



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Владимир С. Игњатовић

**УТИЦАЈ ПРИМЕНЕ РАЗЛИЧИТИХ БЕТА БЛОКАТОРА НА
АГРЕГАБИЛНОСТ ТРОМБОЦИТА КОД ПАЦИЈЕНАТА СА
КОРОНАРНОМ БОЛЕШЋУ СРЦА НА ДВОЈНОЈ
АНТИАГРЕГАЦИОНОЈ ТЕРАПИЈИ**

-докторска дисертација-

Крагујевац, 2013. године

8.6 ИНДЕТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<i>I. Аутор</i>
Име и презиме: Владимир Игњатовић
Датум и место рођења: 02.01.1981. Крагујевац
Садашње запослење: Клинички центар Крагујевац
<i>II. Докторска дисертација</i>
Наслов: Утицај примене различитих бета блокатора на агрегабилност тромбоцита код пацијената са коронарном болешћу срца на двојној антиагрегационој терапији
Број страница: 113
Број слика: 3
Број библиографских података: 18 графикана / 30 табела
Установа и место где је рад израђен: Клинички центар Крагујевац, Крагујевац
Научна област (УДК): интерна медицина-кардиологија
Ментор: Проф. др Синиша Павловић
<i>III. Оцена и одбрана</i>
Датум пријаве теме: 24.06.2011.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: бр. одлуке 1743/15 14.12.2011.
Комисија за оцену подобности теме и кандидата: Проф. др Синиша Павловић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Интерна медицина. Проф. др Небојша Анђелковић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина. Доц. др Владимир Милорадовић, доцент Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина (у међувремену изабран у више звање).
Комисија за оцену подобности теме и кандидата: Комисија за оцену докторске дисертације: Проф. др Владимир Милорадовић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина. Доц. др Горан Давидовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина. Проф. др Радојица Столић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Приштини за ужу научну област Интерна медицина. Доц. др Предраг Ђурђевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина. Доц. др Михајло Јаковљевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија.
Комисија за одбрану докторске дисертације:
Датум одбране дисертације:

Посебну захвалност дугујем

Ментору, проф. др Синиши Павловићу, на подршци, саветима и неограниченом поверењу у мој рад.

Особљу Клинике за кардиологију и Клинике за хематологију КЦ Крагујевац, посебно службеницима Клинике за кардиологију и особљу Лабораторије за хематологију, за помоћ приликом прикупљања података.

Супрузи и родитељима, за несебичну помоћ и подршку приликом писања тезе.

Садржај

1. Уводно поглавље	6
1.1. Историјат	6
1.2 . Бета адренергички рецептори.....	7
1.3. Блокатори бета адренергичких рецептора.....	10
1.3.1. Својства бета блокатора	10
1.3.2. Терапијски значај бета блокатора	11
1.4. Антиагрегациони лекови у терапији коронарне болести срца	19
1.4.1. Ацетилсалицилна киселина	19
1.4.2. Тиенопиридини	20
1.5. Процена утицаја антиагрегационих лекова на агрегабилност тромбоцита	22
1.5.1. Методе мерења агрегабилности тромбоцита	22
1.5.2. Резистенција на антиагрегациону терапију	23
2. Циљеви и хипотезе	26
3. Материјал и методе.....	27
3.1. Врста студије	27
3.2. Испитивана популација	27
3.2.1. Услови за укључење у студију	27
3.2.2. Услови за искључење из студије	27
3.3. Опис свих поступака које смо спроводили	28
3.3.1. Анализе које су рађене	28
3.3.2. Подаци који су прикупљани	30
3.4. Статистичке методе	31
4. Резултати.....	32

4.1. Демографске и клиничке карактеристике популације пацијената	32
4.2. Терапија коју су пацијенти користили.....	34
4.3. Вредности лабораторијских параметара код поређених група	36
4.4. Утицај бета блокатора на АДП индуковану агрегабилност тромбоцита	38
4.5. Утицај бета блокатора на агрегабилност тромбоцита индуковану арахидонском киселином	43
4.6. Утицај бета блокатора на агрегабилност тромбоцита индуковану тромбин рецептор активишућим пептидом	47
4.7. Утицај бета блокатора на однос вредности АДП/ТРАП теста	53
4.8. Утицај бета блокатора на однос вредности АСПИ/ТРАП теста	58
4.9. Утицај демографских, клиничких и лабораторијских параметара на вредност АДП теста.....	63
4.10. Утицај демографских, клиничких и лабораторијских карактеристика на вредност АСПИ теста	66
4.11. Утицај демографских, клиничких и лабораторијских карактеристика на вредност ТРАП теста.....	69
4.12. Утицај демографских, клиничких и лабораторијских карактеристика на вредност односа АДП/ТРАП	72
4.13. Утицај демографских, клиничких и лабораторијских карактеристика на вредност односа АСПИ/ТРАП.....	75
5. Дискусија	78
5.1. Опште напомене.....	78
5.2. Критеријуми процене ефекта антиагрегационе терапије.....	79

5.3. Заступљеност демографских, клиничких фактора, лабораторијских параметара између поређених група.....	81
5.4. Бета блокатори и агрегабилност тромбоцита.....	83
5.5. Утицај небиволола на васкуларни ендотел, срчани мишић и ћелије крви.....	90
5.6. Ефекат ацетил салицилне киселине и клопидогрела на агрегабилност тромбоцита мерен уз помоћ multiplate анализатора.....	93
6. Закључци.....	96
7. Литература.....	98
8. Прилози.....	110

1. Увод

1.1. Историјат

Почев од свог открића и увођења у клиничку праксу 1963. године бета блокатори спадају у најкорисније лекове у кардиоваскуларној медицини. Претходило им је откриће α и β адренергичких рецептора 1948. године (Raymond P. Ahlquist), чиме је започет нови правац медицине који се бавио испитивањем интеракције рецептора и њихових лигананда, што је довело бројних проналазака у медицини и фармацеутској индустрији у 20. и 21. веку. После дугогодишњег истраживања Џејмс Блек (Sir James Whyte Black) је најпре синтетисао неселективни бета блокатор пронеталол 1963. године, а потом и пропранолол, који је у клиничку праксу ушао 1964. године, зашта је добио Нобелову награду 1988. године. Даљим лабораторијским испитивањем група истраживача око Блека дошла је до открића β_1 и β_2 адренергичких рецептора, као и првог β_1 селективног блокатора атенолола. Почев од свог открића па до данас бета блокатори су лекови избора за лечење хипертензије, коронарне болести срца, аритмија, срчане слабости, али су присутни и у другим областима медицине (лечење глаукома, хипертиреозе, превенцији мигрене, тремора итд).

1.2. Бета адренергички рецептори

Симпатички нервни систем остварује свој ефекат путем активације адренергичких рецептора на ћелијској мембрани. Постоје α и β адренергички рецептори, који имају више подтипова.

Бета адренергички рецептори су рецептори на ћелијској мембрани за које се везују адреналин, норадреналин и њима сличне супстанце. Распрострањени су у различитим органима. Могу се поделити на β_1 , β_2 , β_3 адренергичке рецепторе, а такође и на пре и постсинаптичке рецепторе.

Адренергички β_1 рецептори су распоређени у миокарду (око 80% адренергичких рецептора). Њиховом активацијом појачава се снага срчане контракције (позитивно инотропно дејство), брзина настанка импулса у СА чвору и фреквенција срчаног рада (позитивно хронотропно дејство), брзина провођења кроз спроводни систем срца (позитивно дромotropно дејство), срчана надражљивост (позитивно батмотропно дејство). Заступљени су још у већој концентрацији у гастроинтестиналном тракту и масном ткиву, где подстичу липолизу.

Адренергички β_2 рецептори су највише заступљени у ћелијама крвних судова, где играју важну улогу у процесу вазодилатације и зиду бронхија, где изазивају бронходилатацију. У утерусу имају улогу у токолизи, у јетри подстичу гликогенолизу, а у гастроинтестиналном тракту имају улогу у смањењу мотилитета органа за варење.

Пресинаптички адренергички рецептори β_2 типа подстичу ослобађање норадреналина из нервних завршетака што је посебно значајно у стању стреса где повишена концентрација адреналина у циркулацији преко β_2 рецептора додатно повећава излучивање норадреналина и тонус симпатикуса, чиме се ствара механизам позитивне повратне спреге.

Нешто касније од претходна 2 типа идентификован је и тип β_3 рецептора. Они имају улогу у процесу липолизе висцералног масног ткива у процесу терморегулације.

Идентификовани су и у мокраћној бешици и миокарду. Претпоставља се да активација β_3 рецептора у миокарду доводи до стимулације стварања азот монооксида и цикличног гуанозин монофосфата (1).

На ћелијском нивоу стимулација β адренергичких рецептора преко активације Г протеина и аденил циклазе, доводи до повећања синтезе цикличног аденозин монофосфата (цАМП-а) који активира одговарајућу протеин киназу. Долази до фосфорилације протеина калцијумских канала и до инфлукса јона калцијума кроз калцијумске канале, као и ослобађања калцијума из саркоплазматског ретикулума што доводи до бројних ефеката.

Адренергички β_1 рецептори су повезани са стимулационом формом Г протеина, док β_2 рецептори могу да буду повезани и са стимулационом и инхибиторном формом Г протеина. Активацијом β рецептора може доћи и до директног ефекта на јонске канале калијума (2).

Активност и број бета адренергичких рецептора је регулисана механизмима усходне и нисходне ауторегулације, при чему њихов број и активност нису константни већ стално подлежу променама .

Код перзистентне стимулације агонистима бета рецептора долази до губитка сензитивности рецептора за агонист, као и до смањења броја активних бета рецептора. У том механизму најпре долази до фосфорилације бета рецептора (посредством Г протеин рецептор киназе) која повећава афинитет рецептора за протеин из фамилије арестина, чијим се везивањем за рецептор раздваја комплекс агонист-Г стимулациони протеин, а додатно се повећава везивање агонисте за инхибиторни Г протеински комплекс. На тај начин долази до десензитизације β рецептора. Дуготрајна регулација броја β адренергичких рецептора одвија се преко процеса њихове интернализације и разградње, као и регулацијом интензитета транскрипције информационе РНК.

Код дуготрајне примене антагониста бета рецептора (попут нпр. пропранолола) долази до усходне регулације броја рецептора, која може бити повезана са преосетљивошћу на бета агонисте након обустављања лека, због чега је потребно да се

након дуже примене бета блокатора њихова доза постепено смањује пре самог укидања лека.

Неуротрансмитери, хормони, цитокини такође утичу на регулацију броја и афинитета бета рецептора. Цитокини ослобођени у процесу инфламације доводе до нисходне регулације, а показано је да кортикостероиди могу да доведу усходне регулације бета рецептора (3). Такође постоји генетски полиморфизам $\beta 1$ и $\beta 2$ рецептора у популацији који се може одразити и на настанак одређених поремећаја као и на ефекат лекова који делују преко ових рецептора.

1.3. Блокатори бета адренергичких рецептора

1.3.1 Својства бета блокатора

Бета блокатори су компетативни антагонисти β адренергичних рецептора. Већина лекова из ове групе су чисти антагонисти, који везивањем за рецептор не испољавају никакво дејство, док се поједини понашају као парцијални агонисти, делимично активирају рецептор, али знатно слабије него прави бета агонисти. Бета блокатори постоје као рацемске смеше, при чему претежно Л изомер има активна својства (осим код соталола, где је активан Д изомер). Бета блокатори се међусобно разликују по селективности, парцијалној агонистичкој активности, липосолубилности као и стабилизирајућем ефекту на ћелијску мембрану.

Селективност бета блокатора се огледа у блокади само β_1 адренергичких рецептора. Селективност није апсолутна и изражена је само при нижим дозама лека док се губи са повећањем њихове дозе.

Предност селективних бета блокатора огледа се у мањем броју нежељених ефеката, поготову вазоконстрикторног ефекта на бронхије, хипогликемије и гликогенолизе у јетри, па се могу примењивати и код пацијената са бронхијалном астмом и ХОБП-ом, или код дијабетичара где се смањује учесталост продужених хипогликемија. Од селективних бета блокатора најзаступљенији на нашем тржишту су: бисопролол, небиволол, метопролол, атенолол. Од неселективних: пропранолол, карведилол (који је и α_1 блокатор).

Парцијална агонистичка активност бета блокатора се огледа у томе да при нижим дозама делују као парцијални агонисти. У ову групу спадају: пиндолол, лабеталол и окспренолол. Ови лекови ређе узрокују брадикардију и у мањој мери смањују минутни волумен срца. Након њиховог наглог укидања не јавља се апстиненцијални синдром.

Липосолубилни бета блокатори се брзо ресорбују из дигестивног тракта, пролазе метаболизам у јетри, а због велике липофилности могу да прођу кроз хематоенцефалну баријеру. У липофилне бета блокаторе спадају пропранолол, метопролол. Насупрот њих хидросолубилни бета блокатори као што су атенолол, соталол, се доминантно излучују преко бубрега.

Поједини бета блокатори могу да блокирају натријумске и калцијумске канале на ћелијском мембрани, имају стабилизирајући ефекат на ћелијску мембрану. Ово својство се испољава тек при високој дози и његов значај је још увек нејасан. У ову групу спада пропранолол, карведилол.

Бета блокатори попут карведилола и лабеталола поред β рецептора блокирају и α_1 рецепторе чиме се испољава вазодилатационо дејство, које може бити значајно код хипертензије или срчане слабости.

У бета блокаторе са вазодилатационим ефектом спада и селективни β_1 блокатор небиволол. Уочено је да вазодилатациони ефекат овог лека на венске и артеријске крвне судове, потиче од стимулације ослобађања азот монооксида из ендотела (4).

1.3.2. Терапијски значај бета блокатора

Бета блокатори су важни лекови у лечењу срчаних болести, укључујући дисфункцију леве коморе и исхемију миокарда, а њихова примена након инфаркта миокарда доводи до редукације морталитета. Један су од првих ефикасних антихипертензива. Значајни су за лечење коморских и преткоморских поремећаја ритма. Периоперативна примена бета блокатора редукује учесталост кардиоваскуларних догађаја и морталитет (5). Примењују се и у лечењу хипертиреозе, глаукома.

Значај бета блокатора у лечењу исхемијске болести срца (антиангинозно дејство, секундарна превенција инфаркта миокарда)

Бета блокатори блокадом β_1 адренергичких рецептора миокарда спречавају ефекат адреналина и норадреналина на срчани мишић чиме се редукује срчана фреквенца, умањује снага срчане контракције, раздражљивост срчаног мишића и проводљивост кроз спроводни систем срца. На тај начин смањује се потрошња кисеоника у миокарду, продужава дужина дијастоле, а такође долази и до прерасподеле протока кроз коронарне артерије (вазоконстрикција у неисхемичним артеријама) што за последицу има смањење учесталости ангинозних напада и бољу толеранцију напора (6). Антиангиналном ефекту доприноси и смањење крвног притиска, самим тим и смањење оптерећења зида леве коморе.

Поред ефекта на умањење ангинозних тегоба постоје јасни докази да бета блокатори побољшавају преживљавање коронарних болесника. У неколико великих клиничких студија, са преко 30 000 пацијената као и мета-анализи о секундарној превенцији код пацијената који су прележали инфаркт миокарда примена бета блокатора довела је до редукције морталитета и учесталости новог инфаркта миокарда за 24-30% (6,7,8). Од бета блокатора овај позитиван ефекат на преживљавање пацијената је утврђен за: пропранолол, метопролол, карведилол, бисопролол, тимолол, док је дискутабилан значај ателолола у секундарној превенцији инфаркта миокарда (8). Корист од примене бета блокатора је највећа код најризичнијих пацијената (нпр након великих инфаркта) као и код дијабетичара (8).

Примена бета блокатора код стабилне ангине пекторис мање је истраживана али постоје јасни докази о њиховом кардиопротективном дејству и у овој популацији (9). Бета блокатори редукују учесталост ангинозних тегоба код болесника са стабилном ангином пекторис, побољшавају толеранцију напора и редукују употребу других антиангиналних лекова (10,11,12).

Управо због тога је употреба бета блокатора код пацијената са коронарном болешћу срца препоручена од стране Европског удружења кардиолога (ниво доказа Ia) (13).

Значај бета блокатора у лечењу акутног инфаркта миокарда

Код пацијената са акутним инфарктом миокарда рана перорална примена бета блокатора смањује величину инфаркта, учесталост коморске фибрилације, умањује бол, смањује величину елевације СТ сегмента, нарочито код пацијената са инфарктом предњег зида миокарда. Из тог разлога перорална примена бета блокатора у овим околностима је препоручена (ниво доказа Ia), уколико за то нема контраиндикација (низак систолни притисак испод 90mm Hg, брадикардија). Интравенска примена бета блокатора код акутног инфаркта миокарда се може увести ако пацијент има пролонгиран бол, резистентан на опијате, тахикардију или за контролу хипертензије (14,15).

Већи број студија је показао корист ране интравенске примене бета блокатора у лечењу акутног инфаркта миокарда пре појаве фибринолитичке терапије и перкутане коронарне интервенције, док је још увек недовољно података да би смо одредили место ране интравенске примене бета блокатора у савременој ери лечења инфаркта миокарда. Две новије студије које су се превасходно бавиле примарном перкутаном коронарном интервенцијом у акутном инфаркту миокарда (CADILAC, PAMI) указале су на редукацију морталитета код ране интравенске примене бета блокатора (16,17). Механизам кардиопротективног дејства код акутног инфаркта миокарда огледа се у снижавању тонууса симпатикуса, смањењу потрошње кисеоника, смањењу стварања лактата, спречавања коморских аритмија, инхибиције липолизе и повећања концентрације слободних масних киселина.

Значај бета блокатора у лечењу хипертензије

Традиционално још од свог увођења у употребу бета блокатори су лекови првог избора за лечење повишеног крвног притиска. Током осамдесетих и деведесетих година 20. века више клиничких студија попут шведске студије STOP, или студије SHEP показале су ефикасност бета блокатора, у комбинацији са диуретиком у редукцији крвног притиска и превенцији компликација (редукција кардиоваскуларних догађаја за 35% и редукције цереброваскуларних догађаја за 35%) у односу на друге тадашње антихипертензивне лекове (18, 19).

Развојем новијих антихипертензивних лекова попут АЦЕ инхибитора, ангиотензин рецептор блокатора (АТ блокатора), калцијумских антагониста током последњих неколико година доведена је у питање ефикасност бета блокатора као лекова првог избора за лечење некомплицоване хипертензије. Тако је студија LIFE показала бољи ефекат АТ блокатора лосартана у односу на бета блокатор атенолол у лечењу хипертензије и превенцији њених компликација, након 4 године праћења (20). Разлика се огледа пре свега у редукцији учесталости цереброваскуларних инсульта (ЦВИ). Студија ASCOT је показала слабији ефекат комбинације атенолола и диуретика бендрофлуметиазида у односу на комбинацију амлодипина и периндоприла у редукцији ЦВИ-а и смртности услед кардиоваскуларних догађаја код хипертензивних пацијената (21).

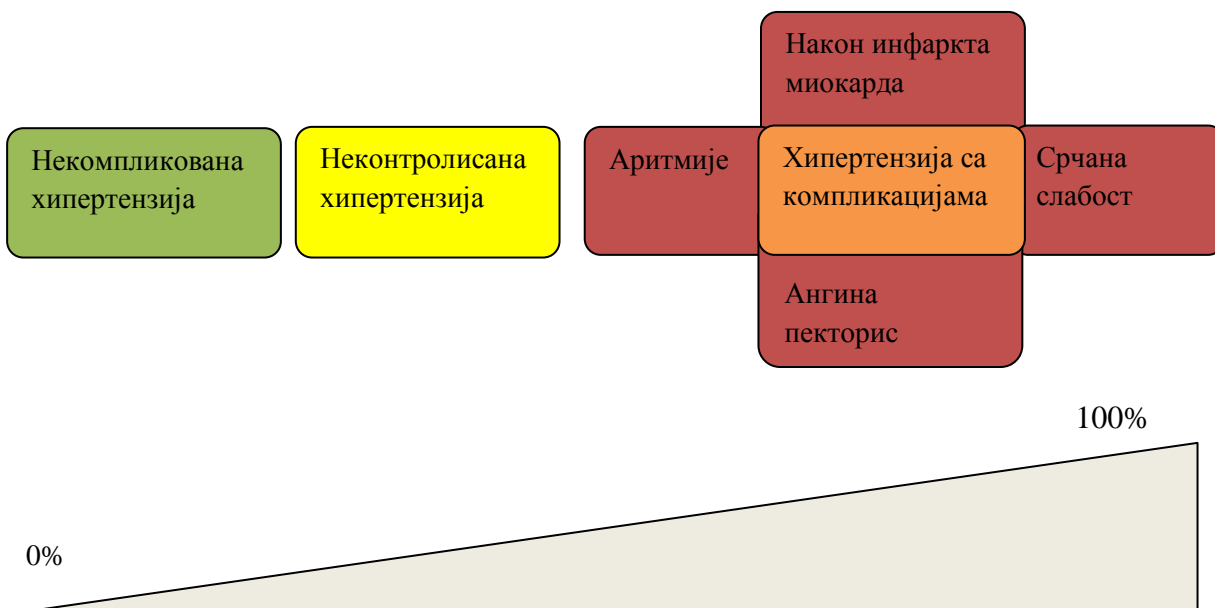
Ова открића су се одразила на примену бета блокатора као лекова прве групе за лечење некомплицоване хипертензије у појединим земљама попут Велике Британије, где бета блокатори више нису сврстани у лекове првог избора за лечење некомплицоване хипертензије.

Требало би да напоменемо да је у поменутиим студијама као представник бета блокатора коришћен атенолол и то у једнократној дози иако је познато да је због полуживота 6-9 сати препоручљиво дозирање у више дневних доза. Такође новији бета блокатори са вазодилататорним својствима нису директно поређени са другим антихипертензивним лековима, што баца додатну сумњу да резултате претходних студија.

Такође велики број пацијената са новооткривеном хипертензијом у тренутку започињања терапије већ има оштећења циљних органа попут срца, бубрега, крвних

судова, тако да је код ове популације пацијената употреба бета блокатора као лекова прве линије оправдана.

Значај примене бета блокатора у лечењу хипертензије и њених компликација



Механизам антихипертензивног ефекта бета блокатора још увек није у потпуности објашњен. У току првих дана након почетка терапије долази до снижења срчаног минутног волумена, али се ово снижење компензује повећањем периферног отпора. Након 2 недеље примене организам се адаптира, периферни отпор попушта и испољава се антихипертензивно дејство. Претпоставља се да се антихипертензивни ефекат остварује преко више механизма:

- смањује се минутни волумен срца
- смањује се ослобађање ренина из бубрега
- блокадом пресинаптичких β рецептора смањује се ослобађање норадреналина и блокира механизам позитивне повратне спреге
- подешава се осетљивост барорецептора
- блокада β рецептора ЦНС-а

Највећи антихипертензивни ефекат се испољава код болесника са повишеним тонусом симпатикуса.

Антиаритмијски утицај бета блокатора

Бета блокатори припадају II класи антиаритмика. Амiodарон и соталол сачињавају III класу, јер испољавају додатна антиаритмијска својства.

