají různé metody, které nelze vzájemně porovnávat, navíc pozitivita identických metod nemusí být stejně definována. Laboratorní testování potlačení funkce destiček analyzuje výsledný efekt a je pravděpodobně přesnější proti stanovení jednotlivých metabolitů.

Zdá se tedy, že při současné nejednoznačnosti metod a kritérií jejich pozitivitu je lépe užívat termín „**selhání léčby kyselinou acetylsalicylovou**“. Uvědomíme-li si však, jak multifaktoriální je aterotrombotický děj, pak nelze předpokládat, že prevence jediným lékem by mohla zcela zvrátit jeho průběh.

Mechanismus působení ASA – role izoenzymů cyklooxygenázy

Acetylsalicylová kyselina ireverzibilně inhibuje acylaci cyklooxygenázy-1 (COX-1). Ireverzibilní blokáda syntézy vyplývá z toho, že trombocyt jako bezjaderná buňka nemá genetickou výbavu k novotvorbě enzymů potřebných k syntéze prostanoidů. Cyklooxygenáza katalyzuje transformaci kyseliny arachidonové uvolněné z fosfolipidové vrstvy buněčné membrány v endoteliích cévní stěny na intermediární produkt – prostaglandin H_2 . Následně se tento meziprodukt přetváří působením tromboxansyntázy na tromboxan A_2 (TXA_2), který je mocným induktorem shlukování trombocytů a současně významným vazokonstriktoem (9, 11). Inhibicí cyklooxygenázy-1 je potlačena tvorba prostaglandinů a zejména tromboxanu A_2 . Po jediné dávce 160 mg ASA se aktivita COX-1 restituuje až s novotvorbou trombocytů. Doba života trombocytu je přitom přibližně 10 dní. Běžně užívané chronicky podávané dávky ASA účinné k potlačení tvorby TXA_2 se pohybují mezi 75 a 325 mg, přičemž je prokázáno, že nízké i vysoké dávky při chronické medikaci potlačují téměř stoprocentně tvorbu TXA_2 (8). Podávání nízkých i vysokých dávek ASA inhibuje též tvorbu prostacyklinu, důležitého vazodilatačního a antitrombotického působku, nicméně endotelie jsou schopny rychlé syntézy COX-1 de novo a obnoví tím tvorbu prostanoidů. Aspirin ve vysokých dávkách působí protizánětlivě díky inhibici další izoformy cyklooxygenázy, a sice typu 2 (COX-2). Tento izoenzym se stává aktivním zejména po zánětlivé aktivaci endotelu, za fyziologické situace je přítomen pouze v malé

frakci destiček. Expres tohoto izoenzymu narůstá také ve chvíli nutné rychlé trombocytární regenerace. V inhibici COX-2 je ASA až 170x méně účinná než v inhibici COX-1 (13). Nutno také zdůraznit, že vysoké dávky ASA mohou mít antitrombotický účinek nezávisle na inhibici COX-1, posílením fibrinolytické aktivity, potlačením tvorby protrombinu, zlepšením endoteliální funkce a obecně protizánětlivým působením.

Postavení léčby acetylsalicylovou kyselinou

Metaanalýza skupiny ATC (Antiplatelet Trialists' Collaboration) ukázala 25% snížení vzniku úmrtí z vaskulárních příčin, myokardiálního infarktu a cévní mozkové příhody vlivem protideštičkové léčby (přičemž ve většině zpracovaných studií byla užitá acetylsalicylová kyselina), proti placebo (2). Čerstvější analýzy ukazují, že protideštičková léčba (ASA) by měla být užívána i v primární prevenci u nemocných s vyšším rizikem cévní příhody, zejména u diabetiků, nemocných s periferní aterosklerózou, pokročilým onemocněním ledvin nebo myeloproliferativními stavy. Přes jasně pozitivní vliv acetylsalicylové kyseliny v mnoha studiích čelíme problému gastrointestinální intolerance u části nemocných a zvýšenému riziku krvácení z trávicího traktu. V této indikaci dosud velmi běžně užívaný indobufen nemá bohužel žádná data o příznivém vlivu jeho podání na průběh kardiovaskulárních chorob.

