

# ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra biologických a lékařských věd

**Autor:** Bc. Kristýna Vacíková

**Vedoucí práce:** RNDr. Filip Vrbacký, Ph.D.

**Konzultant:** MUDr. Petr Kessler

**Název diplomové práce:** Porovnání výsledků agregace trombocytů u pacientů s heterozygotní mutací faktoru V Leiden nebo protrombinu G20210A s trombózou a bez ní  
Heterozygotní mutace koagulačního faktoru V Leiden a heterozygotní mutace protrombinu G20210A jsou trombofilní stavy, které zvyšují riziko žilního tromboembolismu. Zdaleka ne všichni nosiči těchto mutací však trombózu prodělají. O významu zvýšené agregability trombocytů jako rizikového faktoru žilního tromboembolismu se diskutuje.

## **Cíle studie:**

**Primární cíle:** 1. Zjistit, zda u osob s prokázanou heterozygotní mutací faktoru V Leiden nebo protrombinu G20210A, které prodělaly trombózu, je agregabilita trombocytů s nízkými koncentracemi ADP a epinefrinu zvýšená proti agregaci u osob s heterozygotní mutací faktoru V Leiden nebo protrombinu G20210A, které trombózu neprodělaly. 2. Zjistit, zda zvýšená agregabilita, definovaná: a) jako maximální amplituda  $\geq 60\%$  b) jako maximální amplituda odpovídající nejvyššímu kvartilu hodnot zjištěných v souboru zdravých dobrovolníků se vyskytuje častěji u osob s heterozygotní mutací faktoru V Leiden nebo protrombinu G20210A, které prodělaly trombózu než u osob s těmito mutacemi, které trombózu neprodělaly.

**Sekundární cíle:** 1. Zjistit korelaci výsledků vyšetření vzorků získaných odběrem do uzavřeného vakuového systému s výsledky vyšetření vzorků získaných odběrem volně vytékající krve do otevřeného systému. 2. Zjistit, zda existují rozdíly mezi výsledky získanými vyšetřením vzorků získaných odběrem do uzavřeného vakuového systému s výsledky vyšetření vzorků získaných odběrem volně vytékající krve do otevřeného systému.

**Soubor:** 55 pacientů, kteří prodělali trombózu a 99 pacientů, kteří trombózu neprodělali. Mezi osobami, které prodělaly trombózu, bylo 46 nosičů heterozygotní mutace faktoru V Leiden a 9 nosičů heterozygotní mutace protrombinu G20210A, mezi osobami, které neprodělaly trombózu bylo 83 nosičů heterozygotní mutace faktoru V Leiden a 16 nosičů heterozygotní mutace protrombinu G20210A.

**Metodika:** Z osob evidovaných v registru trombofilních stavů byly vybrány osoby s prokázanou heterozygotní mutací faktoru V Leiden nebo protrombinu G20210A, které neprodělaly trombózu (skupina A). Z osob s těmito mutacemi, které trombózu neprodělaly, byly vybrány osoby kontrolního souboru (skupina B), tak aby mezi oběma soubory nebyly statisticky významné rozdíly v základních demografických datech (věk a pohlaví). Tyto osoby byly vyzvány k účasti do studie a poučeny o přípravě k vyšetření agregace trombocytů. Po podepsání informovaného souhlasu a kontrole zaměřené na dodržení pokynů a vynechání léků ovlivňující funkci trombocytů byly provedeny plánované odběry krve: 1 zkumavka s EDTA na krevní obraz, 5 zkumavek s 0,109 mol/l citrátem sodným, z toho nejdříve do 3 zkumavek vakuovaných (systém Vacutainer) a pak do 2 zkumavek nevakuovaných (otevřený systém).

Příprava destičkami bohaté plazmy (PRP) a destičkami chudé plazmy (PPP) centrifugací byla provedena po 30 minutách od odběru, vyšetření agregace trombocytů bylo provedeno do 1 hodiny od ukončení centrifugace optickou agregometrií s koncentracemi epinefrinu 10  $\mu\text{M}$ , 1  $\mu\text{M}$  a 0,5  $\mu\text{M}$  a s koncentracemi ADP 2,5  $\mu\text{M}$ , 1  $\mu\text{M}$  a 0,5  $\mu\text{M}$ . Hodnoceny byly hodnoty maximální amplitudy.

**Výsledky:** Na rozdíl od našeho původního předpokladu byly naměřené hodnoty vyšší u pacientů, kteří neprodělali trombózu v porovnání s hodnotami naměřenými u pacientů s anamnézou prodělané trombózy. Statisticky významné rozdíly byly zjištěny při vyšetření vzorků odebraných do vakuovaného systému (Vacutainer) při koncentracích ADP 1  $\mu\text{M}$  ( $p=0,00708$ ) a ADP 0,5  $\mu\text{M}$  ( $p=0,00077$ ) a při vyšetření vzorků odebraných do nevakuovaného systému při koncentraci ADP 0,5  $\mu\text{M}$  ( $p=0,00708$ ). Rozdíly při vyšetření s epinefrinem a ostatními koncentracemi ADP nebyly statisticky významné.

Byla zjištěna závislost výskytu zvýšené agregability (definované jako maximální amplituda v rozmezí nejvyššího kvartilu hodnot získaných vyšetřením zdravých dobrovolníků) a nepřítomnosti trombózy v anamnéze jen při vyšetření vzorků odebraných

do nevakovaného systému použití ADP v koncentraci 2,5  $\mu$ M ( $p=0,026$ ), ve všech ostatních případech nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v zastoupení zvýšené agregability trombocytů mezi pacienty s anamnézou trombózy a osobami bez anamnézy trombózy.

Byla zjištěna silná a statisticky významná korelace mezi výsledky získanými vyšetřením vzorků odebraných do vakuovaného systému s výsledky získanými vyšetřením vzorků odebraných do nevakovaného systému. (Spearmanovy koeficienty v rozmezí 0,767 až 0,840,  $p < 0,00001$ ). Mezi výsledky získanými vyšetřením vzorků odebraných do vakuovaného systému a výsledky získanými vyšetřením vzorků odebraných do nevakovaného systému však existují statisticky významné rozdíly, při odběru do vakuovaného systému je naměřená maximální amplituda vyšší při použití všech koncentrací obou induktorů.

**Závěr:** Nebyl prokázán náš původní předpoklad, že u pacientů s heterozygotní mutací faktoru V Leiden nebo protrombinu G20210A, kteří prodělali trombózu (skupina A), v porovnání s jedinci s těmito mutacemi, kteří trombózu neprodělali (skupina B) je častěji přítomna zvýšená agregabilita trombocytů s nízkými koncentracemi ADP a epinefrinu. Výsledky získané vyšetřením vzorků odebraných do vakuovaného systému silně korelují s výsledky získanými vyšetřením vzorků odebraných do nevakovaného systému, ale nejsou srovnatelné, existují mezi nimi statisticky významné rozdíly. V klinické praxi je tedy nutno používat jen jednu z uvedených metod odběru.

**Klíčová slova:** žilní tromboembolismus (VTE); faktor V Leiden; mutace protrombinu G20210G; agregace trombocytů; optická agregometrie (LTA)