Бета блокатори имају значајан утицај на аритмије које су провоциране повишеним тонусом симпатикуса, односно повећаном осетљивошћу према катехоламинима. Испољавају дејство и на суправентрикуларне и на вентрикуларне аритмије.

Антиаритмијско дејство бета блокатора заснива се на блокади бета рецептора у срцу чиме се: успорава провођење кроз АВ чвор, односно продужава ПР интервал, инхибише се аутоматизам и спонтана дијастолна деполаризација, стабилизује се ћелијска мембрана (бета блокатори са овим својством).

Посебно је значајан антиаритмијски ефекат бета блокатора на поремећаје ритма код пацијената који су прележали инфаркт миокарда, где је примена бета блокатора довела до редукције морталитета. Сматра се да је најзначајнији антиаритмијски ефекат бета блокатора управо смањење учесталости изненадне срчане смрти и то у примарној и секундарној превенцији код пацијената са исхемијском и неисхемијском миокардиопатијом.

Примена бета блокатора у превенцији изненадне срчане смрти.

Болест/стање	Индикација	Ниво препорука	
Акутни инфаркт миокарда	Примарна превенција	I	A
Након инфаркта миокарда	Примарна превенција, у присуству срчане I слабости или дисфункције леве коморе.	I	A
Након инфаркта миокарда	Примарна превенција, у току и након I инфаркта миокарда.	I	A
Након инфаркта миокарда	Конвертована коморска тахикардија или Па фибрилација, спонтана одржива коморска тахикардија.	Па	C
Срчана слабост	Примарна или секундарна превенција.	I	A
Дилатациона миокардиопатија	Примарна или секундарна превенција.	I	B
Миокардни бриц	Примарна превенција.	Па	C
Дугачак QT синдром	Примарна превенција-симптоматска.	I	B
Дугачак QT синдром	Секундарна превенција β блокатори+ICD	I	C
Дугачак QT синдром	Примарна превенција-асимптоматска.	Па	C
Катехоламинергична коморска тахикардија	Примарна или секундарна превенција.	Па	C
Миокардиопатија десне коморе	Примарна превенција.	Пб	C
Пацијенти са ICD-ом	Секундарна превенција,	Па	C

*Expert consensus document on β -adrenergic receptor blockers*The Task Force on Beta-Blockers of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* (2004) 25 (15): 1341-1362.

Значај бета блокатора у лечењу срчане слабости

Примена бета блокатора у срчаној слабости је деценијама била контраиндикувана, док су данас постали незамењљиви лекови за ову болест, што је један од примера да се са развојем медицине ставови о лечењу фундаментално мењају. Сматра се да пролонгирана активација симпатикуса и лучење катехоламина код срчане слабости доводи до ремоделовања миокарда, некрозе кардиомиоцита као и ретенције соли и воде, чиме се додатно оптерећује већ ослабљени срчани мишић и ствара механизам позитивне повратне спреге. Блокадом β рецептора путем бета блокатора и АЦЕ конвертујућег ензима преко АЦЕ инхибитора или његовог рецептора АТ блокаторима прекида се овај малигни механизам, растерећује се срчани мишић и спречава се његово ремоделовање. Примена бета блокатора је индикувана у 2. и 3. стадијуму срчане инсуфицијенције према NYHA класификацији, док их не би требало примењивати у акутизацији срчане слабости.

Неколико бета блокатора: карведилол, бисопролол, метопролол сукцинат, небивол су у клиничким испитивањима показали повољан ефекат у лечењу срчане слабости и продужили живот пацијентима. Три велике клиничке студије на преко 9000 пацијената са симптомима умерено тешке и тешке срчане инсуфицијенције: CIBIS II, COPERNICUS, MERIT-HF тестирале су примене 3 различита бета блокатора: бисопролола, карведилола, метопролол сукцината у односу на плацебо, при чему је преко 90% пацијената било на АЦЕ инхибитору (22, 23, 24). У свакој од ових студија показана је редукција mortalитета у групи са бета блокатором за око 34%, као и учесталости поновне хоспитализације за 28-36% након годину дана праћења од почетка студије. Такође пацијенти који су били на бета блокатору су се субјективно боље осећали у односу на контролну групу. Апсолутна редукција mortalитета пацијената са умереном срчаном инсуфицијенцијом у CIBIS II, MERIT-HF студији након годину дана била је 4,3%, док је код пацијената са тешком срчаном инсуфицијенцијом у COPERNICUS студији била 7,1%. Примена небиволола код старијих пацијената (преко 70 година) са срчаном слабошћу и очуваном ејекционом фракцијом леве коморе преко 35% у студији SENIORS довела је до релативне редукције заједничке учесталости кардиоваскуларне хоспитализације и смртности за 14%, али без промене у укупном mortalитету у односу на контролну групу (25).

1.4. Антиагрегациони лекови у терапији коронарне болести срца

1.4.1. Ацетилсалицилна киселина

Антиагрегационо дејство ацетилсалицилне киселине (АСК) познато је више од 50 година. Она иреверзибилно инхибише ензим циклооксигеназу и на тај начин блокира стварање протромбогеног тромбоксана А₂. Постоје 2 форме циклооксигеназе: COX-1 и COX-2, при чему ниже дозе АСК инхибишу претежно COX-1 форму, која је одговорна за стварање тромбоксана, док је за инхибицију COX-2 форме потребна већа доза АСК.

Тромбоксан се ослобађа из тромбоцита у процесу њихове активације, везује се за рецепторе тромбоцита након чега се њихова активација додатно појачава.

Поред инхибиције стварања тромбоксана АСК инхибише и стварање простагландина Е₂, који је битан фактор у заштити гастроинтестиналног тракта, што је узрок гастроинтестиналних тегоба везаних за узимање овог лека, посебно крварења.

Бројне студије, попут ISIS-2 студије (26), показале су ефикасност АСК у лечењу, као и примарној и секундарној превенцији инфаркта миокарда. Примена АСК је смањила ризик од нефаталног инфаркта миокарда, ЦВИ-а, као и срчане смрти за око 25%. Апсолутна редукција кардиоваскуларног морталитета приказана је у следећој табели.

	Корист (бр. пацијената код којих је спречен значајан васкуларни догађај на 1000 лечених/годишње)	Ризик (бр. пацијената са значајним ГИ крварењем на 1000 лечених/годишње)	
Мушкарци са ниским до умереним ризиком	1-2	1-2	корист = ризик
Есенцијална хипертензија	1-2	1-2	
Стабилна ангина	10	1-2	корист >>> ризик
Ранији инфаркт	20	1-2	
Нестабилна ангина	50	1-2	

Препоручена дневна доза АСК је 75-150mg код пацијената са повољним односом ризик-бенефит, а код пацијената са акутним коронарним синдром ради бржег постизања ефекта ударна доза је 300mg.

1.4.2. Тиенопиридици (тиклопидин, клопидогрел)

Клопидогрел

Клопидогрел је супстанца уз групе тиенопиридина која се селективно и иреверзибилно везује за P2Y₁₂ рецептор тромбоцита и на тај начин спречава везивање АДП-а за овај рецептор. АДП се ослобађа из тромбоцита у процесу њихове активације и након везивања за свој рецептор стимулише агрегацију и активацију тромбоцита. Клопидогрел се након оралне примене метаболише у јетри преко ензима CYP3A4, у мањој мери преко CYP1A2 и CYP2C9 у свој активни метаболит. Интеракције са другим лековима који се метаболишу преко ових ензима су могуће, а постоји и генетски полиморфизам ових ензима. Управо због овог процеса његове активације клопидогрел након оралне примене делује нешто спорије. Након узимања дневне дозе од 75mg

инхибиција функције тромбоцита се јавља 2. дана а оптимални ефекат требало би очекивати након 4-7 дана. У акутном коронарном синдрому већом ударном дозом 300-600mg постиже се жељена инхибиција тромбоцита за 2-6 сати.

Клопидогрел у комбинацији са АСК-ом има значајно место у лечењу пацијената са акутним инфарктом миокарда са СТ елевацијом (СТЕМИ), у погледу очувања проходности инфарктне артерије и редукције исхемијских компликација односу на монотерапију АСК-ом (CLARITY, COMMIT/CCS-2 студије) (27). Код пацијената са инфарктом миокарда без СТ елевације укључених у CURE студију додавање клопидогрела на већ постојећу терапију АСК-ом је значајно редуковало учесталост кардиоваскуларних догађаја (28). Такође код пацијената са ангином пекторис код којих је урађена перкутана коронарна интервенција (ПКИ), комбинација ова два лека је значајно смањила ризик акутне и субакутне тромбозе стента у односу на монотерапију АСК-ом.

На основу ових сазнања је употреба двојне антиагрегационе терапије препоручена након уградње обичног металног стента током најмање наредних месец дана, а након уградње обложеног стента током најмање првих 6 месеци. Код пацијената који су прележали инфаркт миокарда двојну антиагрегациону терапију требало би наставити годину дана, уколико нема контраиндикација.

Тиклопидин

Тиклопидин је такође лек из групе тиенопиридина, који је данас потиснут клопидогрелом, због мањих нежељених ефеката (неутропеније, која се догађа код око 1% пацијената на тиклопидину). Као и клопидогрел се метаболише у јетри у свој активни метаболит који иререверзибилно инхибише P2Y₁₂ рецептор тромбоцита.

1.5. Процена утицаја антиагрегационих лекова на агрегабилност тромбоцита

1.5.1. Методе мерења агрегабилности тромбоцита

Како се повећава број пацијената на антиагрегационој терапији, поред повољног исхода на лечење коронарне болести срца повећава се и ризик од нежељених ефеката такве терапије. Са једне стране то су крварења, са друге стране тромбоза услед недовољног ефекта-резистенције на антиагрегационе лекове, због чега постоји све већа потреба за тестирањем и проценом функције тромбоцита како би се оптималним, индивидуализованим дозирањем терапије постигао жељени ефекат и умањено ризик.

Данас располажемо са више метода помоћу којих можемо да измеримо функцију тромбоцита након примене антиагрегационе терапије и на тај начин проценимо учинак терапије и идентификујемо ризичне пацијенте.

Метода која се прва појавила још почетком XX века била је мерење времена крварења по Дјуку. Ова метода је доста једноставна, али недовољно осетљива, нерепродуцибилна и подложна утицају других фактора (дубина убода, грађа коже, број еритроцита итд).

Током шездесетих година XX века појавила се светлосна трансмисиона агрегометрија (енг. Light transmission aggregometry-LTA), која је дуго времена била златни стандард. Метода се заснива на мерењу количине светлости која пролази кроз суспензију тромбоцита након додавања тромбоцитног агонисте. Метода је преданалитички доста захтевна јер је потребно припремити плазму богату тромбоцитима, а процес активације тромбоцита нефизиолошки. Спроводи се само у специјализованим лабораторијама.

У новије време развијено је више метода помоћу којих се из узорка пуне крви може одредити агрегабилност тромбоцита, на лицу места (енг. *point of care*). На тај начин могуће је из мањих узорака крви испитати функцију тромбоцита у њиховом природном окружењу.

Multiple Platelet Function Analyzer (Multiplate®) је анализатор функције тромбоцита који ради на принципу мерења промене електричне импеданце између 2 електроде након додавања тромбоцитног агонисте (АДП-а, арахидонске киселине, колагена, ристоцетина или тромбин рецептор агонисте). Метода је брза и ефикасна, а истовремено се може анализирати 5 узорака.

Verify now анализатор мери аглутинацију честица обложених фибриногеном након активације тромбоцита агонистом. Метода је брза, једноставна и аутоматизована.

Анализатор функције тромбоцита PFA-100 мери време настанка примарног тромба при проласку крви кроз врло танку капиларну цев која је обложена тромбоцитним агонистом. Згрушавањем крви блокира се отвор цеви, а уређај мери колико је времена потребно за то и региструје то време као време крварења *in-vitro*.

Проточна цитометрија (енг. *flow cytometry*) омогућава праћење присутних активираних тромбоцита у циркулацији након додавања тромбоцитног агонисте. Метода је прецизна, захтева малу количину узорка, али је доста скупа. Посебно се издваја метода мерења интрацелуларне концентрације фосфорилисаног вазодилататором стимулисаног фосфопротеина (енг. *Vasodilator-stimulated phosphoprotein-VASP*), који је специфични маркер резидуалне активности P2Y₁₂ рецептора тромбоцита код пацијената третираних инхибитором овог рецептора (тиенопиридинима). У клиничкој пракси је показана је корелација вредности овог теста са ризиком од исхемијског, кардиоваскуларног догађаја (29, 30).

Тромбоеластографија даје комплетан увид у настанак и фибринолизу угрушка. Погодна је за коришћење у операционим салама ради брзог откривања узрока крварења.

Методe мерења агрегабилности тромбоцита детаљније су приказане у прилогу 1.

1.5.2. Резистенција на антиагрегациону терапију

Мерења функције тромбоцита у популацији показала су хетерогене резултате. Примена исте дозе антиагрегационог лека код различитих особа доводи до различитог ефекта лека, па се говори о интериндивидуалној варијабилности одговора на антиагрегациону терапију. Појам смањеног ефекта лека односно резистенције подразумева неспособност лека да делује на свој фармаколошки циљ из разних разлога. Разликујемо клиничку резистенцију (настанак тромбозе упркос антиагрегационој терапији) и лабораторијску резистенцију (*in vitro* доказ о смањеном или недовољном ефекту антиагрегационог лека). Различити фактори могу допринети настанку резистенције: смањена комплијанса пацијента, интеракција са другим лековима, клинички

фактори, наследни фактори (нпр генетски полиморфизам гена за P2Y12 рецептор, полиморфизам гена цитохром оксидазе јетре).

Могући механизми резистенције на аспирин

Смањена биорасположивост

Неузимање лека

Недовољно дозирање

Лоша апсорпција (ентерички-обложен аспирин)

Интеракција са другим лековима попут нестероидних антиреуматика

Генетски фактори

Полиморфизам или мутација гена са COX-1.

Полиморфизам гликопротеинских рецептора тромбоцита.

Прекомерна експресија COX-2 у тромбоцитима и ендотелним ћелијама.

Алтернативни путеви активације тромбоцита

Активација COX-2 индукована цитокинима и стварање тромбоксана A2.

Продукција тромбоксана A2 индукована оксидативним стресом.

Директна активација тромбоцита повећеном концентрацијом катехоламинима.

Продукција COX-1 у другим ћелијама.

Убрзана продукција тромбоцита

Повећана продукција тромбоцита у коштаном сржи услед разних фактора.

Могући механизми резистенције на клопидогрел

Смањена биорасположивост

Неузимање лека

Недовољно дозирање терапије

Интеракција са другим лековима који се метаболишу путем цитохром оксидазе P-450 CYP3A4 ензима.

Генетски фактори

Полиморфизам P2Y12 гена. Полиморфизам гена за цитохром оксидазу P-450 CYP3A4.

Индивидуална варијабилност базалне функције тромбоцита

Повећана базална реактивност тромбоцита.

Дијабетес, резистенција на инсулин, повећан боди мас индекс.

Усходна регулација других путева активације тромбоцита услед стреса.

Варијације метаболизма цитохром оксидазе P-450 CYP3A4.

Убрзана продукција тромбоцита

Повећана продукција тромбоцита у коштаном сржи услед разних фактора.

Учесталост резистенције на антиагрегациону терапију зависи и од методе којима се она мери, а такође још увек нису установљене референтне вредности када можемо рећи да постоји слабији ефекат или резистенција на терапију.

Данас је у употреби више различитих метода и тестова којима се прати ефекат АСК и клопидогрела. Нису све методе подједнако ефикасне у мерењу ефекта антиагрегационе терапије па се учесталост резистенције на АСК или тиенопиридине кретао распону од 5-30%, у зависности од методе и дефиниције резистенције (29, 30).

Резултати мерења ефекта АСК и клопидогрела уз помоћ *multiplate* анализатора у неколико истраживања били су у корелацији са резултатима других методама попут светлосне трансмисионе агрегометрије, проточне цитометрије, као и других *point of care* метода (31), тако да се због своје једноставности и брзине све овај метод све чешће примењује.

Значај примене *multiplate* анализатора у клиничкој пракси показала је група истраживача која је утврдила повезаност исхемијских кардиоваскуларних догађаја код пацијената са инфарктом миокарда код којих је урађена примарна перкутана коронарна интервенција и смањеног оговора на клопидогрел мереног АДП тестом. Пацијенти чија је вредност АДП теста била у највишем квантилу вредности, су имали значајно већу учесталост поновних исхемијских кардиоваскуларних догађаја (32, 33).

2. Циљеви и хипотезе студије

Циљеви:

1. Испитати утицај различитих врста бета блокатора (бисопролол, карведилол, небиволол, метопролол) на агрегабилност тромбоцита индуковану АДП-ом (АДП тест), арахидонском киселином (АСПИ тест) и тромбин рецептор активишућим протеином (ТРАП тест) код пацијената на двојној антиагрегационој терапији.

2. Испитати да ли постоје разлике у проценту редукције тромбоцитне активације арахидонском киселином и АДП-ом у односу на базални ниво функције тромбоцита (однос АДП/ТРАП, АСПИ/ТРАП) између група пацијената са различитом врстом бета блокатора (бисопролол, карведилол, небиволол, метопролол) код пацијената на двојној антиагрегационој терапији.

Радне хипотезе

Неселективни бета блокатори, као и бета блокатори са додатним особинама попут ефекта на стабилизацију ћелијске мембране или индукцију стварања азот монооксида показује израженији антиагрегациони ефекат од чистих β_1 селективних бета блокатора.

3. Материјал и методе

3.1. Врста студије

У питању је клиничка, не рандомизована, проспективна студија.

3.2. Испитивана популација

Истраживање је обухватило 331 пацијента, оба пола, без старосних ограничења, који су хоспитализовани ради лечења или дијагностике коронарне болести срца на Клиници за кардиологију КЦ Крагујевац у току 2011. године.

3.2.1. Услови за укључење у студију:

- 1) Документована коронарна болест изузев акутног инфаркта миокарда.
- 2) Континуирана антиагрегациона терапија: АСК и клопидогрел током најмање недељу дана пре укључења у студију.
- 3) Континуирана примена лека из групе бета блокатора током најмање месец дана пре укључења у студију.

3.2.2. Услови за искључење из студије

- 1) Прекид узимања бета блокатора у току месец дана пре укључења у студију, као и замена бета блокатора другим месец дана пре укључења у студију.
- 2) Прекид антиагрегационе терапије недељу дана пре укључења у студију.
- 3) Истовремена примена неког другог антиагрегационог медикамента: дипиридамол, абциксимаб, тирофибан, ептифибатиб, прасугрел у току укључења у студију.

3.3. Опис свих поступака које смо спроводили

3.3.1. Анализе које су рађене

Мерење агрегабилности тромбоцита

Након укључења пацијената у студију, у току хоспитализације на Клиници за кардиологију узете су анализе крви ради одређивања нивоа агрегабилности тромбоцита. Мерење агрегабилности је се спроведено у хематолошкој лабораторији Клинике за Интерну медицину КЦ Крагујевац помоћу Multiplate анализатора (Dynabite, Минхен, Немачка).

Поступак мерења агрегабилности тромбоцита састоји од хепаринизације узорака пуне крви (10 mL) помоћу 5 000 интернационалних јединица нефракционисаног хепарина, инкубације на собној температури, након чега су уз помоћ аутоматске пипете узорци пребачени у кивете за тестирање и разблажени физиолошким раствором у односу 2:1 (300 μ L узорка и 300 μ L sol NaCl 0,9%). По додавању реагенаса: АДП-а (6,4 μ M) за АДП тест, арахидонске киселине за АСПИ тест (0,5mM) и тромбин рецептор активишућег пептида за ТРАП тест (32 μ g/ml), мерили смо промену електричне импеданце између 2 електроде у кивети за тестирање у току 6 минута, која настаје услед агрегације тромбоцита на њиховој површини. Промена електричне импеданце изражена је кроз арбитрарне јединице у минути (AJ/ мин).

Вредност АДП теста нам показује степен агрегабилности тромбоцита индукован АДП-ом. Како је клопидогрел антагониста рецептора АДП-а (P2Y₁₂ рецептора), овим тестом се може измерити ефекат клопидогрела на агрегабилност тромбоцита.

Вредност АСПИ теста нам показује степен агрегабилности тромбоцита индукован арахидонском киселином. Како АСК блокира стварање арахидонске киселине овим тестом се може измерити ефекат АСК на агрегабилност тромбоцита.

ТРАП тест се користи за процену ефекта гликопротеинских инхибитора П₂/П₁, и на његову вредност не утиче терапија АСК-ом и у занемарљиво малој мери клопидогрелом. У условима када пацијенти не користе инхибиторе гликопротеинских

рецептора П₂У/Ша ТРАП тест нам може показати ниво базалне агрегабилности тромбоцита, односно вредности пре увођења АСК и клопидогрела.

Ефекат антиагрегационе терапије: АСК и клопидогрела процењиван је на два начина:

- мерењем вредности АДП теста (за ефекат клопидогрела), односно АСПИ теста (за АСК), при чему већа добијена вредност поменутих тестова указује на већу резидуалну агрегабилност тромбоцита и слабији ефекат антиагрегационих лекова.
- односом АДП/ТРАП односно АСПИ/ТРАП (израженог у процентима) који нам говори колики је проценат резидуалне активности тромбоцита у односу на базалну вредност, односно у ком проценту је смањена АДП и арахидонат индукована агрегабилност тромбоцита у односу на почетну вредност.

Остале лабораторијске анализе

Истог дана по узимању узорка крви за мерење агрегабилности тромбоцита узети су узорци крви из којих су урађене следеће лабораторијске анализе:

- Параметри комплетне крвне слике: број еритроцита, леукоцита, тромбоцита, концентрација хемоглобина у крви. Анализе су рађене у лабораторији Клинике за хематологију КЦ Крагујевац. Референтне вредности броја леукоцита биле су $4,5-11 \times 10^9/L$, броја еритроцита $3,83-5,08 \times 10^{12}/L$, броја тромбоцита $158,7-387,7 \times 10^9/L$.
- Параметри хемостазе: ИНР, аПТТ, фибриноген. Анализе су рађене у лабораторији Клинике за хематологију КЦ Крагујевац. Референтна вредност за ИНР била је 0,9-1,1, аПТТ 24-35 секунди, фибриноген 2,0-4,5 g/L.
- Липидограм: холестерол, триглицериди, ЛДЛ, ХДЛ. Анализе су рађене у Служби за лабораторијску дијагностику КЦ Крагујевац. Референтне вредности за холестерол биле су 3,10-5,20 mmol/L, триглицериде 0,11-2,5 mmol/L, ХДЛ 1,10-2,5 mmol/L, док је ЛДЛ израчунаван на основу формуле Фридвалда (када су триглицериди били нижи од 4,5 mmol/L).