Problémy laboratorního průkazu „aspirinové rezistence“

Stanovení **funkce destiček (in vivo nebo in vitro)** se opírá in vivo o měření času krvácivosti, in vitro pak o testování funkce trombocytů optickou agregometrií nebo technikou globálního posouzení primární hemostázy, přístrojem Platelet Function Analyzer (PFA-100) nebo vzácněji Ultegra Rapid Platelet Function Assay-ASA. Všechny tyto techniky jsou citlivé jen do určité míry.

Doba krvácivosti je nepřesnou a špatně reprodukovatelnou metodou a k posuzování inhibice destiček léky se nehodí. Je totiž závislá na řadě dalších proměnných – počtu trombocytů, hladině koagulačních faktorů i vlastností cévní stěny. Není schopna postihnout jemné odchylky primární hemostázy např. při Willebrandově chorobě, nebo léčbou navozenou dysfunkci trombocytů.

Tradičně byla funkce destiček testována pomocí **optické agregometrie**. Tato metoda je náročná na čas, závisí na koncentraci trombocytů, typu použitého agonisty (adenozindifosfát – ADP, kolagen, kyselina arachidonová) a jeho koncentraci. Výsledky jsou mezi laboratořemi obtížně srovnatelné pro chybějící standardizaci metody. Perspektivnější alternativou se jeví měření agregability trombocytů po indukci kationickým propylgalátem, dostupné na řadě pracovišť.

Pro omezení fotometrických metod byly vyvíjeny metody jednodušší a rychlejší. Nejperspektivnější metodou stanovení hemostatické funkce se v poslední době jeví **test PFA-100 (Platelet Function Analyser-100)**, při kterém jde o rychlé stanovení vyhodnocením plné krve. Systém obsahuje malý otvor krytý kolagenem a adrenalinem nebo kolagenem a adenosindifosfátem (ADP). Krev ze zásobníku je nasáta otvorem, čímž je simulován tzv. shear stres neboli tření prouděním krve. Agregací trombocytů se vytvoří zátky, která uzavře otvor. Měření je čas do uzavření (closure time), který je dobře reprodukovatelný a lépe koreluje s optickou agregometrií jako zlatým standardem. Zdá se, že test je významně ovlivněn hladinou von Willebrandova faktoru. Nicméně tento test se zdá být nejperspektivnějším při rychlé orientaci o odpovědi organismu na protideštičkovou medikaci (7). Jeho odpůrci argumentují měřením, že specifitější prokázané potlačení tvorby TXB_2 může vést jak ke krátkému času zavření (neboli „aspirin rezistenci“), tak je přítomno u nemocných s prodlouženou dobou zavření (neboli „aspirin senzitivitou“).

Další možností průkazu vlivu ASA na trombocyt je **měření velikosti potlačení tvorby TXA_2** jako základní farmakologické vlastnosti acetylsalicylové kyseliny. Toto je prováděno měřením hladiny metabolitu TXA_2 v séru nebo moči (metabolitu TXB_2). Na jedné straně existují názory, že laboratorně stanovená rezistence k ASA by měla být definována pouze jako selhání ovlivnění tvorby tromboxanu, na straně druhé odpůrci říkají, že aspirinová rezistence nemůže být definována na základě hladiny tromboxanu nebo jeho močových metabolitů (1). Argumentují tím, že měření metabolitů nekorelují s inhibicí destičkové agregability a že kromě trombocytů existují i další zdroje tromboxanu A_2 , jako jsou např. makrofágy.

V poslední době se navíc objevila logická teorie, že o senzitivě či rezistenci vůči léku můžeme mluvit pouze po porovnání testů před

zahájením léčby a následně. Jinak je funkce trombocytu natolik složitým dějem, a navíc testy bývají spoluovlivněny dalšími faktory účastnicími se primární hemostázy, že nelze stoprocentně udělat závěr o vlivu zkoumaného léku.

Mechanismy vzniku rezistence na acetylsalicylovou kyselinu

Důvodů pro nedostatečnou inhibici destičkové funkce kyselinou acetylsalicylovou je řada. V první řadě je možnou příčinou snížená dostupnost ASA, zvýšená tvorba trombocytů, genetické faktory – polymorfizmy, interakce trombocytů s jinými buňkami a jejich produkty a řada dalších faktorů.