- Гликемија пре доручка. Анализа је рађена у Служби за лабораторијску дијагностику КЦ Крагујевац, референтна вредност била је 3,6-6,1 mmol/L.
- Биохуморални запаљенски маркер ЦРП. Анализа је рађена у Служби за лабораторијску дијагностику КЦ Крагујевац, при чему се не ради о високо сензитивној анализи ЦРП-а, па вредности ЦРП ниже од 5 mg/L нису могле да буду детектоване и сматране су негативним.
- Азотне материје: уреа, креатинин. Анализа је рађена у Служби за лабораторијску дијагностику КЦ Крагујевац. Референтна вредност за уреу била је 3,0-8,0 mmol/L, креатинин 49-106 μ mol/L.
- Ензими: аланин трансминаза, аспартат трансминаза, креатинин киназа укупна, креатинин киназа ЦКМБ изоформа, лактат дехидрогеназа. Анализа је рађена у Служби за лабораторијску дијагностику КЦ Крагујевац. Референтна вредност за аланин трансминазу била је 0-40 IU/L, за аспартат трансминазу 0-40 IU/L, за креатинин киназу 0-171 IU/L, за ЦКМБ изоформу 0-25 IU/L, а за лактат дехидрогеназу 220-450 IU/L.

3.3.2. Подаци који су прикупљани

У оквиру студије у разговору са пацијентима и увидом у медицинску документацију прикупљани су следећи подаци:

- Демографски подаци (пол, старост).
- Заступљеност фактора ризика за КБС (хипертензија, хиперлипидемија, дијабетес, позитиван хередитет, пушење). Хипертензија је дефинисана као вредност систолног притиска изнад 140mm Hg или дијастолног изнад 90mm Hg. Хиперлипидемија као вредност холестерола > 5,2 mmol/L, ЛДЛ-а >4,1 mmol/L или триглицерида > 1,9 mmol/L).
- Подаци о хитности процедуре: хитни пацијенти имали су заказану хоспитализацију унутар првих 30 дана од дана постављана индикације за хоспитализацију, а елективни пацијенти су имали заказану хоспитализацију након месец дана од дана постављања индикације за хоспитализацију.

- Подаци о претходним исхемијским догађајима и интервенцијама на срцу и коронарним артеријама: ранији инфаркт миокарда, ЦВИ, перкутана коронарна интервенција, аортокоронарна бајпас операција.
- Подаци о терапији коју су пацијенти користили укључујући врсту лека, дозу као и дужину узимања. Посебна пажња посвећена је кардиоваскуларним лековима: бета блокаторима, статинима, калцијумским блокаторима, АЦЕ инхибиторима, нитратима, антикоагулантној терапији, као и лековима попут инхибитора протонске пумпе, блокатора хистаминских рецептора, нестероидних антиреуматика, кортикостероида.
- Подаци о другим болестима који су пацијенти прележали или од којих се лече: емболија плућа, периферна болест артерија, улкус дуоденума и желуца, претходно значајно крварење, флеботромбоза, системска аутоимуна болеста, полицитемија, хронична опструктивна болест плућа, астма, малигна болест.

3.4. Статистичке методе

Подаци су обрађени методама дескриптивне и аналитичке статистике. У зависности од добијене расподеле користили смо анализу варијанси или Kruskal-Wallis-ов тест за поређење група са различитом врстом бета блокатора у односу на вредности АДП, АСПИ и ТРАП теста.

Униваријантним статистичким анализама испитали утицај независних варијабли на посматрани исход-вредност АДП, АСПИ, ТРАП теста, као и однос АДП/ТРАП, АСПИ/ТРАП. Фактори који су се у униваријантним анализама издвојили као значајни ушли су у мултиваријантни модел, помоћу кога су идентификовани независни прогностички фактори.

4. Резултати

4.1. Демографске и клиничке карактеристике популације пацијената

Истраживање је обухватило 331 пацијента, који су лечени на Клиници за кардиологију КЦ Крагујевац у току 2011. године. Пацијенти су подељени у четири групе у зависности од врсте бета блокатора који су користили. Највише пацијената било је у групи која је користила бисопролол 157, потом у групи која је користила небиволол 76, а најмање у групама које су користиле карведилол 54 и метопролол 44 пацијента.

Демографске и клиничке карактеристике пацијената су приказане у табели 1.

Није било статистички значајне разлике у демографским карактеристикама као што су старост, пол пацијената између поређених група.

Од клиничких карактеристика постојала је статистички значајна разлика између група у погледу заступљености ранијих кардиоваскуларних интервенција (перкутана коронарна интервенција, аорткоронарна бајпас операција) или прележаних кардиоваскуларних догађаја као што су ранији инфаркт миокарда или ЦВИ. Највећи проценат пацијената који су претходно прележали инфаркт миокарда био је у групи која је користила карведилол, а највећи проценат пацијената који нису имали претходни кардиоваскуларни догађај или интервенцију био у групи која је користила бисопролол.

Фактори ризика изузев хипертензије су били подједнако заступљени између група. Највећи проценат пацијената који су се лечили од хипертензије био је у групи која је користила бисопролол, а најмањи у групи која је користила метопролол.

Табела 1: Демографске и клиничке карактеристике пацијената

Бета блокатори		Бисопролол	Небиволол	Карведилол	Метопролол	Значајност
Број пацијената (% од укупног броја)		157 (47%)	76 (23%)	54 (16%)	44 (13%)	
Старост пацијената		62,32 ± 9,48	63,08 ± 8,98	66,11 ± 9,0	63,56 ± 9,08	0,08 ^a
Пол	Мушкарци	63,7 %	72,4 %	61,1 %	65,9 %	0,517 ^б
	Жене	36,3 %	27,6 %	38,9 %	34,1 %	
Хитност	Хитни	47,8 %	36,8 %	48,1 %	52,3 %	0,313 ^б
	Елективни	52,2 %	63,2 %	51,9 %	47,7 %	
Раније болести	Ангина пекторис	38,9 %	32,9 %	22,2 %	40,9 %	0,036 ^{*б}
	Инфаркт	47,8 %	46,1 %	63,0 %	54,5 %	
	ПКИ	10,2 %	21,1 %	11,1 %	2,3 %	
	Бајпас оп.	3,2%	0 %	3,7 %	2,3 %	
ХТА	Има	93,0 %	86,8 %	94,4 %	79,5 %	0,030 ^{*б}
	Нема	7,0 %	13,2 %	5,6 %	20,5 %	
ХЛП	Има	64,3 %	63,2 %	64,8 %	70,5 %	0,869 ^б
	Нема	35,7 %	36,8 %	35,2 %	29,5 %	
Пушење	Да	31,2 %	26,3%	14,8 %	36,4 %	0,070 ^б
	Не	68,8 %	73,7 %	85,2 %	63,6 %	
Херидитет	Има	51,0 %	46,1 %	48,1 %	59,1 %	0,566 ^б
	Нема	49,0 %	53,9 %	51,9 %	40,9 %	
Дијабетес	Има	28,7 %	26,3 %	35,2 %	27,3 %	0,719 ^б
	Нема	71,3 %	73,7 %	64,8 %	72,7 %	

^a АНОВА, ^б Хи квадрат тест, ^{*} значајност на нивоу 0.05

4.2. Терапија коју су пацијенти користили

У табели 2 приказана је заступљеност група кардиоваскуларних лекова код пацијената.

Табела 2: Заступљеност група кардиоваскуларних лекова код група пацијената.

Бета блокатори		Бисопролол	Небиволол	Карведилол	Метопролол	р
Нитрати	Има	65,6 %	57,9 %	70,4 %	72,7 %	0,317 ^б
	Нема	34,4 %	42,1 %	29,6 %	27,3 %	
Статини	Нема	20,4 %	13,2 %	11,1 %	13,6 %	0,302 ^б
	Аторвастатин	69,4 %	71,1 %	74,1 %	61,4 %	
	Симвастатин	3,8%	7,9 %	5,6 %	13,6 %	
	Правастатин	6,4 %	7,9 %	9,3 %	11,4 %	
Ихибитор протонске пумпе	Нема	64,3 %	76,3 %	74,1 %	75,0 %	0,314 ^б
	Пантопразол	30,6 %	19,7 %	25,9 %	20,5 %	
	Омепразол	5,1 %	3,9 %	0 %	4,5 %	
АЦЕ / АТ инхибитори	Нема	21,0 %	30,3 %	16,7 %	22,7 %	0,154 ^б
	Рамиприл	45,9 %	35,5 %	35,2 %	40,9 %	
	Квинаприл	5,7 %	7,9 %	9,3 %	11,4 %	
	Зофеноприл	5,7 %	2,6 %	3,7 %	0 %	
	Периндоприл	5,1 %	3,9 %	3,7 %	2,3 %	
	Фосиноприл	9,6 %	10,5 %	18,5 %	6,8 %	
	Еналаприл	3,2 %	2,6 %	9,3 %	15,9 %	
	Лизиноприл	2,5 %	3,9 %	3,7 %	0 %	
	Лосартан	2,5 %	3,9 %	3,7 %	0 %	
Триметаци дин	Има	15,3 %	15,8 %	20,4 %	11,4 %	0,674 ^б
	Нема	84,7 %	84,2 %	79,6 %	88,6 %	
Калцијум. блокатор	Има	17,8 %	19,7 %	24,1 %	15,9 %	0,720 ^б
	Нема	82,2 %	80,3 %	75,9 %	84,1 %	

^б Хи квадрат тест, * значајност на нивоу 0,05

Познато је да поред лекова са антиагрегационим дејством попут АСК, тиенопиридина и други кардиоваскуларни лекови лекови могу да испоље ефекат на функцију тромбоцита, а самим тим и на резултат мерења њихове функције. Различите групе кардиоваскуларних лекова: нитрати, статини, инхибитори протонске пумпе, АЦЕ инхибитори, АТ блокатори, триметацидин, калцијумски антагонисти, који су пацијенти редовно користили пре укључења и током студије су биле подједнако заступљене код поређених група пацијената.

У оквиру посматраних група лекова (статини, инхибитори протонске пумпе-ИПП, АЦЕ инхибитори) није било сигнификантне разлике у заступљености појединачних врста лекова код поређених група.

4.3. Вредности лабораторијских параметара код поређених група

Вредности лабораторијских параметара који су праћени код пацијената су приказане у табели 3а, док су вредности параметара хемостазе приказане у табели 3б.

Табела 3а: Вредност лабораторијских параметара између поређених група

Бета блокатори		Бисопролол	Небиволол	Карведилол	Метопролол	р
АСТ	Средња вр.	23,26±11,52	26,67±23,83	31,00±45,70	23,39±11,37	0,610 ^Б
	Медијана	21	21	21	21	
АЛТ	Средња вр.	24,85±13,29	25,77±25,54	28,82±19,67	26,38±13,25	0,563 ^Б
	Медијана	21,5	21	24	23	
Холестерол	Средња вр.	4,84±1,39	4,70±1,37	4,37±1,40	5,17±1,54	0,145 ^Б
	Медијана	4,65	4,35	3,9	4,67	
ТГЛ	Средња вр.	1,56±0,86	1,48±0,98	1,49±0,99	1,9±1,03	0,084 ^Б
	Медијана	1,4	1,11	1,33	1,64	
ЛДЛ	Средња вр.	3,10±1,23	2,77±0,99	2,87±1,28	3,19±1,27	0,437 ^Б
	Медијана	2,9	2,53	2,5	2,875	
ХДЛ	Средња вр.	0,95±0,34	1,12±0,64	0,95±0,36	1,07±0,30	0,216 ^Б
	Медијана	0,9	1,02	0,845	1	
Гликемија	Средња вр.	7,48±2,65	6,64±2,31	7,18±2,70	7,15±3,33	0,424 ^Б
	Медијана	6,0	5,8	6,3	5,7	
Уреа	Средња вр.	8,10±10,74	8,25±9,60	6,78±2,21	5,54±1,77	0,100 ^Б
	Медијана	5,6	6,2	6,6	5,6	
Креатинин	Средња вр.	97,44±82,47	107,6±74,40	105,3±68,68	79,37±18,29	0,028 ^Б
	Медијана	82,0	89,0	92,5	72,5	
ЛДХ	Средња вр.	378,75±121,49	419,81±124,02	435,7±161,92	417,0±126,33	0,198 ^А
	Медијана	371,0	387,0	429,5	440,0	
ЦК	Средња вр.	153,8±391,66	133,82±183,17	243,7±678,28	143,2±290,08	0,563 ^Б
	Медијана	96,5	90,0	88,0	85,5	
ЦРП	Средња вр.	8,25±16,18	5,0±4,81	9,73±10,72	11,06±28,79	0,184 ^Б
	Медијана	5,0	5,0	5,25	5,0	

^А АНОВА, ^Б Kruskal-Wallis тест, * значајност на нивоу 0,05

Табела 3 б: Вредности лабораторијских параметара хемостазе и комплетне крвне слике између поређених група

Бета блокатори		Бисопролол	Небиволол	Карведилол	Метопролол	p
Леукоцити	Средња вр.	7,49±1,97	7,0±1,66	7,47±2,20	6,99±2,19	0,352 ^a
	Медијана	7,16	6,74	6,95	6,3	
Еритроцити	Средња вр.	4,44±0,54	4,48±0,40	4,39±0,50	4,56±0,39	0,733 ^b
	Медијана	4,47	4,50	4,41	4,47	
Хемоглобин	Средња вр.	134,77±17,32	137,14±13,18	132,77±16,54	138,88±14,24	0,320 ^a
	Медијана	137,0	137,0	129,0	136,0	
Тромбоцити	Средња вр.	221,71±53,32	219,29±53,2	223,1±71,41	237,05±78,68	0,594 ^a
	Медијана	218,0	207,0	222,0	222,0	
ИНР	Средња вр.	1.01±0,15	1,03±0,13	1,09±0,45	1.01±0.11	0,267 ^b
	Медијана	0,98	1,00	1,0	0,98	
аПТТ	Средња вр.	25,87±5,04	27,07±5,40	24,36±4,93	26,02±2,81	0,176 ^b
	Медијана	25,0	26,0	25,0	25,0	
Фибриноген	Средња вр.	3,74±0,76	3,68±0,73	3,80±1,12	3,52±0,76	0,594 ^b
	Медијана	3,64	3,60	3,62	3,40	

^a АНОВА, ^b Kruskal-Wallis тест, * значајност на нивоу 0,05

Вредности лабораторијских параметара изузев концентрације креатинина се нису сигнификантно разликовале између поређених група. Није било статистички значајне разлике између група у вредностима лабораторијских параметара хемостазе, комплетне крвне слике као ни параметара запаљенског синдрома.

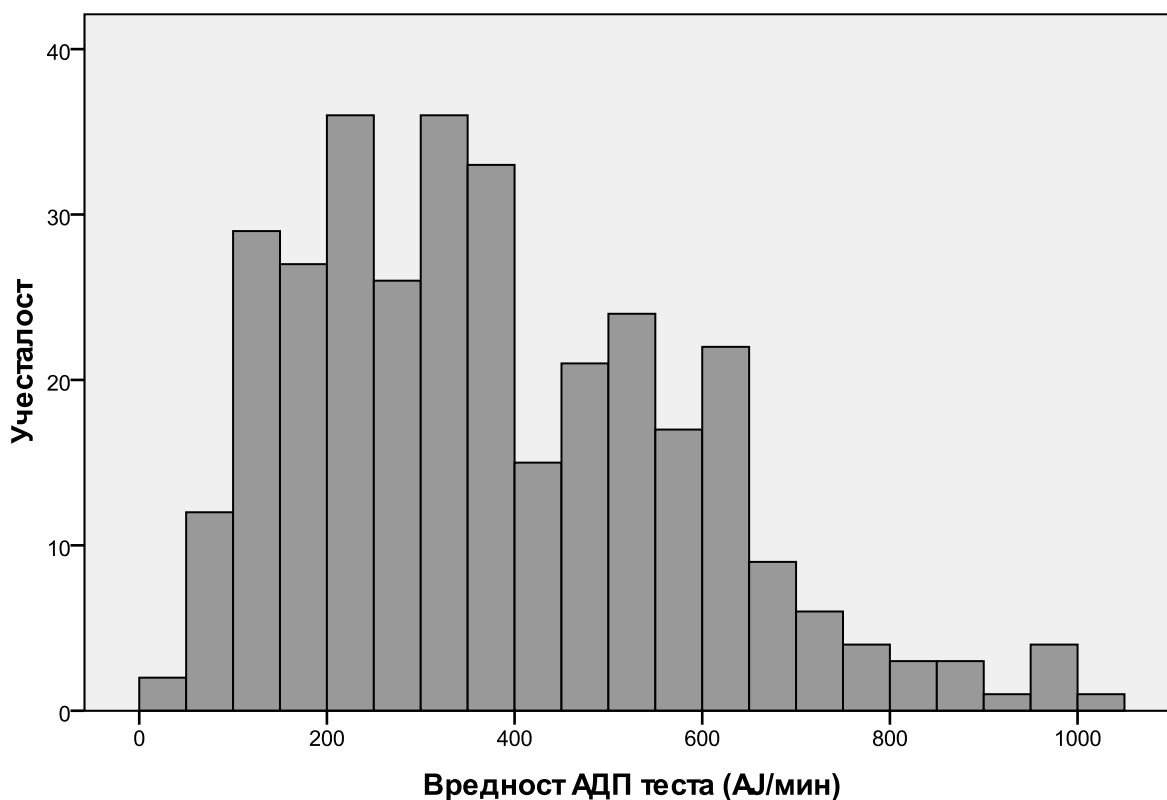
Познато је да поједини лабораторијски фактори попут броја тромбоцита, фактори запаљенског синдрома, фактори хемостазе могу да утичу на вредност тестова агрегабилности тромбоцита. У нашем случају вредности лабораторијских параметара се нису битније разликовале између поређених група, па би у подједнакој мери утицали на

добијене резултате тестова агрегабилности тромбоцита, а разлике између група не бисмо могли да припишемо њиховом утицају.

4.4. Утицај бета блокатора на АДП индуковану агрегабилност тромбоцита

Дистрибуција вредности АДП теста у целокупној испитиваној популацији приказана је у графику 1.

График 1: Дистрибуција вредности АДП теста у популацији пацијената



Средња вредност АДП теста у целокупној популацији износила је $378,20 \pm 203,52$ АЈ/мин, а медијана 347 АЈ/мин.

Како је расподела вредности АДП теста у целокупној популацији пацијената имала нормалну расподелу користили смо анализу варијанси како бисмо уочили разлике између поређених група.

Дистрибуција вредности АДП теста у оквиру група са различитом врстом бета блокатора је приказана у графицима 2-5.

График 2: Дистрибуција вредности АДП теста (група са биспрололом)

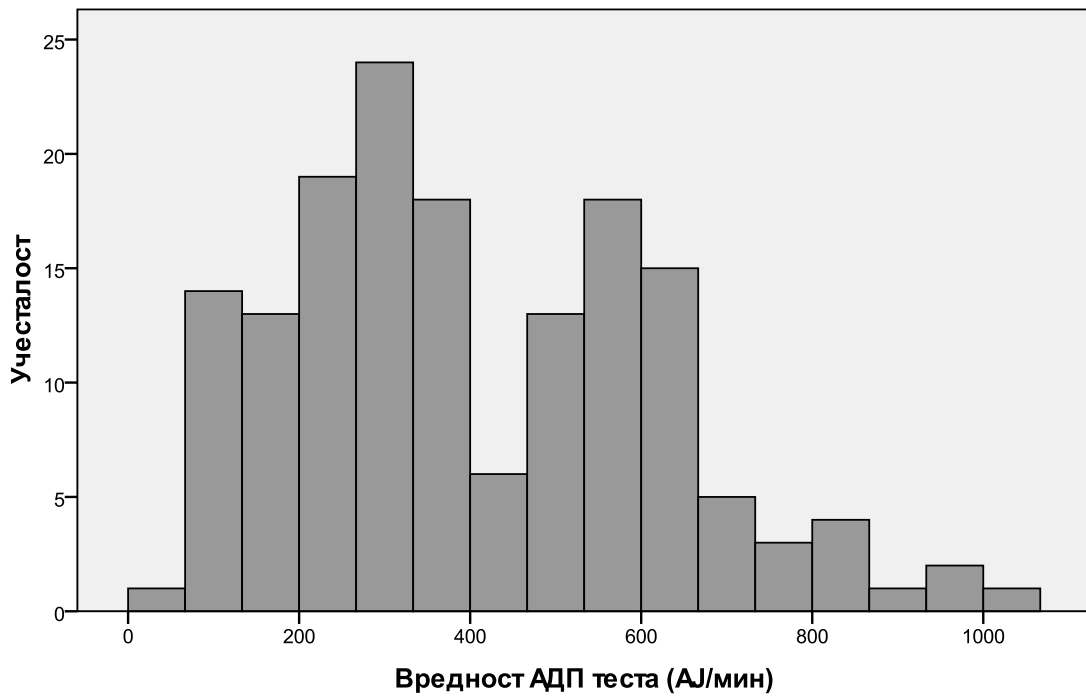


График 3: Дистрибуција вредности АДП теста (група са небивололом)

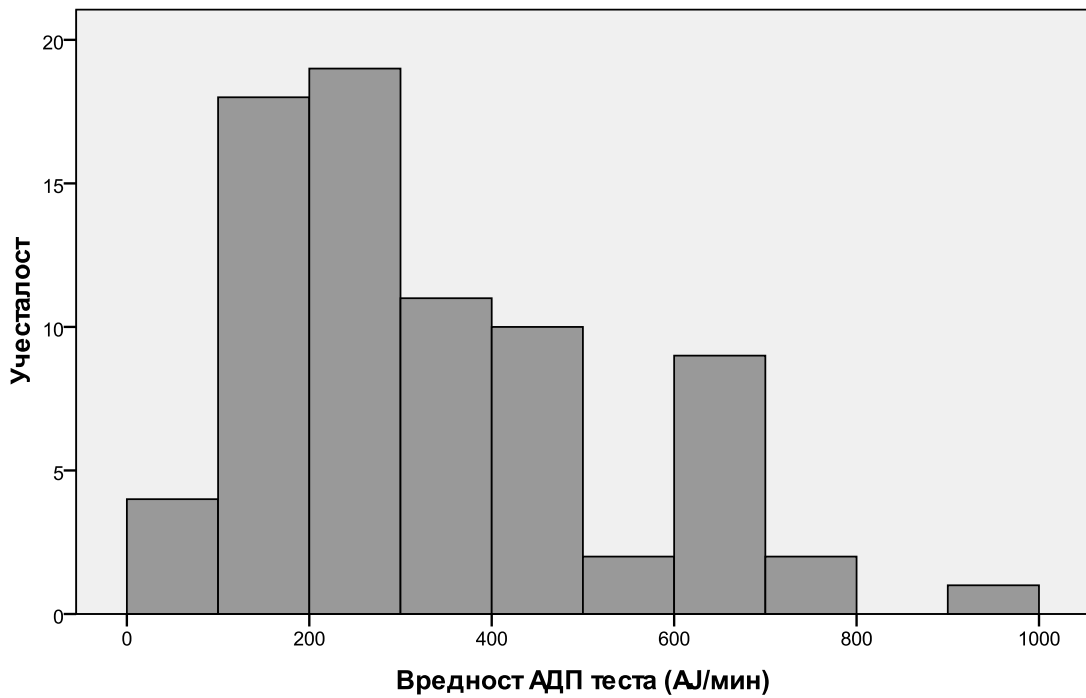


График 4: Дистрибуција вредности АДП теста (група са карведилолом)

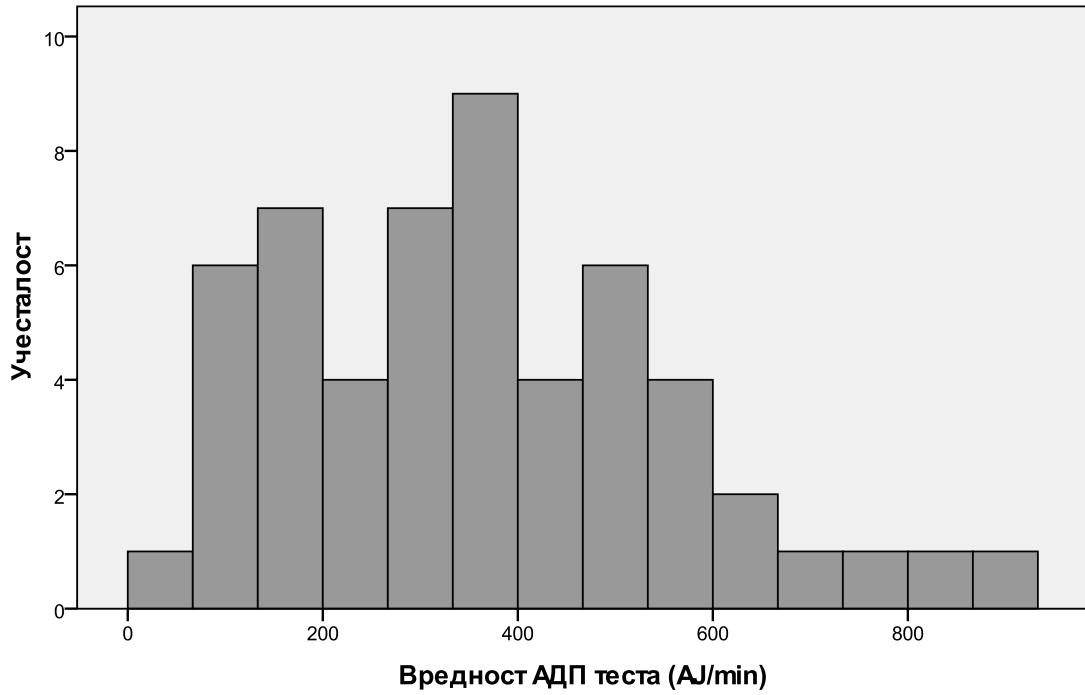
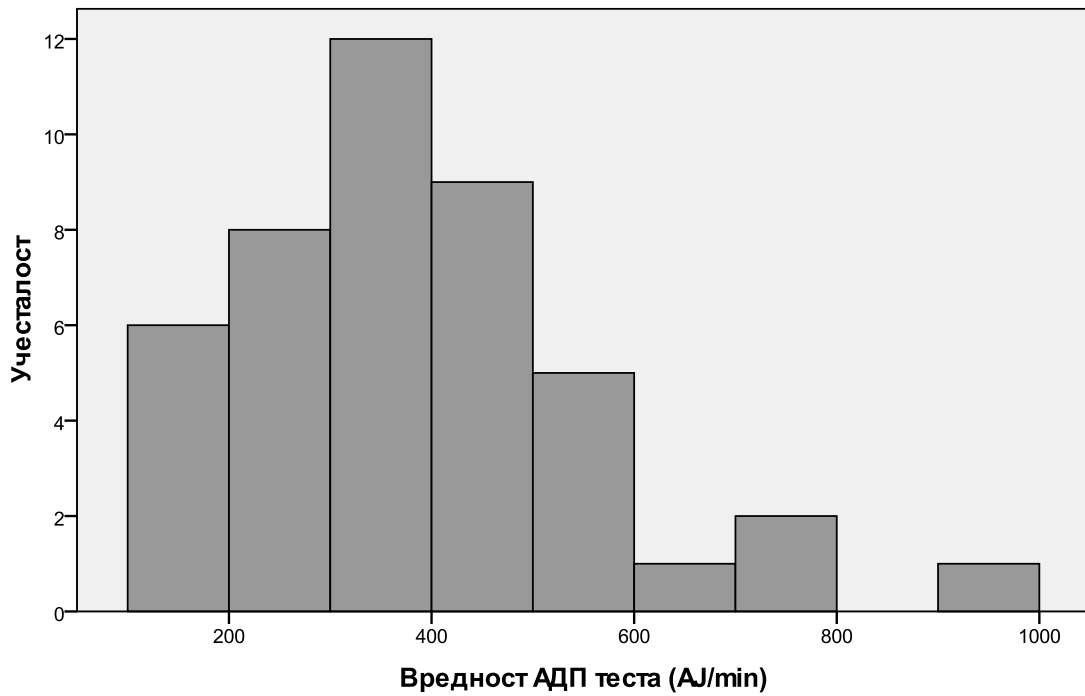
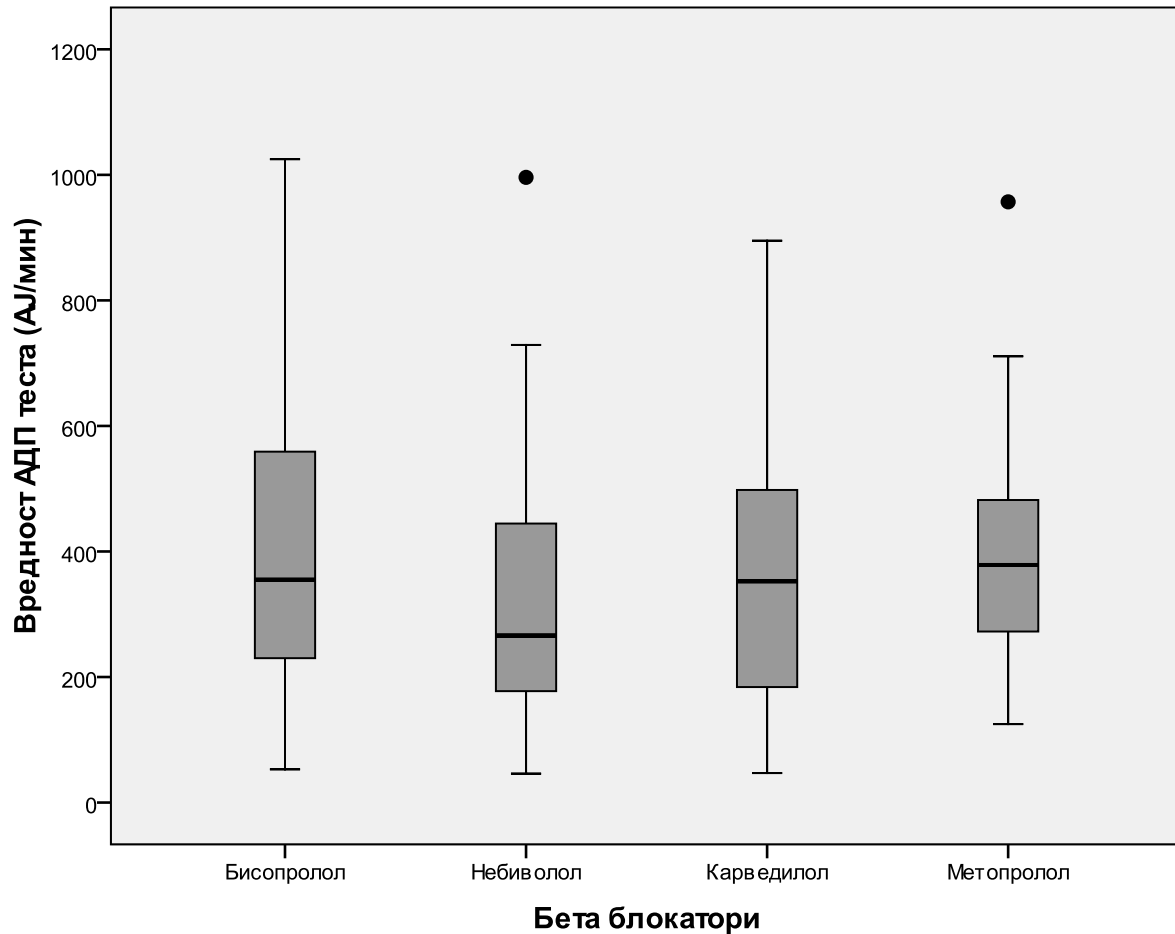


График 5: Дистрибуција вредности АДП теста (група са метопрололом)



У графику 6 смо приказали поређење дистрибуције вредности АДП теста између група са различитом врстом бета блокатора.

График 6: Дистрибуција вредности АДП теста између поређених група



Уочавамо да је вредност медијане најмања у групи са небивололом у односу на остале групе.

Табела 4 приказује средњу вредност, стандардну девијацију и медијану вредности АДП теста код поређених група.

Табела 4: Средња вредност и медијана вредности АДП теста код поређених група

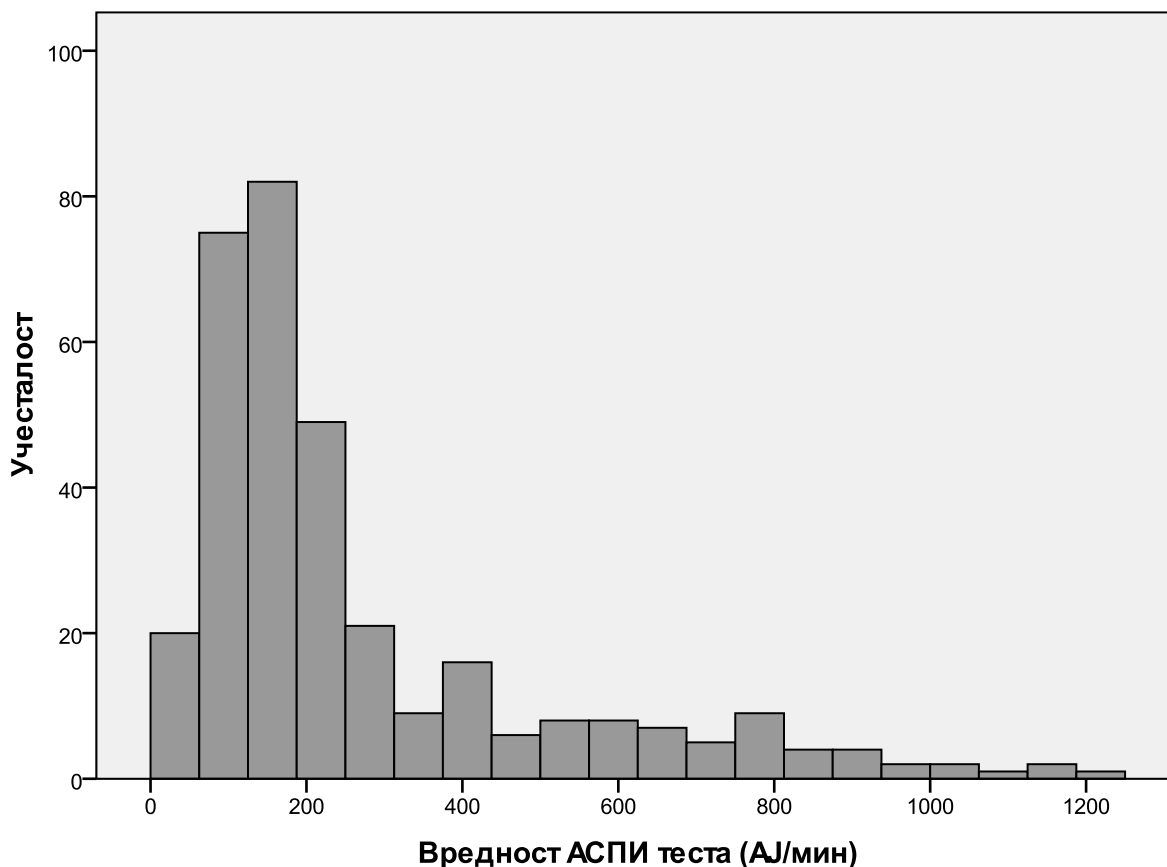
Бета блокатори	Бисопролол	Небиволол	Карведилол	Метопролол	р
Средња вредност АДП теста±стандардна девијација	403,7 ± 213,2	328,0 ± 197,3	365,9 ± 199,6	389,1 ± 169,8	0,059 ^a
Медијана	355	266	352,5	378,5	
^a АНОВА					

Анализа варијанси није показала статистички значајну разлику у вредности АДП теста између поређених група, али је добијени ниво значајности (0,059) био близу границе статистичке значајности (0,05).

4.5. Утицај бета блокатора на агрегабилност тромбоцита индуковану арахидонском киселином

Дистрибуција вредности АСПИ теста у целокупној испитиваној популацији приказана је у графику 7.

График 7: Дистрибуција вредности АСПИ теста у популацији пацијената



Средња вредност АСПИ теста у целокупној популацији била је $269,38 \pm 241,66$ АЈ/мин, а медијана 178 АЈ/мин.

Из графика се уочава да расподела вредности АДП теста у целокупној популацији пацијената није имала нормалну расподелу, па смо користили Kruscal-Wallis-ов тест како бисмо уочили разлике између поређених група.

Дистрибуција вредности АСПИ теста у оквиру група са различитом врстом бета блокатора је приказана у графицима 8-11.

График 8: Дистрибуција вредности АСПИ теста (група са бисопрололом)

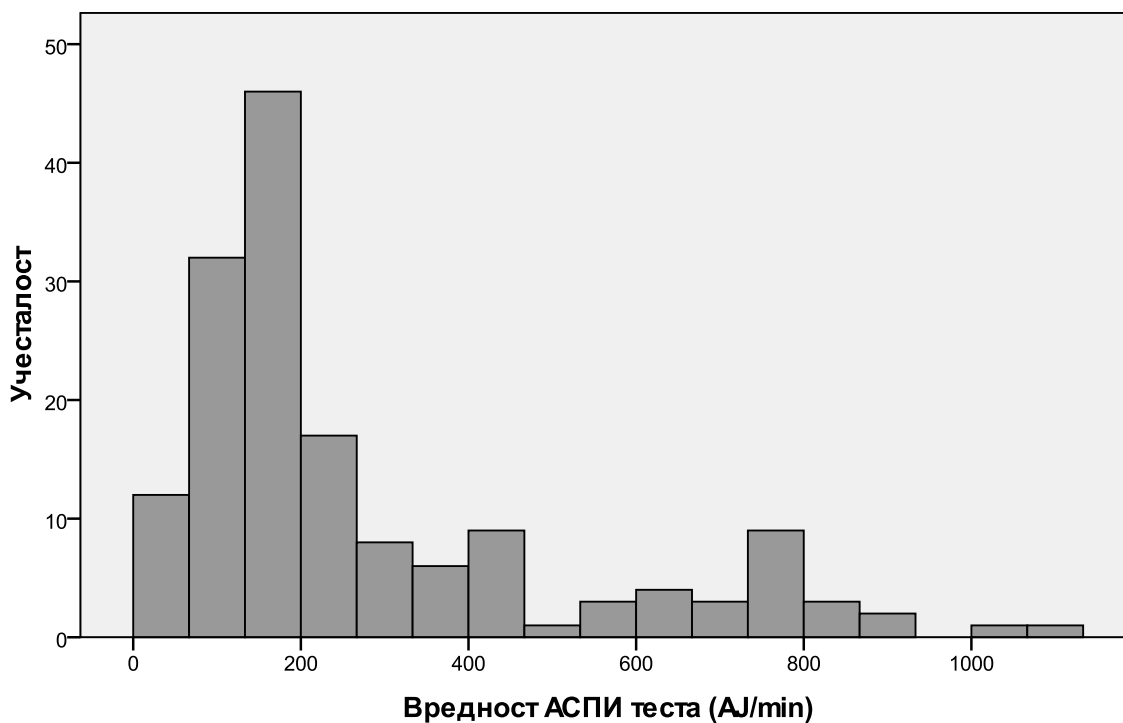


График 9: Дистрибуција вредности АСПИ теста (група са небивоололом)

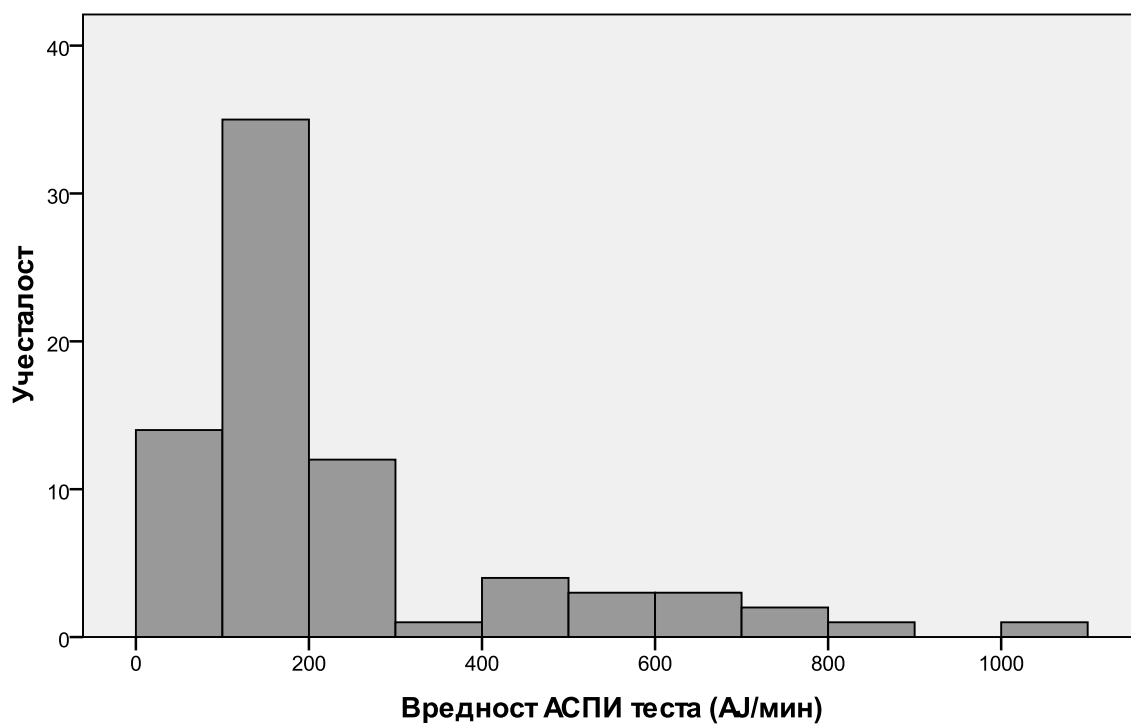


График 10: Дистрибуција вредности АСПИ теста (група са карведилолом)

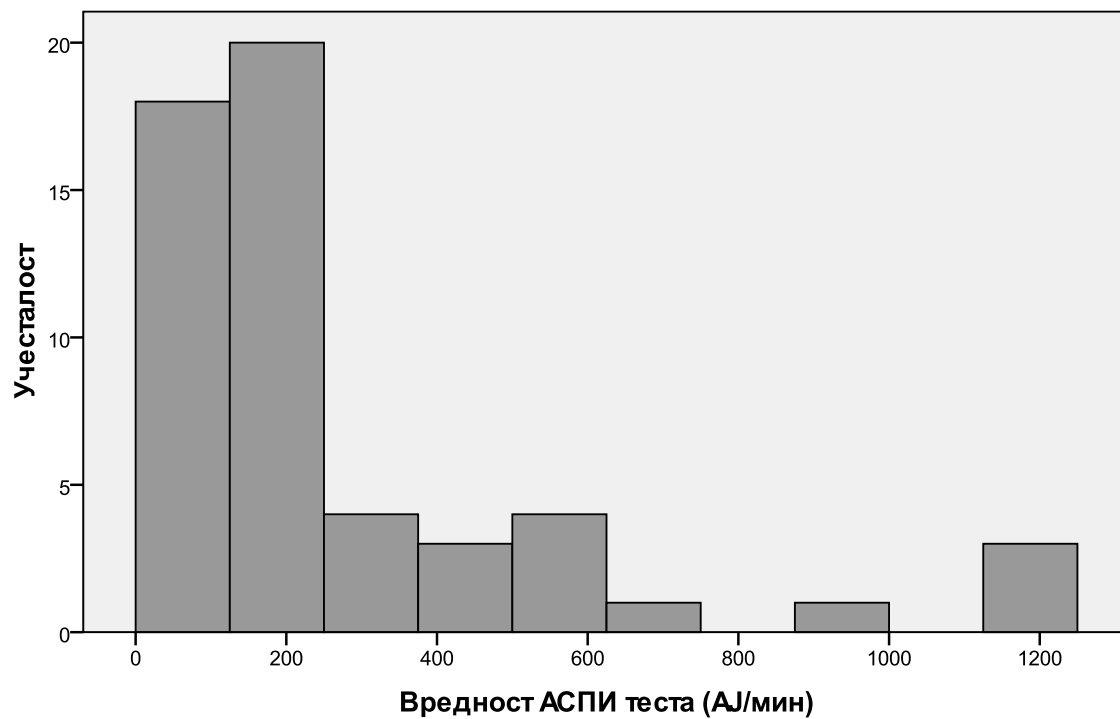
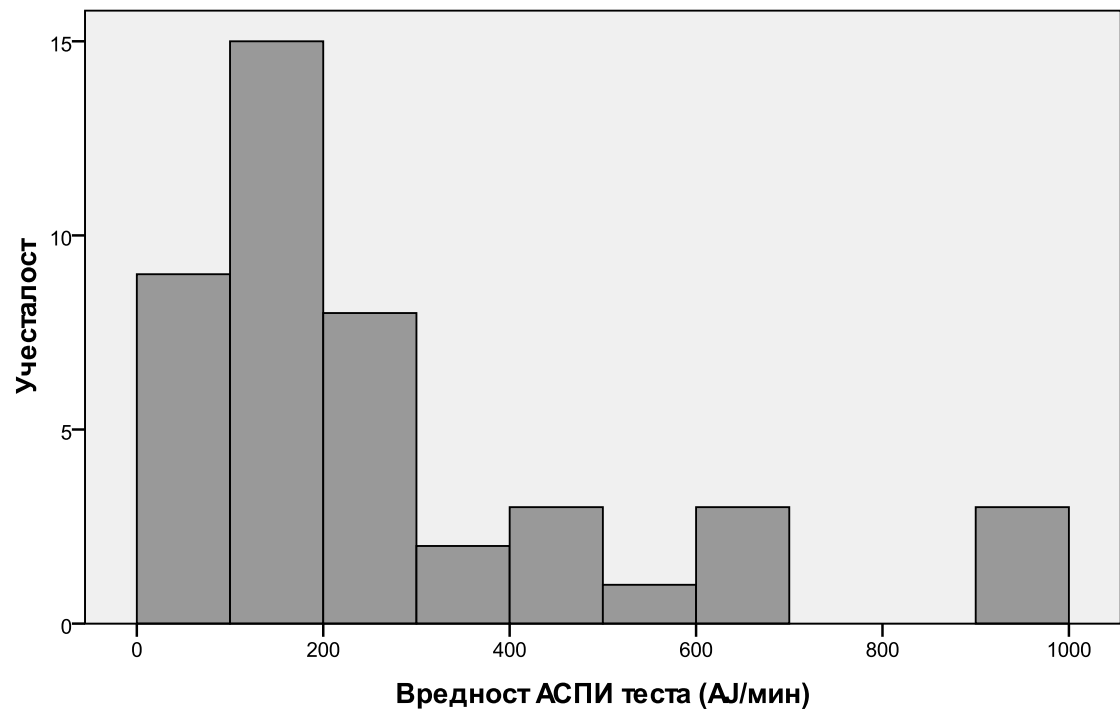
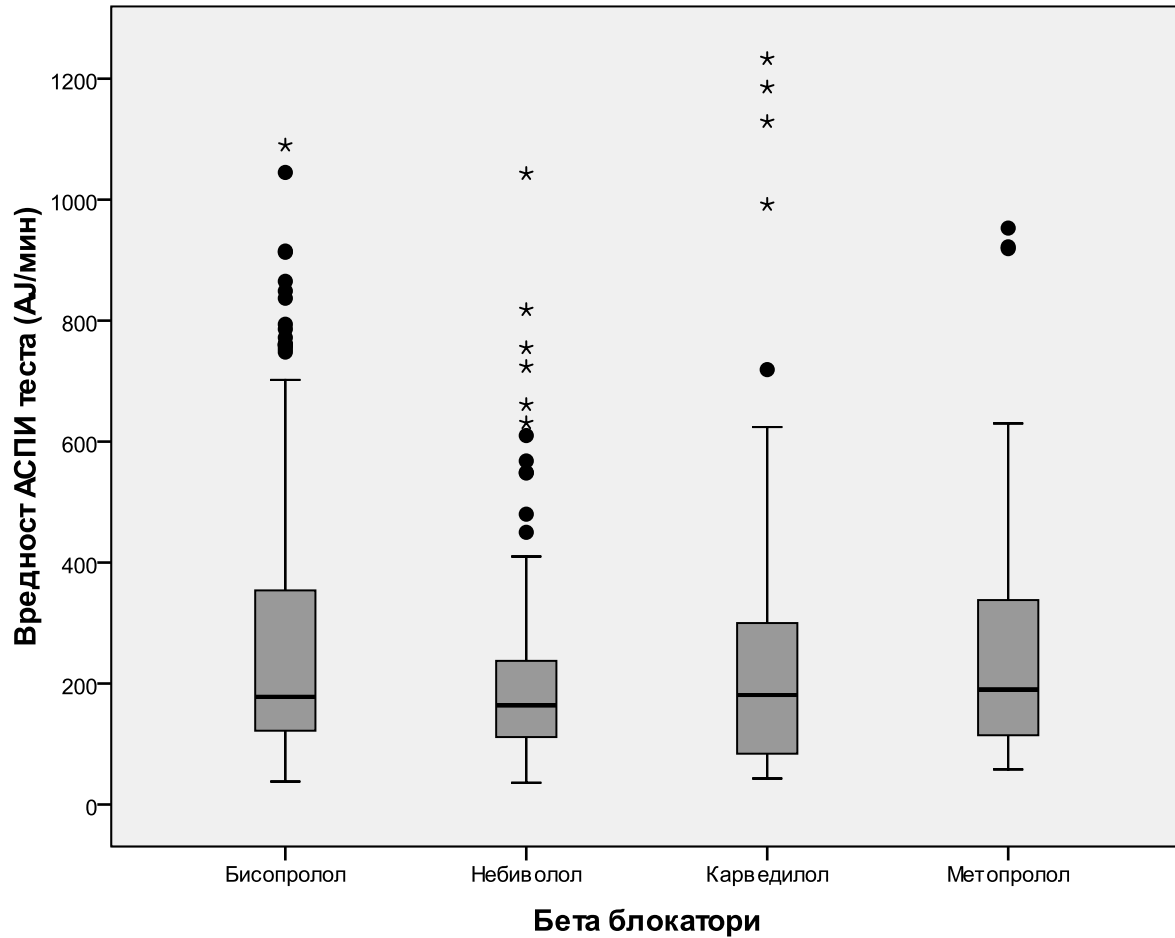