Nejběžnější a současně nejbanálnější se zdá neovlivnění agregability destiček a neovlivnění tvorba specifických metabolitů při neuznání předepsaného léku. Existuje jistá část nemocných, kteří buď mají při léčbě ASA nepříjemné zažívání obtíže nebo občasné krvácejí z nosu apod. Tito nemocní často léčbu přerušují, aniž by to oznámili svému lékaři, protože se domnívají, že jde „jenom o aspirin“ a význam léčby nechápu nebo jim ani nebyl vysvětlen.

Klinické studie hodnotící vztah rezistence na ASA a průběhu choroby

Některé práce dokázaly provázanost laboratorně stanovené agregability trombocytů, případně potlačení tvorby TXB_2 (jako dokladu snížení tvorby TXA_2 vlivem ASA) s následným klinickým sledováním téže populace nemocných. U těchto nemocných byly vyhodnoceny vaskulární příhody ve vztahu k testům agregability nebo výši hladiny specifických metabolitů tromboxanu.

Takto koncipovaná byla práce Patricie Gum a spolupracovníků, kteří našli signifikantní korelaci mezi rezistencí na aspirin a množstvím úmrtí, infarktů myokardu a mozkovými příhodami u nemocných se stabilní ischemickou chorobou srdce (ICHS). Jednalo se o 326 nemocných, z nichž při užití optické agregometrie 17 (5,2%) vykazovalo rezistenci k 325 mg ASA denně, nedostatečná inhibice agregace byla pozorována u 24% nemocných. Metodou PFA-100 bylo v daném souboru 9,5% nemocných vyhodnoceno jako aspirin rezistentních. Je však zajímavé, že ze 17 nemocných vyhodnocených optickou agregometrií jako rezistentní byli pouze 4 také rezistentní při určení metodou PFA-100.

Pro prospektivní sledování tohoto souboru byli nemocní rozděleni na základě výsledků optické agregometrie na 2 skupiny, a sice na aspirin rezistentní (5,2%) a aspirin senzitivní (94,8%). Nemocní byli sledováni 2–3 roky, přičemž aspirinová rezistence byla spojena se zvýšeným rizikem vývoje úmrtí, infarktu myokardu nebo mozkové příhody (24% vs 10%). V dané populaci tedy aspirinová rezistence byla spojena s více

Tabulka 1. Možné příčiny vzniku rezistence na ASA

Snížená dostupnost aspirinu

- neuzívání předepsaného léku
- omezení resorbce ASA
- nedostatečná dávka ASA
- současně užívání nesteroidních léků, bránících vazbě ASA na vazné místo COX-1

Převaha ostatních cest stimulace trombocytů

- aktivace cestami neblokovánými ASA (stimulace erytrocyty, kolagenem, adrenalinem, trombinem apod.)
- zvýšená citlivost destiček ke kolagenu nebo ADP
- syntéza tromboxanu metabolismem neblokováným ASA (např. COX-2 v monocitech, makrofázích a endoteliích)

Zvýšená novotvorba trombocytů

- typicky u nemocných po koronárním bypassu v reakci na krevní ztráty (do oběhu se tím dostávají ve zvýšené míře „neaspirinované“ destičky vzhledem k 24hod. dávkovacímu schématu a krátkému poločasu ASA)

Genetické faktory

- polymorfizmy destičkových glykoproteinových receptorů: Ia/Ia, Ib/V/IX, IIb/IIIa
- polymorfizmy receptorů pro kolagen, pro von Willebrandův faktor
- polymorfizmy enzymů arachidonového metabolismu: COX-1, COX-1, TXA2 synt.

Jiné faktory

- hypercholesterolemie (zvýšená destičková agregabilita)
- kouření
- zvýšená tvorba adrenalinu vlivem stresu nebo fyzické námahy
- tvorba izoprostanů (8-izo-PGF2alfa) vlivem neenzymatické peroxidace

než trojnásobným rizikem vzniku vážné kardiovaskulární události. Výsledky studie ale mohou být ovlivněny chybou malých čísel (4 nemocní ze 17 rezistentních prodělali příhodu), a tím, že agregometrie byla provedena pouze v začátku a odpověď na ASA se v průběhu času mohla změnit. (4, 5).