График 11: Дистрибуција вредности АСПИ теста (група са метопрололом)



У графику 12 смо приказали поређење дистрибуције вредности АСПИ теста између група са различитом врстом бета блокатора.

График 12: Дистрибуција вредности АСПИ теста између поређених група



Из графика уочавамо да се вредности медијане између поређених група нису битније разликовале.

Табела 5 приказује средњу вредност и медијану вредности АСПИ теста код поређених група.

Табела 5: Средња вредност и медијана вредности АСПИ теста код поређених група

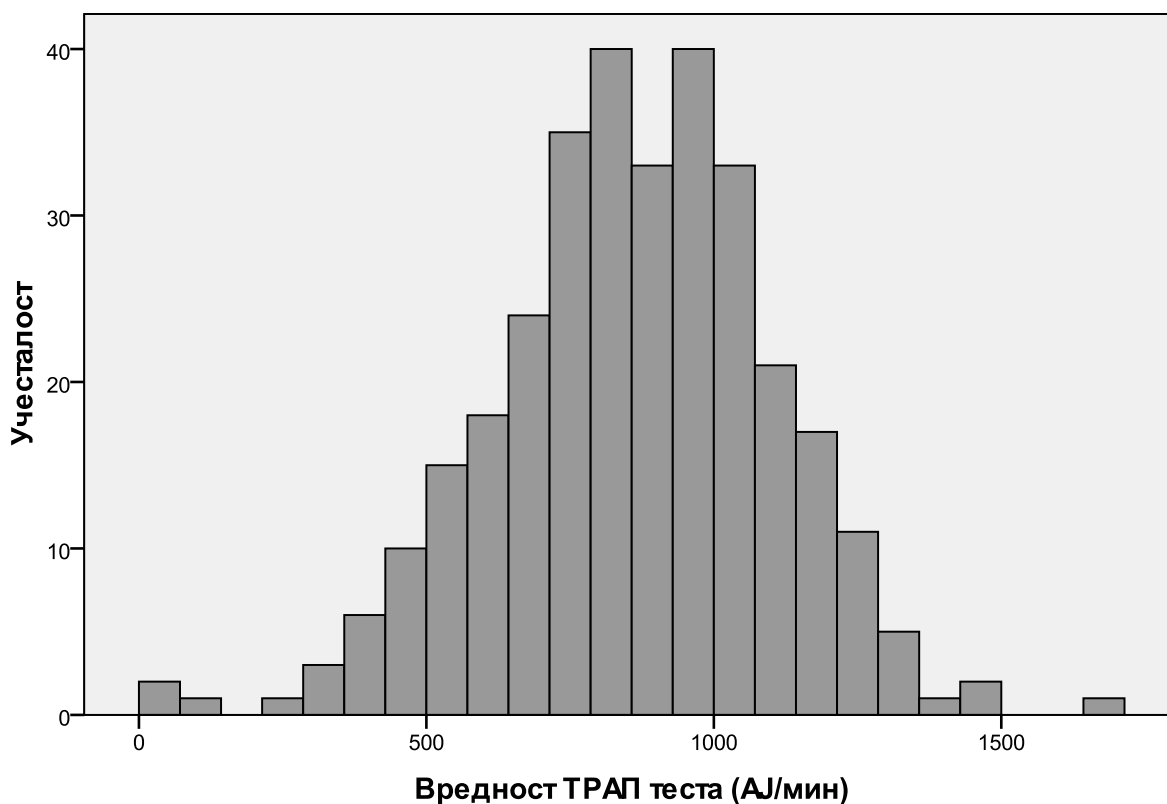
Бета блокатори	Бисопролол	Небиволол	Карведилол	Метопролол	р
Средња вредност АСПИ теста ± ст. девијација	281,6 ± 240,9	236,0 ± 206,3	273,8 ± 289,9	278,0 ± 239,2	
Медијана	178	164	181	190	0,48 ^Б
^Б Kruskal-Wallis тест					

Kruskal-Wallis-ов тест није показао статистички значајну разлику у вредности АСПИ теста између поређених група.

4.6. Утицај бета блокатора агрегабилност тромбоцита индуковану тромбин рецептор активишућим пептидом

Дистрибуција вредности ТРАП теста у целокупној испитиваној популацији приказана је у графику 13.

График 13: Дистрибуција вредности ТРАП теста у популацији испитаника



Средња вредност ТРАП теста у целокупној популацији пацијената била је $860,06 \pm 242,44$ АЈ/мин, а медијана 864 АЈ/мин.

Из графика се уочава да је расподела вредности ТРАП теста у целокупној популацији пацијената имала нормалну расподелу, па смо користили анализу варијанси како бисмо уочили разлике између поређених група.

Дистрибуција вредности ТРАП теста у оквиру група са различитом врстом бета блокатора је приказана у графицима 14-17.

График 14: Дистрибуција вредности ТРАП теста (група са биспрололом)

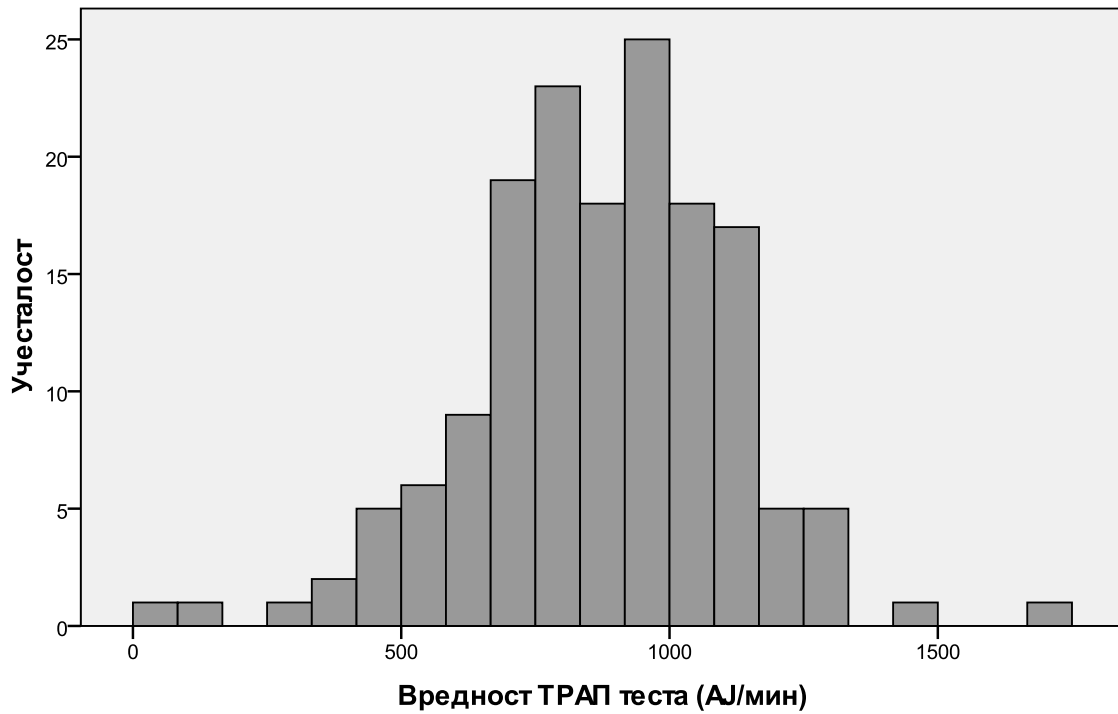


График 15: Дистрибуција вредности ТРАП теста (група са небивололом)

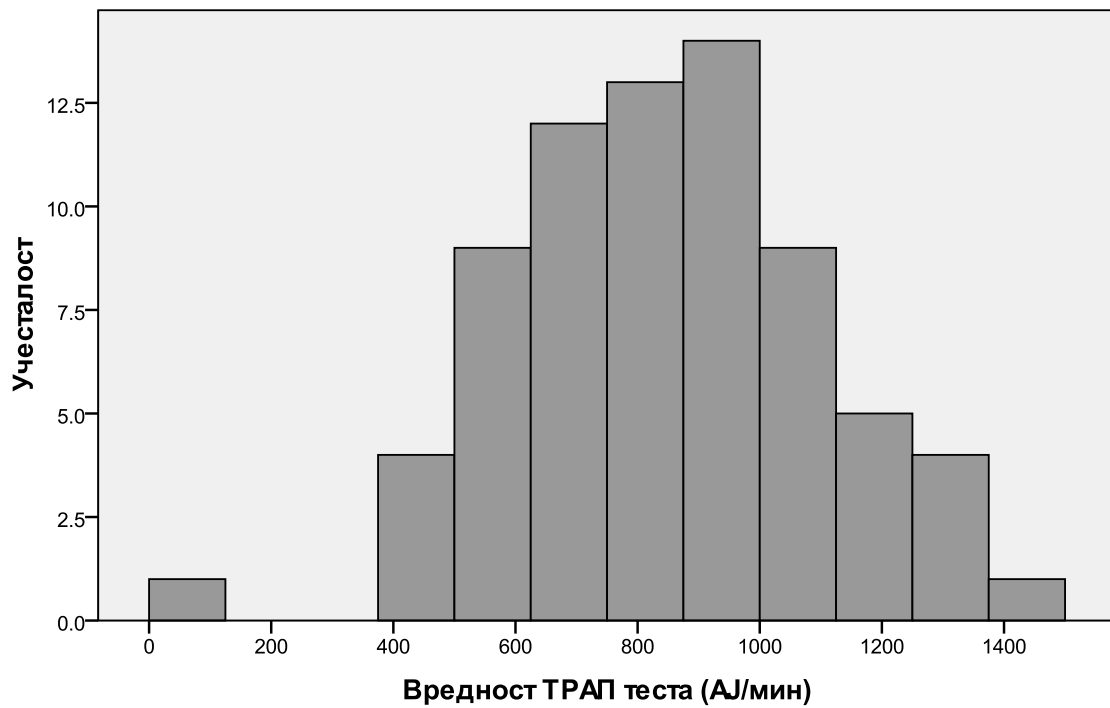


График 16: Дистрибуција вредности ТРАП теста (група са карведилолом)

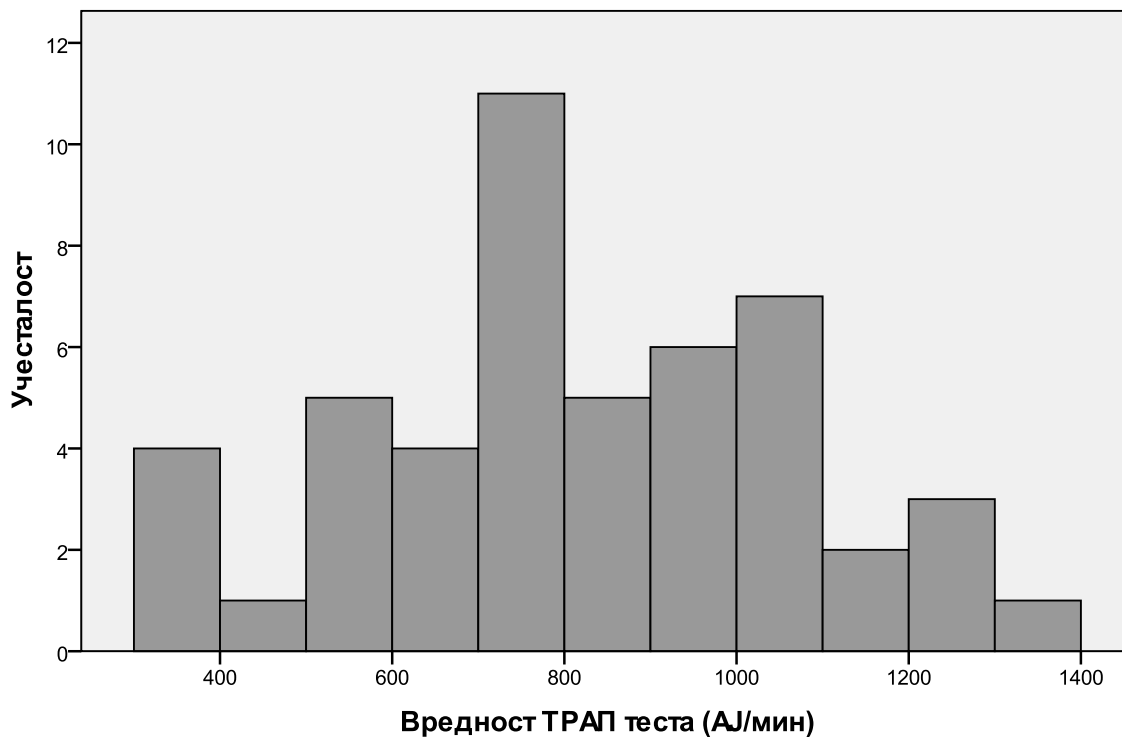
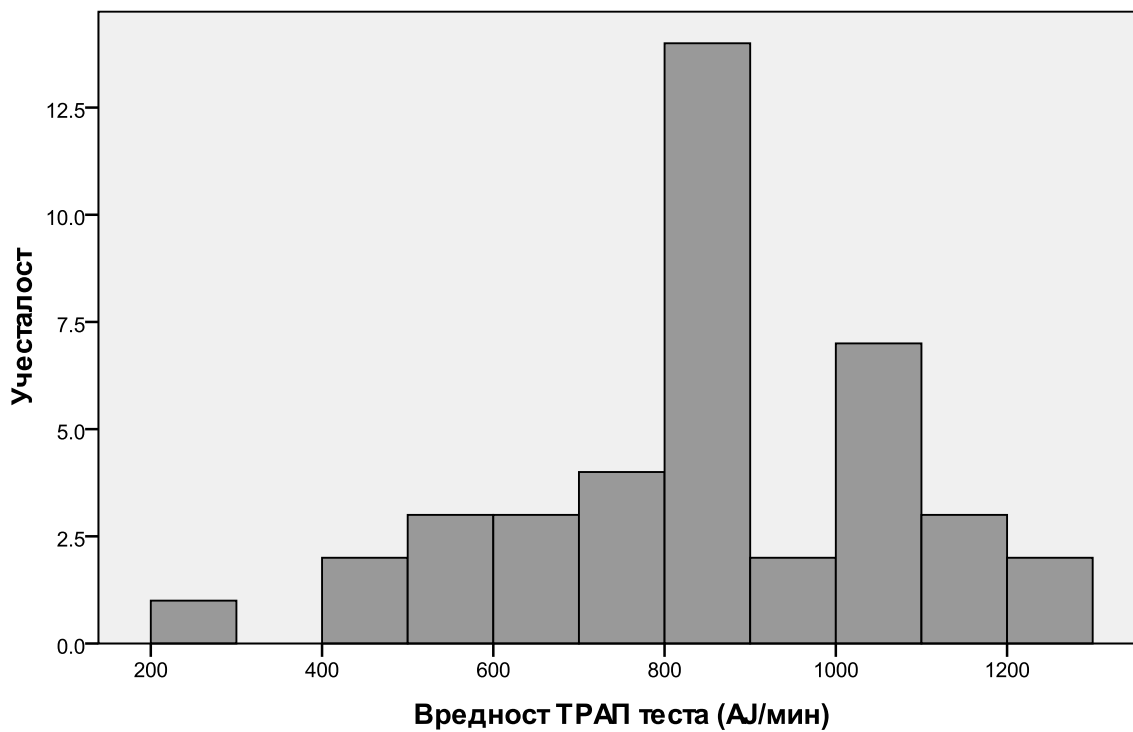
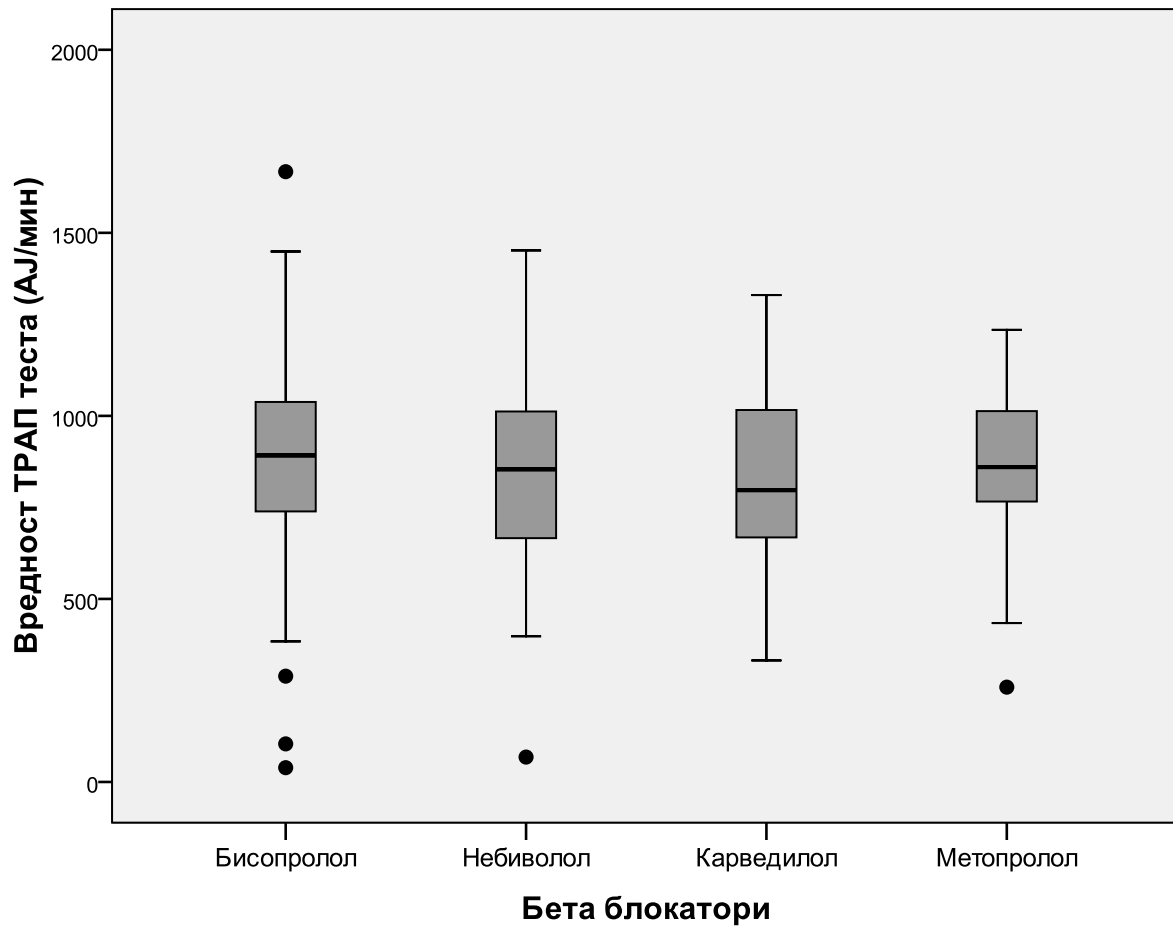


График 17: Дистрибуција вредности ТРАП теста (група са метопрололом)



У графику 18 смо упоредили дистрибуцију вредности ТРАП теста између група са различитом врстом бета блокатора.

График 18: Дистрибуција вредности ТРАП теста између поређених група



Вредности медијане између поређених група се нису битније разликовале.

Табела 6 приказује средњу вредност и медијану вредности ТРАП теста код поређених група.

Табела 6: Средња вредност и медијана вредности ТРАП теста код поређених група

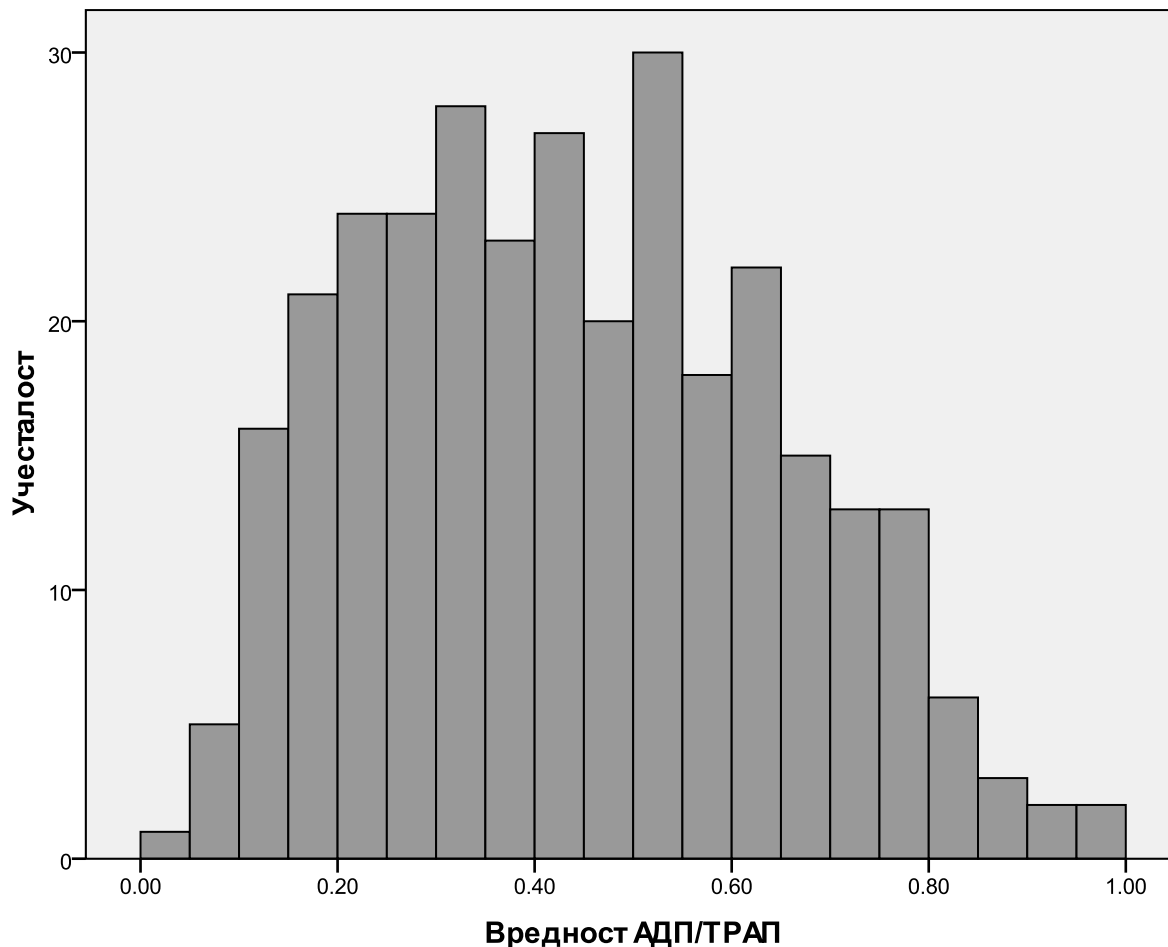
Бета блокатори	Бисопролол	Небиволол	Карведилол	Метопролол	p
Средња вредност ТРАП теста ± ст. девијација	876,7 ± 238,3	852,4 ± 260,9	822,7 ± 250,6	854,4 ± 215,8	0,575 ^a
Медијана	892	854	797	860	
^a АНОВА					

Анализа варијанси није показала статистички значајну разлику у вредности ТРАП теста између поређених група.

4.7. Утицај бета блокатора на однос вредности АДП/ТРАП теста

Дистрибуција вредности односа АДП и ТРАП теста у целокупној испитиваној популацији приказана је у графику 19.

График 19: Дистрибуција вредности за однос АДП/ТРАП



Средња вредност односа АДП/ТРАП у целокупној популацији испитаника била је $0,44 \pm 0,21$, а медијана 0,43.

Из графика се уочава да је вредност односа АДП/ТРАП имала нормалну расподелу, па смо користили анализу варијанси како бисмо уочили разлике између поређених група.

Дистрибуција вредности АДП/ТРАП теста у оквиру група са различитом врстом бета блокатора је приказана у графицима 20-23.

График 20: Дистрибуција вредности АДП/ТРАП (група са биспрололом)

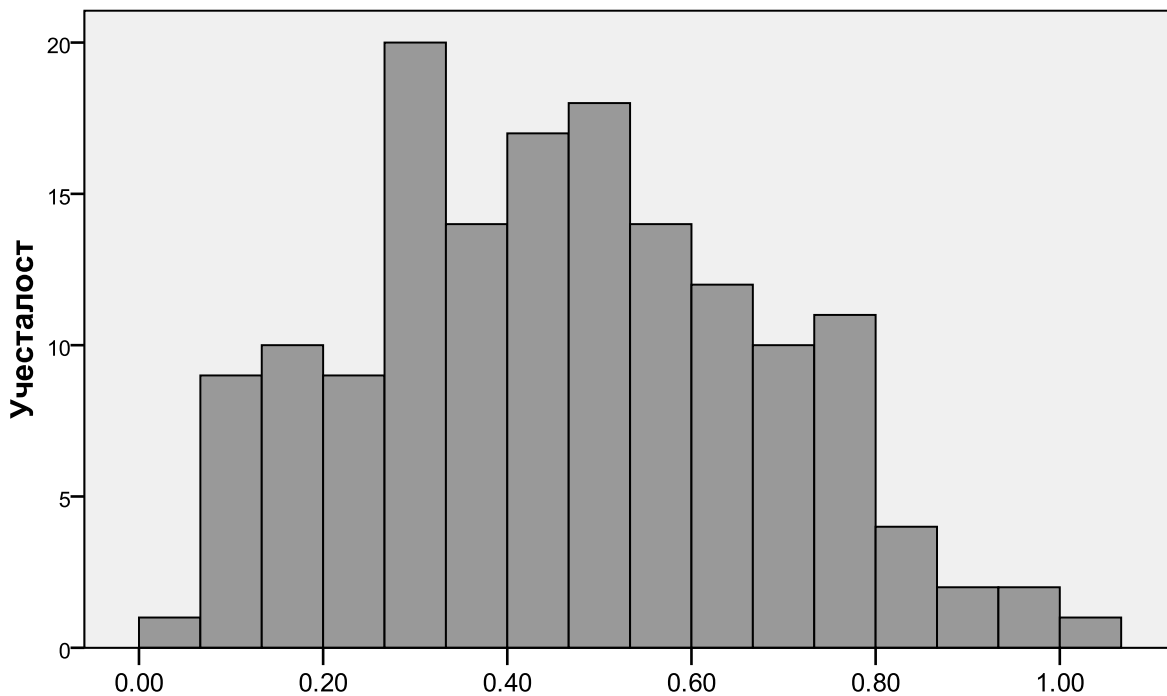


График 21: Дистрибуција вредности АДП/ТРАП (група са небивоололом)

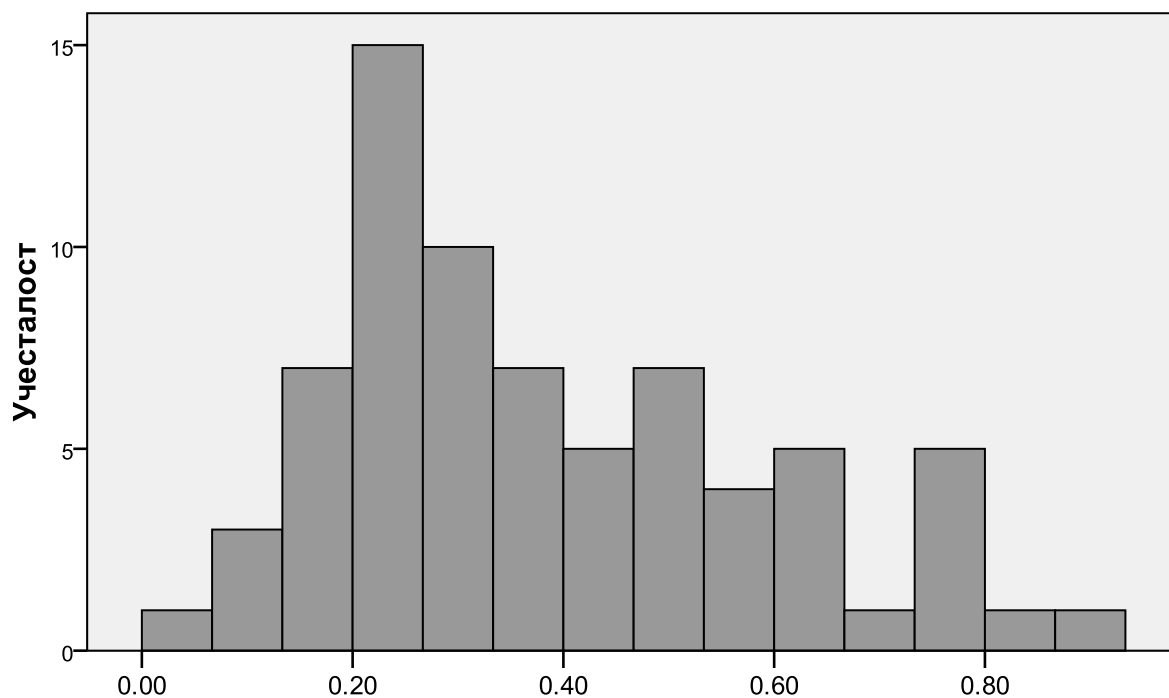


График 22: Дистрибуција вредности АДП/ТРАП (група са карведилолом)

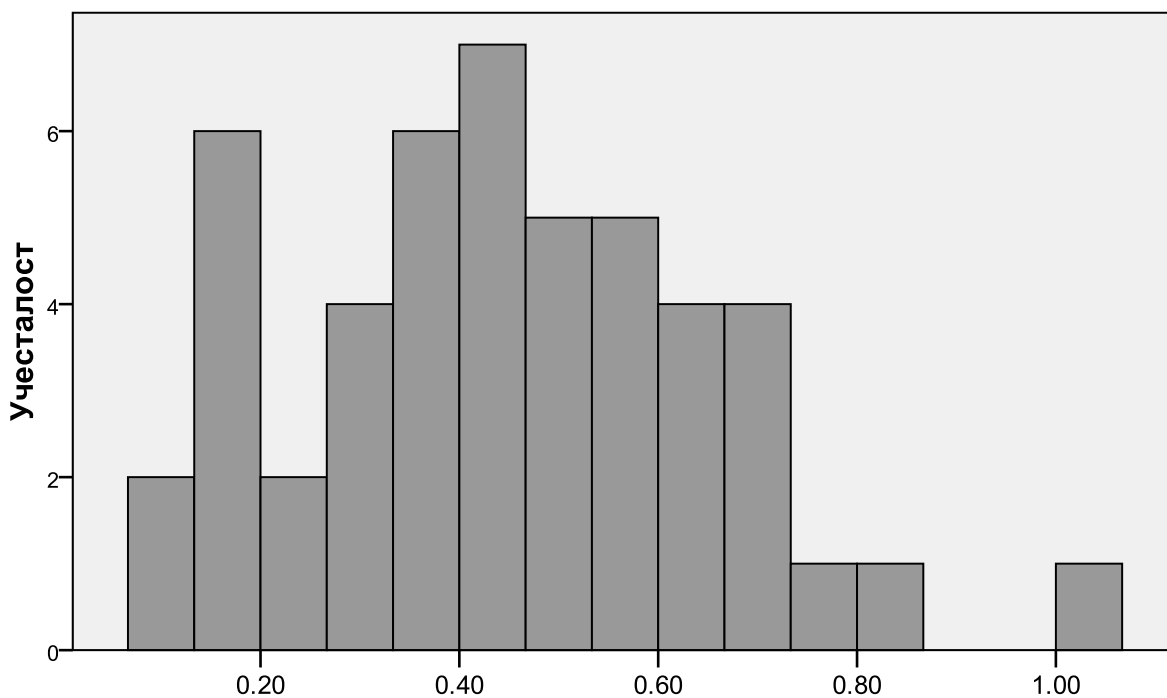
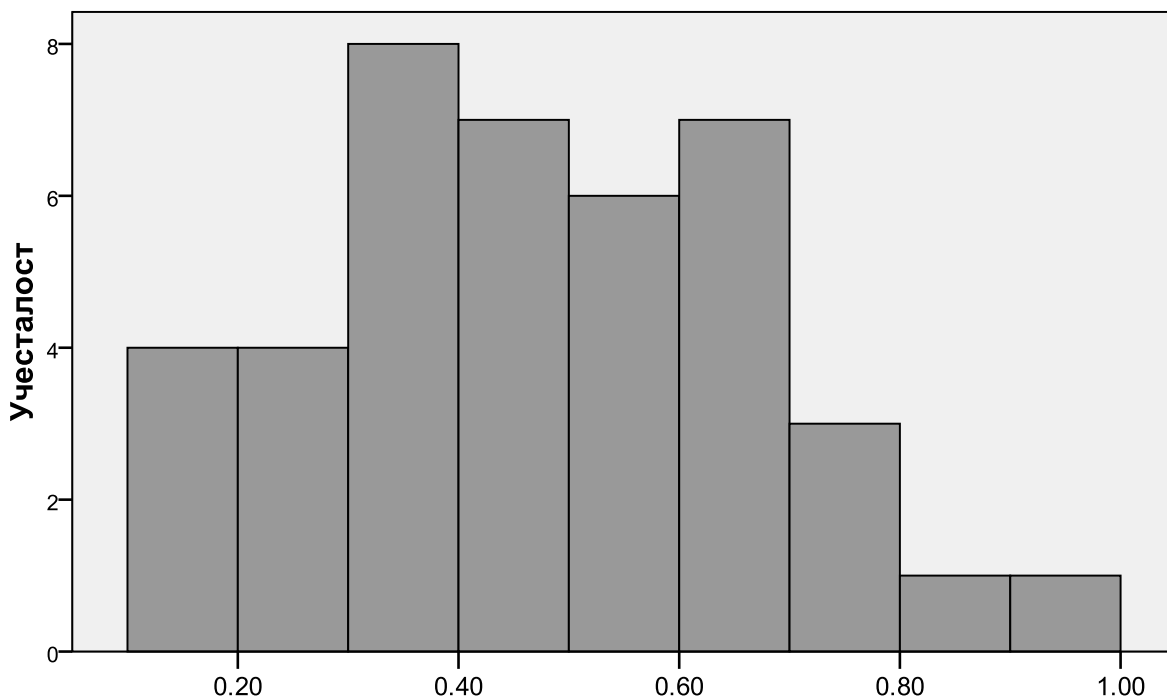
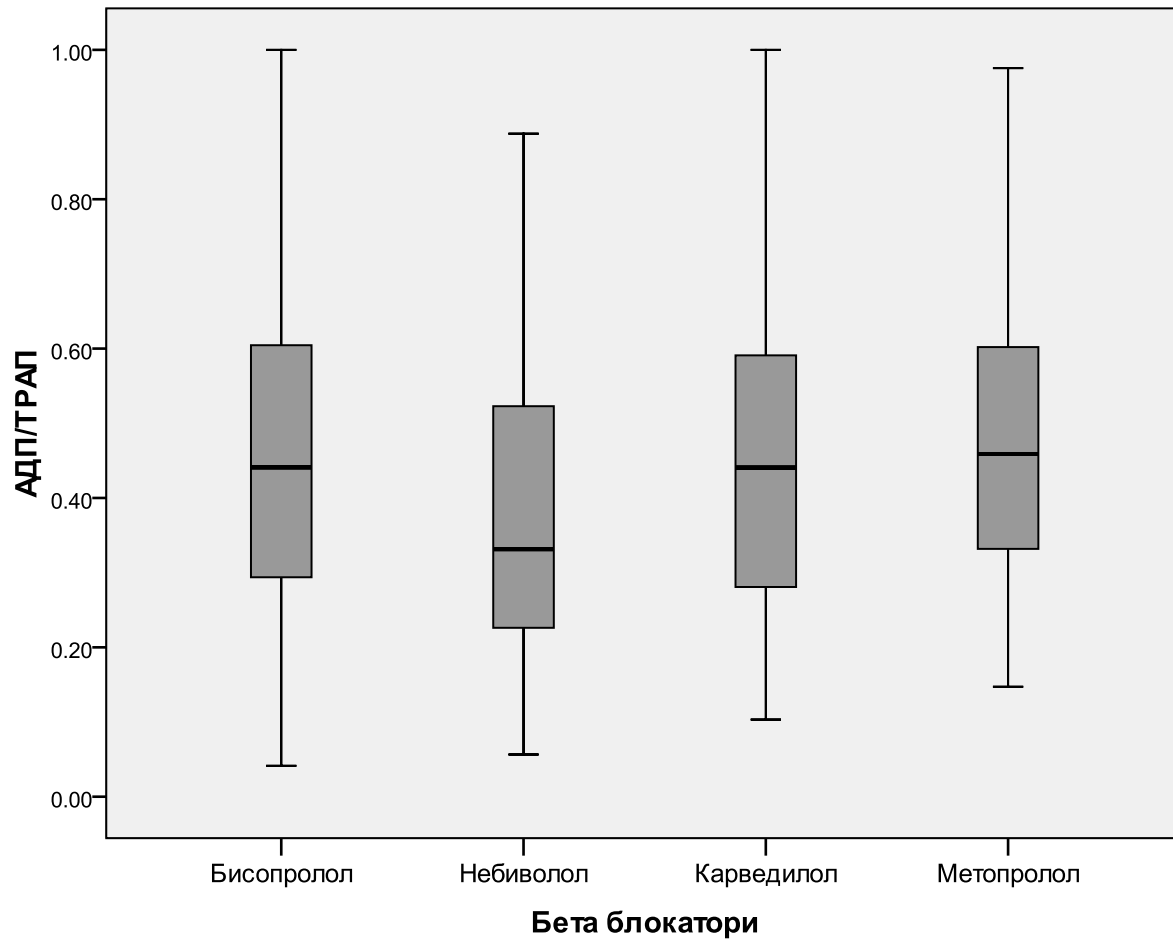


График 23: Дистрибуција вредности АДП/ТРАП (група са метопрололом)



У графику 24 смо упоредили дистрибуцију вредности АДП/ТРАП између група са различитом врстом бета блокатора.

График 24: Дистрибуција вредности АДП/ТРАП између група



Уочавамо да је вредност медијане у групи са небивололом била најнижа и померена ка нижем квантилу, за разлику од остале три групе.

Табела 7 приказује средњу вредност и медијану односа АДП/ТРАП теста код поређених група.

Табела 7: Средња вредност и медијана односа АДП/ТРАП теста код поређених група

Бета блокатори	Бисопролол	Небиволол	Карведилол	Метопролол	р
Средња вредност АДП/ТРАП ± ст. дев.	0,48 ± 0,26	0,39 ± 0,30	0,46 ± 0,23	0,48 ± 0,20	0,038 ^{a*}
Процент резидуалне АДП агрегабилности	48%	39%	46%	48%	
Медијана	0,44	0,33	0,44	0,46	
^a АНОВА					

Однос АДП/ТРАП нам показује вредност резидуалне агрегабилности тромбоцита индуковане АДП-ом у односу на базалну вредност (мерену ТРАП тестом). Њеним множењем са 100 % можемо добити проценат резидуалне агрегабилности тромбоцита.

Уочавамо да је најнижа вредност односа АДП/ТРАП односно најнижи проценат резидуалне АДП индуковане агрегабилности тромбоцита био у групи са небивололом (0,39 или 39%), док је у остале 3 групе био готово уједначен.

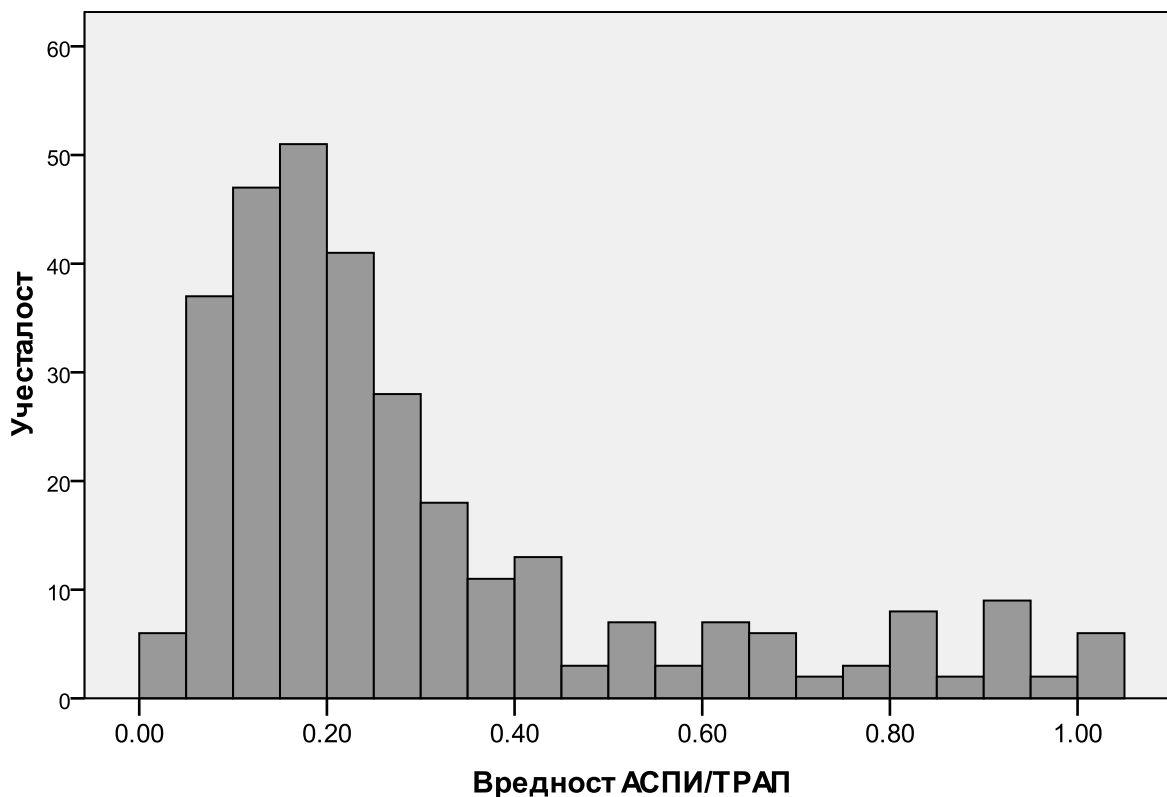
Анализа варијанси је показала статистички значајну разлику у вредности односа АДП/ТРАП теста између поређених група, а применом Bonferroni-јевог теста идентификована је статистички значајна разлика у односу АДП/ТРАП теста између групе која је користила бисопролол и групе која је користила небиволол (р=0,038).