Práce Eikelbooma a kolektivu vyhodnotila 488 nemocných, kteří prodělali infarkt myokardu nebo iktus nebo zemřeli na jakoukoliv kardiovaskulární příhodu, a porovnali je s 488 nemocnými, kteří měli negativní anamnézu kardiovaskulární události, přičemž všichni tito nemocní užívali kyselinu acetylsalicylovou. Nemocné rozdělili do kvartilů podle výše vylučování metabolitu tromboxanu A_2 (tromboxanu B_2). Nemocní v nejvyšším kvartilu měli 3,5násobné riziko kardiovaskulárního úmrtí proti nemocným v nejnižším kvartilu hladiny tromboxanu. Tato studie ukázala jednak variabilitu hladiny metabolitu TXA_2 v moči a současně vazbu mezi výší hladiny (tedy množstvím vytvořeného tromboxanu) a vaskulárními příhodami. Variabilitu exkrece ale lze vysvětlit i výchozím stavem – rozsahem aterosklerotického postižení, protože nemocní s větším postižením mají vyšší aktivaci trombocytů (3).

V menší studii sledoval Sane u nemocných s chronickým srdečním selháním agregabilitu trombocytů různými metodami při užívání ASA v dávce 325 mg/den po dobu více než 1 měsíce. Došel k překvapivě vysokému počtu nemocných (50 z 88), u kterých přes uvedenou medikaci byly známky perzistující destičkové aktivace (10). Obdobně vysokou incidenci aspirinové rezistence prokázal Zimmermann u nemocných bezprostředně po implantaci koronárního bypassu (13).

Alternativní léčebné postupy při předpokládané rezistenci k ASA

V praxi se dostáváme s vířením pojmu aspirinové rezistence do situace, kdy ve chvíli recidivy kardiovaskulární příhody nebo zásadního zhoršení stavu, i při medikaci acetylsalicylovou kyselinou, se zamýšlíme – jak dál? Logickým vyústěním je nechat nemocné laboratorně otestovat nebo přímo modifikovat léčbu. Jak již bylo řečeno, je zásadní se ujistit, že nemocný skutečně ASA dlouhodobě užíval a nevynechával. Pokud skutečně byl exponován ASA, pak máme možnost zvýšení dávky ASA (ale neexistují jednoznačná data, že tímto krokem se stane protideštičková léčba účinnější), převedení na jiný protideštičkový lék nebo kombinování ASA s novým. Již dnes jsou na základě studií vymezeny situace, kdy nemocní profitují z duální protideštičkové medikace. Nejčastěji užívanou je kombinace kyseliny acetylsalicylové s klopido-grelem, která je indikována zejména u nemocných s implantovaným stentem do koronární nebo periferní tepny. Situace se ale zdá být ještě komplikovanější po prvních údajích, které ukazují, že obdobná „rezistence“ by mohla existovat i u klopido-grelu. Ve studii Mullera bylo vyšetřeno 105 nemocných s ICHS, kteří podstoupili elektivně koronární angioplastiku a kromě chronické medikace 100 mg ASA byli nasyceni dávkou 600 mg klopido-grelu. Jako pozitivní odpověď na medikaci (4 hodiny a 24 hodin po podání léku) byl považován výsledek inhibice o více než 30 % proti stavu před aplikací. Ve dvou případech došlo k subakutní trombóze ve stentu, přičemž se jednalo dle optické agregometrie o non-responder (2).

Jak tedy léčebně postupovat u nemocných léčených kyselinou acetylsalicylovou s recidivou trombotické příhody? V současnosti máme k dispozici recentní souhrn „Expert Consensus Document on the Use of Antiplatelet Agents“, podle kterého bychom se měli řídit. Léčebné postupy vyplývající z doporučení lze shrnout takto:

1. Dlouhodobá protideštičková léčba u rizikových nemocných snižuje riziko cévní příhody asi o 25 %. Podávání ASA nebo thienopyridinů (tiklopidinu či klopido-grelu) brání vaskulárním příhodám u širokého spektra nemocných, jako je aterosklerotické postižení koronárních i periferních tepen (včetně mozkových). Efekt je dokumentován též u rizikových osob v primární prevenci (zejména u diabetiků s hypertenzí).
2. Účinnost protideštičkové léčby byla nepochybně prokázána u ASA, tiklopidinu i klopido-grelu, u akutních stavů též u antagonistů receptorů GP IIb/IIIa.
3. Malé dávky ASA (75–150 mg) jsou stejně účinné při dlouhodobém podávání jako dávky vysoké, pouze v akutních stavech je žádoucí podání dávek středních, tj. 160–300 mg.
4. Klopido-grel je účinnou alternativou u nemocných, kde nelze podat ASA, pro účinnost indobufenu nemáme z klinických studií dostatek dat.
5. Při recidivě trombotické události, zejména u mladších jedinců, je vhodná kombinace dvou protideštičkových léků s rozdílným mechanismem účinku, optimálně ASA s klopido-grelem.

Závěr

Aspirinová rezistence je nejednotně definovaný problém. Může se jednat o laboratorní doklad nedostatečné inhibice tvorby proagregačních metabolitů arachidonové kyseliny prokázá-

né laboratorními testy nebo o průkaz zachované agregability trombocytů po podání ASA při měření in vitro, nebo může být rezistence dokumentována klinicky, tj. recidivou klinické příhody při medikaci kyselinou acetylsalicylovou.

Není zcela jasný klinický dopad laboratorně zjištěné nedostatečně potlačené aktivity destiček, ani rozdíly mezi laboratorními metodami s různou specifitou a senzitivitou. Proto také není možno doporučit monitoraci funkce trombocytů u větší škály nemocných a pouze v individuálních případech, tj. zejména při selhání léčby u mladších, rizikových nemocných je na místě vyšetření agregace trombocytů.

Aterotrombóza je natolik složitým dějem, že nemůžeme ani předpokládat, že medikace acetylsalicylovou kyselinou je schopna zcela blokovat přirozený, progresivní průběh nemoci. U nemocných s rekurencí tromboembolické příhody, dosud léčených acetylsalicylovou kyselinou, je lépe doplnit léčbu o další protideštičkový lék s rozdílným mechanismem účinku. V současné době je jedinou takovouto kombinací určenou pro chronické podávání kombinace ASA s klopido-grelem.

Vzhledem k progresivnímu charakteru vlastního aterotrombotického děje nesmíme nikdy zapomínat na důslednou léčbu všech rizikových faktorů aterogeneze. Abstinence kouření, důsledná léčba hypertenze, dyslipidemie, metabolického syndromu či diabetu musí být samozřejmostí.

Literatura

1. Altman R, Luciani HL, Muntaner J, et al. The Antithrombotic Profile of Aspirin. Aspirin resistance, or simply failure? *Thrombosis Journal* 2004; 2: 1.
2. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in high-risk patients. *BMJ* 2002; 324: 71–86.
3. Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, et al. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation* 2002; 105: 1650–1655.
4. Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, et al. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. *Am. J. Cardiol.* 2001; 88: 230–234.
5. Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, et al. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *JACC* 2003; 41: 961–965.
6. Hirmerová J, Filipovský J. Klinický význam aspirinové rezistence. *Vnitřní lékařství* 2004; 50: 462–469.
7. Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haas NF, et al. Assessment of platelet function assays. *Am. Heart J.* 1998; 135: S170–S178.
8. Reilly IAG, Fitzgerald GA. Inhibition of thromboxane formation in vivo and ex vivo. *Blood* 1987; 69: 1366–1372.
9. Roth GJ, Majerus PW. The mechanism of the effect of aspirin on human platelets. *J. Clin. Invest.* 1975; 56: 624–632.
10. Sane DC, McKee SA, Malinin AI, Serebruany VL. Frequency of aspirin resistance in patients with congestive heart failure treated with antecedent aspirin. *Am. J. Cardiol.* 2002; 90: 893–895.
11. Vane JR. Inhibition of prostaglandin synthetase as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat. New Biol.* 1971; 231: 232–235.
12. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 1998; 38: 97–120.
13. Zimmermann N, Wenk A, Kim U, et al. Functional and Biochemical Evaluation of Platelet Aspirin Resistance After Coronary Artery Bypass Surgery. *Circulation* 2003; 108: 542–547.