Иако је средња вредност односа АДП/ТРАП у групи која је користила карведилол и метопролол била већа од групе која је користила небиволол нисмо идентификовали статистички значајну разлику у међусобном поређењу ових група, пре свега због мањег броја пацијената у групама са карведилолом и метопрололом.

4.8. Утицај бета блокатора на однос вредности АСПИ/ТРАП теста

Дистрибуција вредности односа АСПИ/ТРАП теста у целокупној испитиваној популацији приказана је у графику 25.

График 25: Дистрибуција вредности за однос АСПИ/ТРАП



Средња вредност односа АСПИ/ТРАП у целокуној популацији пацијената била је $0,30 \pm 0,24$, а медијана 0,22.

Из графика се уочава да расподела вредности односа АСПИ/ТРАП није имала нормалну расподелу, па смо користили Kruskal-Wallis-ов тест како бисмо уочили разлике између поређених група.

Дистрибуција вредности односа АСПИ/ТРАП теста у оквиру група са различитом врстом бета блокатора је приказана у графицима 26-29.

График 26: Дистрибуција вредности АСПИ/ТРАП (група са бисопрололом)

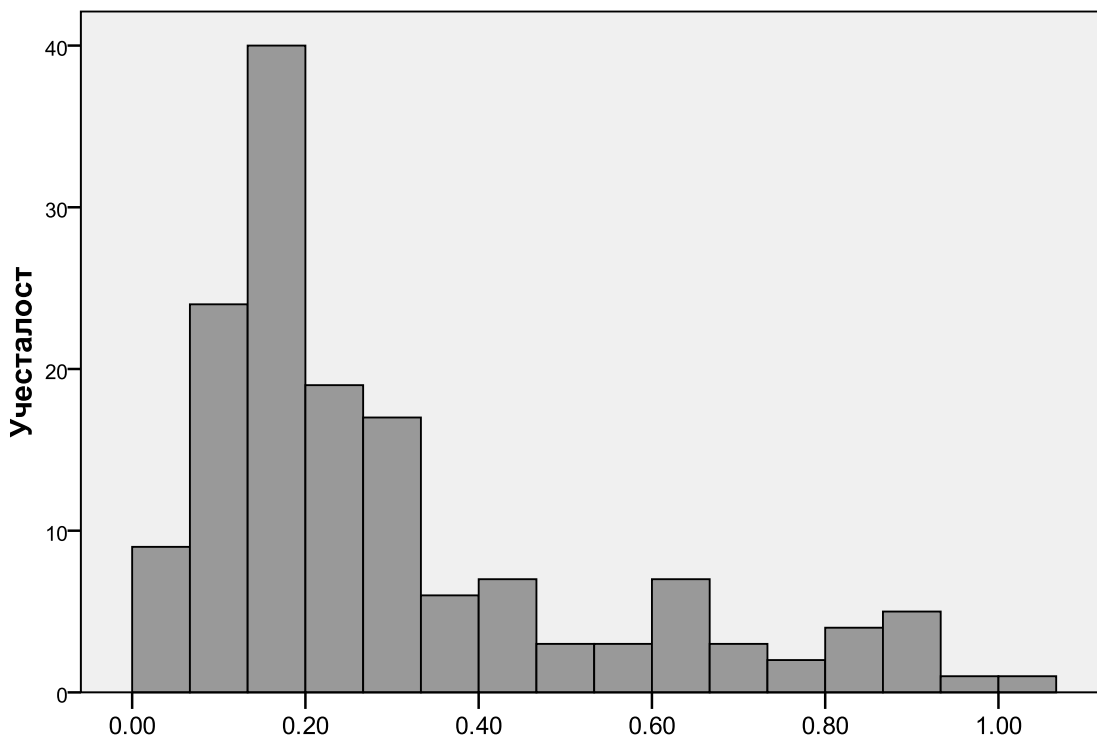


График 27: Дистрибуција вредности АСПИ/ТРАП (група са небивололом)

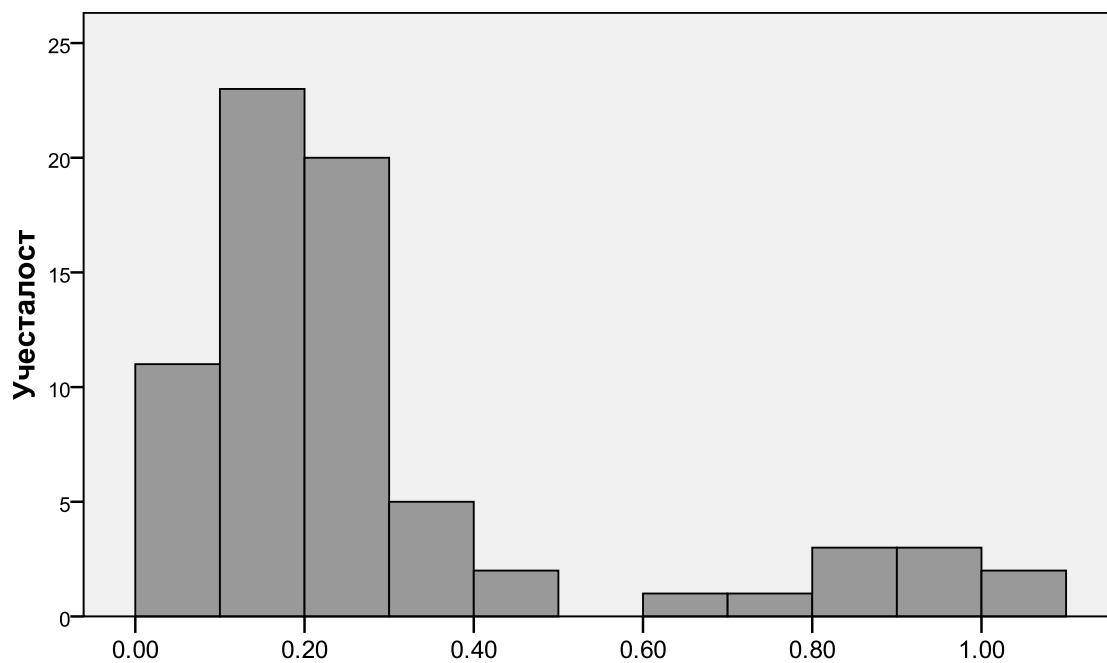


График 28: Дистрибуција вредности АСПИ/ТРАП (група са карведилолом)

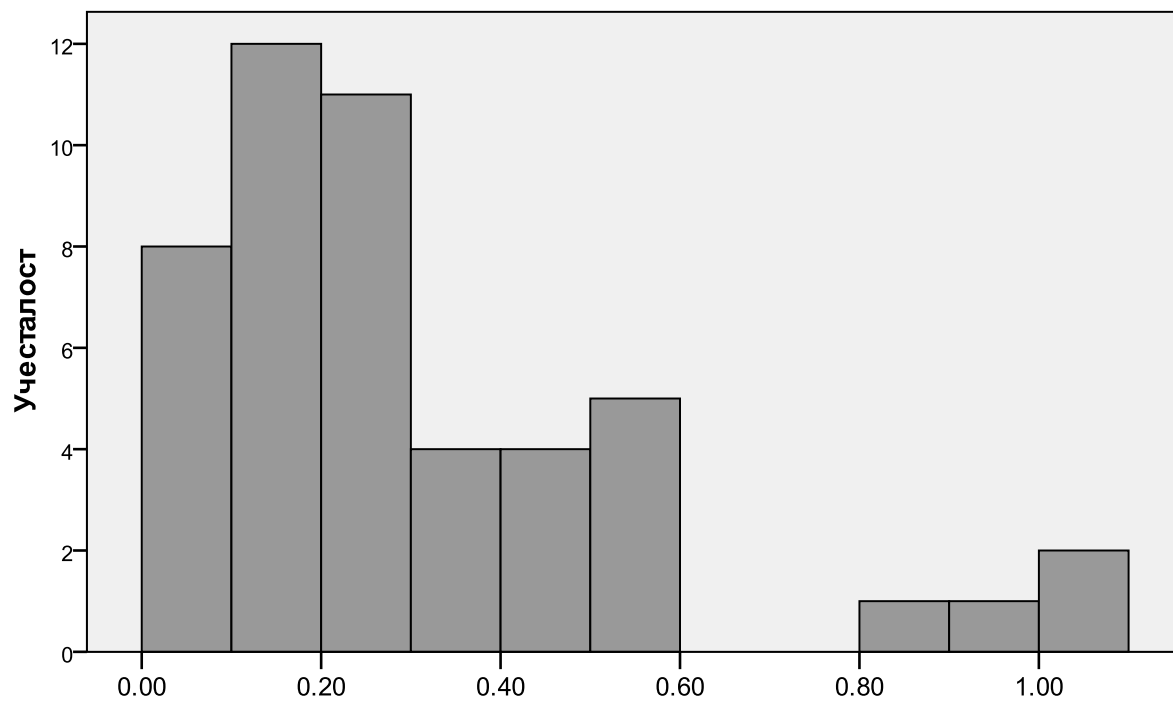
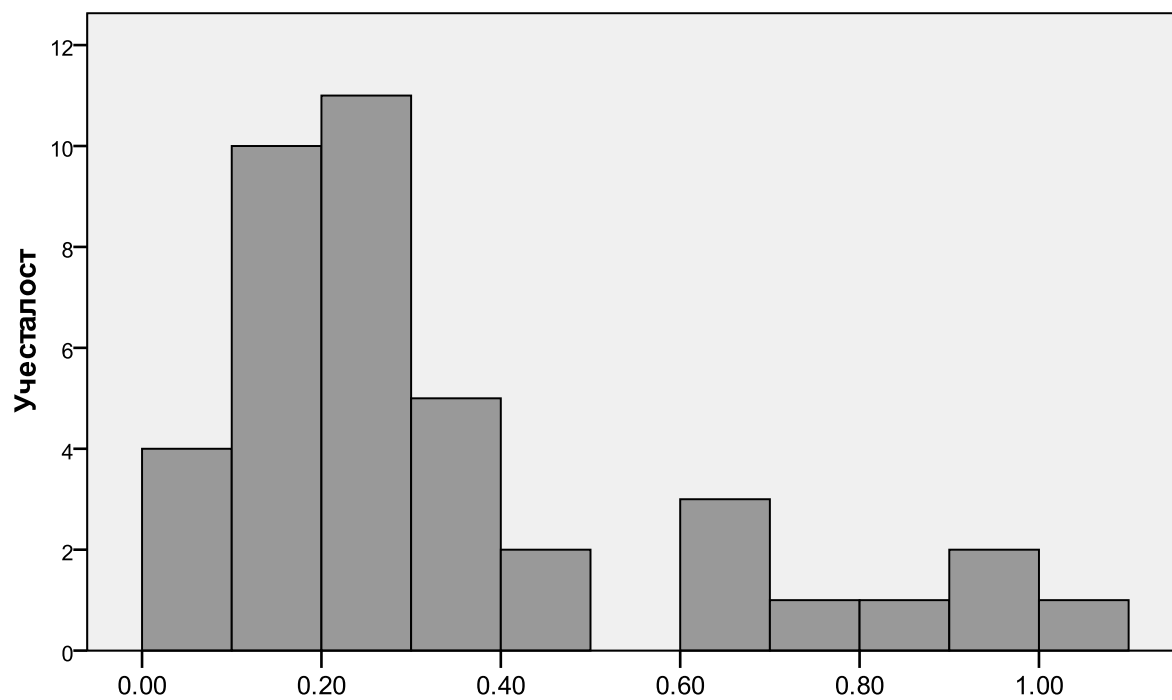
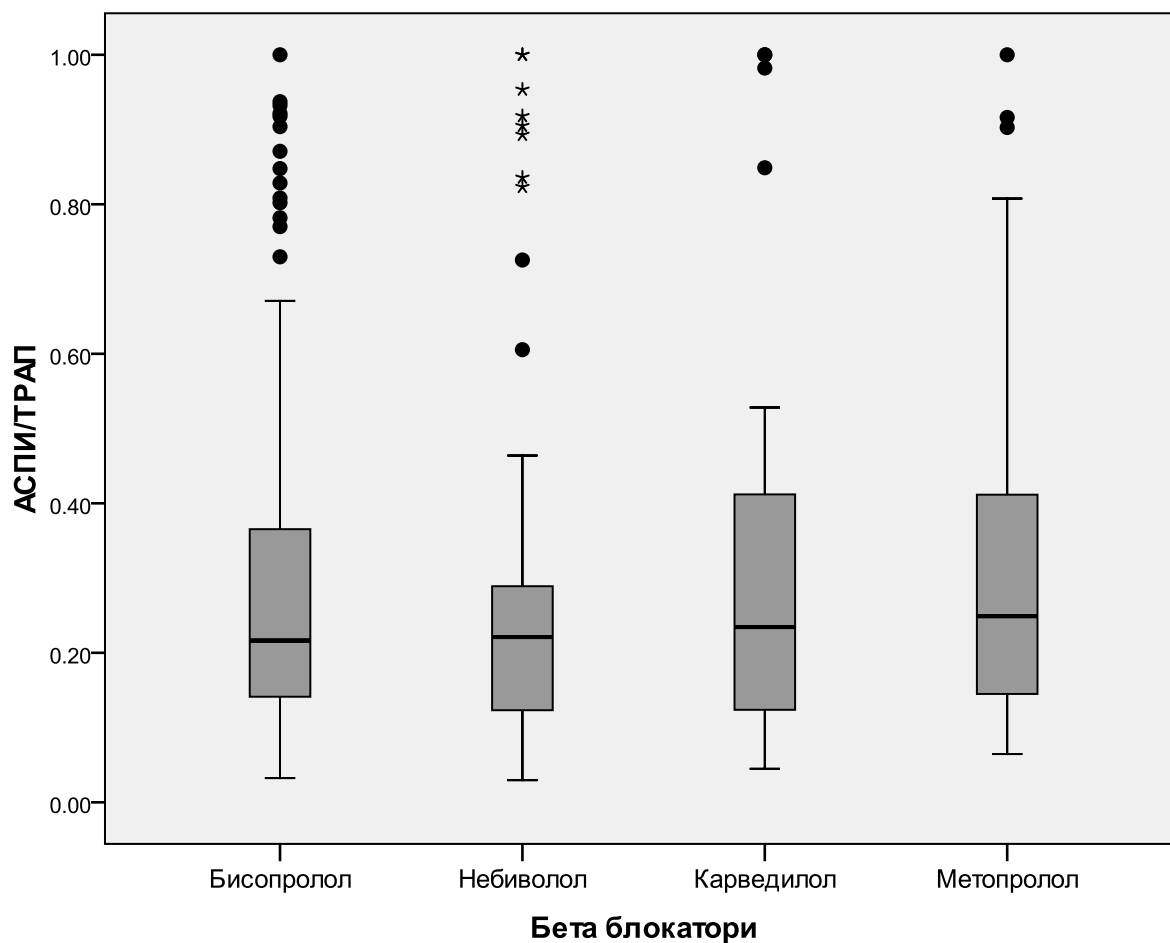


График 29: Дистрибуција вредности АСПИ/ТРАП (група са метопрололом)



У графику 30 смо упоредили дистрибуцију вредности односа АСПИ/ГРАП између група са различитом врстом бета блокатора.

График 30: Дистрибуција вредности АСПИ/ГРАП између група



Вредности медијане између поређених група се нису битније разликовале.

Табела 8 приказује средњу вредност и медијану односа АСПИ/ТРАП теста код поређених група.

Табела 8: Средња вредност и медијана односа АСПИ/ТРАП теста код поређених група

Бета блокатори	Бисопролол	Небиволол	Карведилол	Метопролол	р
Средња вредност АСПИ/ТРАП ± ст. дев.	0,30 ± 0,24	0,29 ± 0,26	0,30 ± 0,24	0,33 ± 0,26	
Медијана	0,22	0,22	0,23	0,25	0,586 ^Б
^Б Kruskal-Wallis тест					

Однос АСПИ/ТРАП нам показује вредност резидуалне агрегабилности тромбоцита индуковане арахидонском киселином у односу на базалну вредност (мерену ТРАП тестом). Њеним множењем са 100 % можемо добити проценат резидуалне агрегабилности тромбоцита индуковане арахидонском киселином.

Kruskal-Wallis-ов тест није показао статистички значајну разлику у вредности односа АСПИ/ТРАП теста између поређених група пацијената са различитим бета блокатором.

4.9. Утицај демографских, клиничких и лабораторијских параметара на вредност АДП теста

У табели 9 приказана је корелација између вредности АДП теста и лабораторијских вредности које смо обухватили нашим истраживањем.

Табела 9: Корелација вредности АДП теста и лабораторијских параметара

АДП тест	Коефицијент корелације	р
АСТ	-0,104	0,085
АЛТ	-0,110	0,068
Холестерол	0,160	0,017*
ТГЛ	0,071	0,293
ЛДЛ	0,184	0,019*
ХДЛ	-0,116	0,151
Гликемија	0,015	0,826
Уреа	-0,035	0,599
Креатинин	-0,026	0,706
ЛДХ	-0,185	0,023*
ЦК	-0,035	0,616
ЦРП	0,177	0,019*
Леукоцити	0,191	0,03*
Еритроцити	-0,217	0,001*
Хемоглобин	-0,289	0,000*
Тромбоцити	0,281	0,000*
ИНР	-0,120	0,114
аПТТ	-0,036	0,636
Фибриноген	0,232	0,002*

Уочили смо постојање слабе, позитивне корелације између вредности лабораторијских параметара као што су концентрација холестерола, ЛДЛ-а, параметара запаљенског синдрома (ЦРП, леукоцити, фибриноген), броја тромбоцита у крви и вредности АДП теста.

Уочили смо постојање слабе, негативне корелације између вредности броја еритроцита и концентрације хемоглобина, концентрације лактат дехидрогеназе у крви и вредности АДП теста.

Табела 10: Утицај демографских, клиничких, лабораторијских фактора на вредност АДП теста.

АДП тест	Униваријантна регресија		Мултиваријантна регресија	
	Нестандардизовани коефицијент (Б)	Р	Нестандардизовани коефицијент (Б)	Р
Старост	2,67	0,028*	-1,29	0,548
Пол	-89,76	0,000*	-27,23	0,617
Индикација	27,88	0,213	-	-
Раније болести	-23,59	0,123	-	-
Дијабетес	38,37	0,119	-	-
ХТА	27,21	0,466	-	-
ХЛП	5,78	0,805	-	-
Пушење	9,207	0,711	-	-
Хередитет	-19,47	0,384	-	-
Нитрати	-4,73	0,841	-	-
Статини	-26,08	0,086	-	-
ИПП	24,85	0,222	-	-
АЦЕ инхибитори	2,99	0,563	-	-
Триметацидин	-19,71	0,565	-	-
Калцијумски блокатори	73,19	0,01*	37,19	0,428
АСТ	-0,115	0,837	-	-
АЛТ	-1,52	0,032*	0,59	0,788
Холестерол	19,98	0,041*	22,71	0,186
ТГЛ	12,72	0,393	-	-
ЛДЛ	0,242	0,697	-	-
ХДЛ	0,348	0,879	-	-
Гликемија	1,48	0,492	-	-
Уреа	-1,22	0,438	-	-
Креатинин	0,089	0,650	-	-
ЛДХ	-0,232	0,054	-	-
ЦК	0,023	0,516	-	-
ЦРП	2,19	0,019*	1,13	0,264
Леукоцити	20,02	0,03*	11,35	0,204
Еритроцити	0,169	0,747	-	-
Хемоглобин	-3,76	0,000*	-1,42	0,388
Тромбоцити	0,971	0,000*	1,08	0,014*
ИНР	-8,108	0,148	-	-
аПТТ	-0,541	0,160	-	-
Фибриноген	54,02	0,002*	29,51	0,283

У табели 10 приказан је резултат униваријантне и мултиваријантне регресионе анализе утицаја демографских, клиничких, лабораторијских фактора на вредност АДП теста.

Више фактора попут: старости пацијената, пола пацијената, терапије калцијумским блокаторима, концентрације холестерола, аланин трансминазе у крви, параметара запаљенског синдрома (ЦРП, вредности леукоцита у крви, концентрације фибриногена), концентрације хемоглобина, броја тромбоцита у крви су се издвојили као предиктори вредности АДП теста у униваријантној регресионој анализи.

Пацијенти мушког пола имали су нижу вредност АДП теста (средња вредност 347 ± 187) у односу на пацијенте женског пола (средња вредност 439 ± 220).

Са старашћу пацијената се повећавала вредност АДП теста.

Пораст вредности параметара запаљенског синдрома (број леукоцита у крви, концентрација ЦРП-а у крви, концентрација фибриногена у крви) је довео до пораста вредности АДП теста.

Вредност АДП теста се повећавала са порастом броја тромбоцита у крви, док се смањивала са порастом концентрације хемоглобина у крви.

Присуство лекова попут калцијумских блокатора (нифедипински тип) у терапији се одразио на вредност АДП теста, пацијенти који су у својој терапији имали калцијумски блокатор имали су вишу вредност АДП теста.

У мултиваријантној регресионој анализи као независан предиктор вредности АДП теста издвојио се параметар број тромбоцита у крви.

4.10. Утицај демографских, клиничких и лабораторијских карактеристика на вредност АСПИ теста

Табела 11 приказује корелацију између вредности АСПИ теста и лабораторијских вредности које смо обухватили нашим истраживањем.

Табела 11: корелација вредности АСПИ теста и лабораторијских параметара

АСПИ тест	Коефицијент корелације	р
АСТ	0,029	0,633
АЛТ	0,039	0,523
Холестерол	0,020	0,772
ТГЛ	0,037	0,584
ЛДЛ	0,035	0,656
ХДЛ	-0,194	0,016*
Гликемија	-0,003	0,968
Уреа	-0,075	0,269
Креатинин	-0,031	0,647
ЛДХ	0,153	0,062
ЦК	0,112	0,106
ЦРП	0,061	0,423
Леукоцити	0,261	0,000*
Еритроцити	0,006	0,926
Хемоглобин	0,054	0,399
Тромбоцити	0,081	0,210
ИНР	-0,165	0,029
аПТТ	-0,074	0,330
Фибриноген	0,180	0,017*

Учили смо постојање слабе, позитивне корелације између вредности броја леукоцита, концентрације фибриногена у крви и вредности АСПИ теста.

Такође смо учили слабу, негативну корелацију између концентрације ХДЛ-а у крви и вредности АСПИ теста.

Табела 12: Утицај демографских, клиничких, лабораторијских фактора на вредност АСПИ теста.

АСПИ тест	Униваријантна регресија		Мултиваријантна регресија	
	Нестандардизовани коефицијент (Б)	р	Нестандардизовани коефицијент (Б)	р
Старост	0,87	0,545	-	-
Пол	9,26	0,740	-	-
Индикација	-30,9	0,245	-	-
Раније болести	-47,61	0,009*	-66,49	0,009*
Дијабетес	23,43	0,423	-	-
ХТА	-14,19	0,749	-	-
ХЛП	55,82	0,044*	84,79	0,024*
Пушење	27,20	0,356	-	-
Хередитет	-50,08	0,059	-	-
Нитрати	7,49	0,789	-	-
Статини	-42,79	0,017*	-35,90	0,161
ИПП	19,65	0,411	-	-
АЦЕ инхибитори	-2,90	0,638	-	-
Предуктал	-15,95	0,663	-	-
Калцијумски блокатори	119,74	0,000*	142,85	0,002
АСТ	-0,138	0,835	-	-
АЛТ	-1,105	0,190	-	-
Холестерол	15,34	0,188	-	-
ТГЛ	12,12	0,493	-	-
ЛДЛ	-0,352	0,658	-	-
ХДЛ	-1,90	0,469	-	-
Гликемија	1,47	0,561	-	-
Уреа	-1,90	0,313	-	-
Креатинин	0,153	0,505	-	-
ЛДХ	0,272	0,075	-	-
ЦК	0,02	0,636	-	-
ЦРП	1,44	0,196	-	-
Леукоцити	34,56	0,000*	19,63	0,038*
Еритроцити	-0,133	0,829	-	-
Хемоглобин	0,632	0,518	-	-
Тромбоцити	0,475	0,069	-	-
ИНР	0,172	0,980	-	-
аПТТ	-0,493	0,305	-	-
Фибриноген	57,15	0,010*	27,55	0,224

У табели 12 приказан је резултат униваријантне и мултиваријантне регресионе анализе утицаја демографских, клиничких, лабораторијских фактора на вредност АСПИ теста.

Више фактора попут: ранијих кардиоваскуларних догађаја и интервенција, присуства хиперлипидемије, терапија статинима, терапија калцијумским блокаторима, параметара запаљеног синдрома (леукоцити, фибриноген) су се издвојили као предиктори вредности АСПИ теста у униваријантној регресионој анализи.

Присуство ранијих кардиоваскуларних болести (ранијег инфаркта миокарда, цереброваскуларних догађаја), као и ранијих интервенција (перкутане коронарне интервенције, аорткоронарне бајпас операције) се одразило на вредност АСПИ теста. Пацијенти који су имали ранији кардиоваскуларни догађај или интервенцију имали су нижу вредност АСПИ теста, што се може објаснити дужим временом узимања ацетил салицилне киселине и бољом комплијансом пацијената.

Постојање хиперлипидемије као фактора ризика за коронарну болест је утицало на повишену вредност АСПИ теста

Параметри запаљеног синдрома (број леукоцита, концентрација фибриногена) су утицали на вредност АСПИ теста, са њиховим порастом дошло је и до пораста вредности АСПИ теста.

Присуство лекова попут калцијумских блокатора (нифедипински тип) у терапији се одразило на вредност АСПИ теста, пацијенти који су у својој терапији имали калцијумски блокатор имали су вишу вредност АСПИ теста. Присуство статина у терапији било је повезано са нижом вредношћу АСПИ теста.

У мултиваријантној регресионој анализи као независни предиктори вредности АСПИ теста издвојили су се параметри: раније кардиоваскуларне болести, присуство хиперлипидемије, терапија калцијумским блокаторима, број леукоцита у крви.

4.11. Утицај демографских, клиничких и лабораторијских карактеристика на вредност ТРАП теста

Табела 13 приказује корелацију између вредности ТРАП теста и лабораторијских параметара које смо обухватили нашим истраживањем.

Табела 13: Корелација вредности ТРАП теста и лабораторијских параметара.

ТРАП тест	Коефицијент корелације	р
АСТ	-0,102	0,099
АЛТ	-0,082	0,183
Холестерол	0,067	0,322
ТГЛ	0,123	0,068
ЛДЛ	0,089	0,260
ХДЛ	-0,183	0,022*
Гликемија	0,054	0,424
Уреа	-0,011	0,877
Креатинин	0,011	0,871
ЛДХ	0,019	0,821
ЦК	-0,028	0,693
ЦРП	0,002	0,981
Леукоцити	0,143	0,031*
Еритроцити	-0,123	0,063
Хемоглобин	-0,115	0,080
Тромбоцити	0,265	0,000
ИНР	-0,067	0,407
аПТТ	-0,04	0,569
Фибриноген	-0,006	0,938

Учили смо постојање слабе, позитивне корелације између вредности броја леукоцита у крви и вредности ТРАП теста.

Такође смо учили постојање слабе, негативне корелације између концентрације ХДЛ-а у крви и вредности ТРАП теста.

Табела 14: Утицај демографских, клиничких, лабораторијских фактора на вредност ТРАП теста.

ТРАП тест	Униваријантна регресија		Мултиваријантна регресија	
	Нестандардизовани коефицијент (Б)	Р	Нестандардизовани коефицијент (Б)	Р
Старост	-0,694	0,633	-	-
Пол	-85,63	0,003*	-63,10	0,124
Индикација	22,72	0,406	-	-
Раније болести	15,34	0,405		
Дијабетес	56,75	0,057	-	-
ХТА	13,70	0,769	-	-
ХЛП	16,04	0,565		
Пушење	40,18	0,181	-	-
Хередитет	-20,59	0,449	-	-
Нитрати	12,06	0,672	-	-
Статини	-0,617	0,973		
ИПП	17,02	0,558	-	-
АЦЕ инхибитори	5,24	0,480	-	-
Триметацидин	-51,97	0,189	-	-
Калцијумски блокатори	0,89	0,965		
АСТ	-1,42	0,031*	0,240	0,829
АЛТ	-1,14	0,195	-	-
Холестерол	8,84	0,464	-	-
ТГЛ	35,25	0,054	-	-
ЛДЛ	-0,56	0,450	-	-
ХДЛ	-2,49	0,356	-	-
Гликемија	-0,25	0,921	-	-
Уреа	-0,43	0,817	-	-
Креатинин	-0,05	0,828	-	-
ЛДХ	0,03	0,821	-	-
ЦК	-0,10	0,016*	-0,153	0,036*
ЦРП	0,61	0,597	-	-
Леукоцити	18,35	0,031*	18,14	0,086
Еритроцити	-0,19	0,765	-	-
Хемоглобин	-1,85	0,076	-	-
Тромбоцити	1,13	0,000*	0,743	0,037*
ИНР	4,17	0,549	-	-
аПТТ	-0,014	0,977	-	-
Фибриноген	-1,78	0,938	-	-

У табели 14 приказан је резултат униваријантне и мултиваријантне регресионе анализе утицаја демографских, клиничких, лабораторијских фактора на вредност ТРАП теста.

Више фактора попут: пола пацијената, вредности аспартат трансминазе, креатинин киназе у крви, параметара запаљенског синдрома (леукоцити), броја тромбоцита у крви су се издвојили као предиктори вредности ТРАП теста у униваријантној регресионој анализи.

Са порастом броја леукоцита и тромбоцита у крви дошло је до пораста вредности ТРАП теста.

Пацијенти мушког пола имали су нижу вредност ТРАП теста (средња вредност 830 ± 255) у односу на пацијенте женског пола (средња вредност 915 ± 207).

Лабораторијски параметри попут концентрације креатинин киназе и аспартат трансминазе утицали су на вредност ТРАП теста у смислу смањења вредности ТРАП теста са порастом концентрације поменутих ензима у крви.

У мултиваријантној регресионој анализи издвојили су се фактори: концентрација креатинин киназе у крви, број тромбоцита у крви као независни предиктори вредности ТРАП теста.

4.12. Утицај демографских, клиничких и лабораторијских фактора на вредност односа АДП/ТРАП

Табела 15 приказује корелацију вредности односа АДП/ТРАП и лабораторијских параметара које смо обухватили нашим истраживањем.

Табела 15: Корелација вредности односа АДП/ТРАП и лабораторијских параметара.

Однос тест	АДП/ТРАП	Коефицијент корелације	Р
АСТ		-0,063	0,306
АЛТ		-0,085	0,171
Холестерол		0,129	0,054
ТГЛ		0,027	0,694
ЛДЛ		0,114	0,148
ХДЛ		-0,056	0,486
Гликемија		0,000	0,988
Уреа		-0,040	0,559
Креатинин		-0,052	0,445
ЛДХ		-0,186	0,023*
ЦК		-0,081	0,249
ЦРП		0,112	0,148
Леукоцити		0,185	0,005*
Еритроцити		-0,225	0,001*
Хемоглобин		-0,202	0,002*
Тромбоцити		0,149	0,025*
ИНР		-0,101	0,182
аПТТ		0,026	0,736
Фибриноген		0,277	0,000*

Уочили смо постојање слабе, позитивне корелације између вредности броја леукоцита и тромбоцита, концентрације фибриногена у крви и вредности односа АДП/ТРАП теста.

Такође смо уочили постојање слабе, негативне корелације између концентрације лактат дехидрогеназе, броја еритроцита, концентрације хемоглобина у крви, концентрације ХДЛ-а у крви и вредности односа АДП/ТРАП теста.

Табела 16: Утицај демографских, клиничких, лабораторијских фактора на вредност односа АДП/ТРАП.

Однос АДП/ТРАП тест	Униваријантна регресија		Мултиваријантна регресија	
	Нестандардизовани коефицијент (Б)	Р	Нестандардизовани коефицијент (Б)	Р
Старост	0,003	0,061	-	-
Пол	-0,049	0,081	-	-
Индикација	0,014	0,590	-	-
Раније болести	-0,046	0,010*	-0,072	0,047*
Дијабетес	0,007	0,799	-	-
ХТА	0,019	0,685	-	-
ХЛП	0,008	0,777		
Пушење	-0,011	0,700	-	-
Хередитет	-0,021	0,439	-	-
Нитрати	-0,023	0,413	-	-
Статини	-0,035	0,05*	-0,053	0,113
ИПП	0,024	0,322	-	-
АЦЕ инхибитори	0,000	0,980	-	-
Триметазидин	0,006	0,867	-	-
Калцијумски блокатори	0,030	0,384	-	-
АСТ	0,001	0,122	-	-
АЛТ	-0,001	0,116	-	-
Холестерол	0,019	0,095	-	-
ТГЛ	0,009	0,597	-	-
ЛДЛ	0,001	0,345	-	-
ХДЛ	0,002	0,449	-	-
Гликемија	0,001	0,670	-	-
Уреа	-0,001	0,431	-	-
Креатинин	0,000	0,833	-	-
ЛДХ	0,000	0,023*	0,000	0,05
ЦК	0,000	0,000*	0,000	0,693
ЦРП	0,002	0,084	-	-
Леукоцити	0,024	0,005*	0,003	0,833
Еритроцити	0,000	0,657	-	-
Хемоглобин	-0,003	0,002*	-	-
Тромбоцити	0,001	0,025*	0,000	0,410
ИНР	-0,11	0,113	-	-
аПТТ	0,000	0,207	-	-
Фибриноген	0,084	0,000*	0,077	0,038*

У табели 16 приказан је резултат униваријантне и мултиваријантне регресионе анализе утицаја демографских, клиничких, лабораторијских фактора на вредност односа АДП/ТРАП.

Више фактора попут ранијих кардиоваскуларних болести и интервенција, терапија статинима, концентрације лактат дехидрогеназе и креатинин киназе у крви, параметара запаљенског синдрома (број леукоцита у крви, концентрација фибриногена), броја тромбоцита, концентрације хемоглобина у крви су се издвојили као предиктори вредности односа АДП/ТРАП теста у униваријантној регресионој анализи.

Присуство ранијих кардиоваскуларних болести (ранијег инфаркта миокарда, цереброваскуларних догађаја), као и ранијих интервенција (перкутане коронарне интервенције, аорткоронарне бајпас операције) се одразило на вредност односа АДП/ТРАП. Пацијенти који су имали ранији кардиоваскуларни догађај или интервенцију имали су нижу вредност односа АДП/ТРАП теста, што се може објаснити дужим временом узимања антиагрегационе терапије, као и бољом комплијансом пацијената.

Са порастом броја леукоцита, тромбоцита као и пораста концентрације фибриногена у крви дошло је до пораста вредности односа АДП/ТРАП теста.

Са повећањем концентрације хемоглобина у крви уочили смо смањење вредности односа АДП/ТРАП теста.

Присуство лекова из групе статина у терапији одразило се на смањену вредност односа АДП/ТРАП теста.

У мултиваријантној регресионој анализи издвојили су се параметри: раније кардиоваскуларне болести и интервенције, концентрација фибриногена у крви као независани предиктори вредности односа АДП/ТРАП.

4.13. Утицај демографских, клиничких и лабораторијских карактеристика на вредност односа АСПИ/ТРАП

Табела 17 приказује корелацију између вредности односа АСПИ/ТРАП и лабораторијских параметара које смо обухватили нашим истраживањем.

Табела 17: Корелација вредности односа АСПИ/ТРАП и лабораторијских параметара.

Однос АСПИ/ ТРАП	Коефицијент корелације	р
АСТ	0,064	0,308
АЛТ	0,059	0,343
Холестерол	-0,028	0,679
ТГЛ	-0,012	0,859
ЛДЛ	-0,022	0,780
ХДЛ	-0,143	0,078
Гликемија	-0,002	0,975
Уреа	-0,067	0,328
Креатинин	-0,027	0,699
ЛДХ	0,129	0,117
ЦК	0,046	0,520
ЦРП	0,052	0,501
Леукоцити	0,212	0,001*
Еритроцити	-0,003	0,958
Хемоглобин	0,051	0,446
Тромбоцити	0,024	0,725
ИНР	-0,125	0,103
аПТТ	-0,088	0,249
Фибриноген	0,155	0,05*

Уочили смо слабу позитивну корелацију између вредности броја леукоцита у крви и вредности односа АСПИ/ТРАП.

Табела 18: Утицај демографских, клиничких, лабораторијских фактора на вредност односа АСПИ/ГРАП.

Однос АСПИ/ГРАП тест	Униваријантна регресија		Мултиваријантна регресија	
	Нестандардизован и коефицијент (Б)	Р	Нестандардизован и коефицијент (Б)	Р
Старост	-0,004	0,251	-	-
Пол	0,190	0,195	-	-
Индикација	-0,136	0,332	-	-
Раније болести	-0,184	0,051	-	-
Дијабетес	-0,133	0,384	-	-
ХТА	0,036	0,880	-	-
ХЛП	0,193	0,181		
Пушење	-0,046	0,767	-	-
Хередитет	-0,084	0,548	-	-
Нитрати	0,102	0,485	-	-
Статини	-0,148	0,115	-	
ИПП	0,076	0,546	-	-
АЦЕ инхибитори	-0,025	0,430	-	-
Триметазидин	-0,134	0,481	-	-
Калцијумски блокатори	-0,057	0,750		
АСТ	0,000	0,992	-	-
АЛТ	0,001	0,827	-	-
Холестерол	0,004	0,958	-	-
ТГЛ	0,116	0,275	-	-
ЛДЛ	0,000	0,813	-	-
ХДЛ	-0,002	0,786	-	-
Гликемија	0,000	0,930	-	-
Уреа	-0,003	0,615	-	-
Креатинин	0,000	0,857	-	-
ЛДХ	0,000	0,123	-	-
ЦК	0,000	0,989	-	-
ЦРП	0,001	0,792	-	-
Леукоцити	0,001	0,991	-	-
Еритроцити	0,000	0,899	-	-
Хемоглобин	0,000	0,907	-	-
Тромбоцити	0,000	0,615	-	-
ИНР	0,003	0,938	-	-
аПТТ	0,000	0,870	-	-
Фибриноген	0,073	0,635	-	-

У табели 18 приказан је резултат униваријантне и мултиваријантне регресионе анализе утицаја демографских, клиничких, лабораторијских фактора на вредност односа АСПИ/ТРАП.

Ни један од разматраних фактора се није издвојио као предиктор вредности односа АСПИ/ТРАП.

5. Дискусија

5.1. Опште напомене

У истраживању смо испитивали агрегабилност тромбоцита индуковану арахидонском киселином, АДП-ом као и тромбин рецептор активишућим пептидом код пацијената на двојној антиагрегационој терапији који су користили различите врсте бета блокатора. Бета блокатори су препоручени од стране европског и америчког удружења кардиолога код свих пацијената који се лече од коронарне болести срца, уколико нема контраиндикација (ниво доказа IA), због чега пацијенте код којих је дисконтинуиран бета блокатор или су били без овог лека нису били укључени у истраживање. Циљ истраживања је био да користећи методу мерења агрегабилности тромбоцита путем мерења промене електричне импеданце (multiplate анализатор) идентификујемо утицај различитих врста бета блокатора на агрегабилност тромбоцита мерену АДП, АСПИ и ТРАП тестом.

Како је основни ефекат клопидогрела антагонизам АДП рецептора тромбоцита, мерењем резидуалне АДП индуковане агрегабилности тромбоцита (АДП тест) можемо да утврдимо ефекат овог лека. На сличан начин антиагрегациони ефекат АСК огледа се у инхибицији стварања тромбоксана из арахидонске киселине, а мерењем резидуалне агрегабилности тромбоцита након додавања арахидонске киселине (АСПИ тест) можемо да утврдимо ефекат АСК. У процени ефекта антиагрегационе терапије узели смо у обзир и базалну вредност агрегабилности тромбоцита, односно вредност пре увођења антиагрегационе терапије, јер је познато да у популацији постоје значајне интериндивидуалне разлике у нивоу базалне активности тромбоцита. Сматрамо да је потребно да се код сваког испитаника понаособ упореди вредност базалне агрегабилности тромбоцита (агрегабилности пре увођења антиагрегационе терапије) и након увођења терапије како би се проценио ефекат антиагрегационе терапије. Као меру процене базалне активности тромбоцита користили смо вредност ТРАП теста. ТРАП тест се у клиничкој пракси користи за процену ефекта антагониста гликопротеинских рецептора тромбоцита П₂б/3а, и на његову вредност не утиче терапија АСК-ом и у занемарљиво малој мери терапија клопидогрелом. Како код пацијената нису коришћени лекови из групе

антагониста гликопротеинских рецептора тромбоцита П_b/П_a, резултат ТРАП теста нам је послужио као вредност базалне агрегабилности тромбоцита.

Више аутора је користило овакав начин процене базалне агрегабилности тромбоцита у својим истраживањима (35, 36). У истраживању Гремела (Gremmel) и сарадника испитиван је значај вредности ТРАП теста као мере базалне активности тромбоцита за процену ефекта клопидогрела мерен АДП индукованом агрегацијом тромбоцита различитим методама. Уочена је јака корелација у вредности ТРАП и АДП теста код методе мерења агрегабилности тромбоцита преко промене електричне импеданце (multiplate анализатор), али и указано индивидуални приступ сваком пацијенту приликом тумачења резултата (36).

5.2. Критеријуми процене ефекта антиагрегационе терапије

Једна од тешкоћа приликом мерења агрегабилности тромбоцита је недостатак јасно дефинисаних референтних вредности тестова функције тромбоцита па се различити истраживачи служе различитим критеријумима и дефиницијама приликом мерења одговора на антиагрегациону терапију.

Можемо директно да меримо вредност АДП и АСПИ теста и да на тај начин проценимо ефекат антиагрегационе терапије: клопидогрела и АСК. Што је вредност тестова виша то је већа резидуална агрегабилност тромбоцита и самим тим слабији ефекат лека.

Такође можемо да пратимо и однос базалне активности (пре терапије) и активности након терапије, тј однос АДП/ТРАП и АСПИ/ТРАП код сваког пацијента и на тај начин утврдимо у ком проценту је примена терапије редуковала активност тромбоцита.

Ослањајући се на резултат неколико клиничких студија више аутора сматра да висока вредност теста агрегабилности тромбоцита попут АДП теста након примене терапије (енг. *ontreatment platelet reactivity*) боље корелира са учесталашћу клиничких исхемијских догађаја од вредности односа вредности теста пре/после терапије (37, 38). У

нашем истраживању примењивали смо оба начина изражавања ефекта антиагрегационих лекова.

Пацијенти који су у својој терапији користили небиволол имали су најнижу вредност АДП теста након терапије (328 ± 197 АЈ/мин), док је највиша вредност била у групи са бисопрололом (404 ± 213 АЈ/мин). Статистичком анализом није утврђена значајна разлика између поређених група, али је вредност значајности од 0,059 између групе са небивололом и групе са бисопрололом била врло близу прага значајности од 0,05.

Поређењем односа АДП/ТРАП уочили смо значајно нижи проценат резидуалне АДП индуковане активације тромбоцита у односу на базалну вредност у групи која је користила небиволол него у групи која је користила бисопролол (39% наспрам 48%, $p=0,038$). Процент резидуалне АДП индуковане агрегабилности тромбоцита у групи која је користила карведилол био је 46%, а у групи која је користила метопролол 48%, што је више него у групи са небивололом али због мањег броја пацијената у поменуте две групе није уочена статистичка значајност у поређењу са небивололом.

Већ смо претходно напоменули да је АДП тест мерило ефекта клопидогрела на функцију тромбоцита, тако да нам добијени резултат односа АДП/ТРАП, као и вредност АДП теста указује на најизраженији ефекат клопидогрела у групи пацијената са небивололом.

Вредност АСПИ теста се није статистички разликовала између група, медијана као и средња вредност је била најнижа у групи која је користила небиволол, а највиша у групи која је користила бисопролол. Ни сама вредност односа АСПИ/ТРАП се није сигнификантно разликовала између група са различитом врстом бета блокатора, средња вредност и медијана односа АСПИ/ТРАП су биле готово уједначене између група. Како је вредност АСПИ теста мерило антиагрегационог ефекта АСК, нисмо уочили разлику у ефекту АСК између поређених група пацијената са различитом врстом бета блокатора.

Средња вредност базалне агрегабилности тромбоцита мерена кроз ТРАП тест је била највиша у групи која је користила бисопролол, а најнижа у групи која је користила

карведилол, али разлике између група су статистички незначајне. Агрегабилност тромбоцита је била на истом нивоу код све четири групе.

5.3. Заступљеност демографских, клиничких фактора, лабораторијских параметара између поређених група

На процес активације и агрегације тромбоцита утиче мноштво фактора чији ефекат може да се одрази на резултат истраживања. Током прикупљања и обраде података узели смо у обзир све демографске, клиничке и лабораторијске факторе, који би могли да утичу на вредност тестова агрегације. У регресионој анализи идентификовали смо да више различитих демографских, клиничких, лабораторијских фактора могу бити предиктори вредности тестова агрегације тромбоцита, а током статистичке обраде испитивали смо да ли је било статистички значајне разлике у њиховој заступљености између поређених група.

Није било статистички значајне разлике у просечној старости испитаника, нити у заступљености мушкараца и жена између група пацијената са различитом врстом бета блокатора. Фактори ризика: дијабетес, хиперлипидемија, пушење, хередитет, су били равномерно распоређени између група, док је постојала сигнификантна разлика у заступљености хипертензије између групе која је узимала метопролол (учесталост хипертензије 79,5%) и група које су узимале бисопролол (учесталост хипертензије 93%) и карведилол (учесталост хипертензије (94,4%). Униваријантна регресиона анализа није издвојила хипертензију као предиктор који би утицао на вредност АДП, АСПИ и ТРАП теста, као ни на однос АДП/ТРАП, АСПИ/ТРАП.

Од клиничких параметара није постојала статистички значајна разлика између различитих нивоа хитности процедура (хитни-интервенција у оквиру месец дана, елективни-интервенција након месец дана од дана постављања дијагнозе). Постојала је статистички значајна разлика између група у погледу заступљености ранијих кардиоваскуларних интервенција (перкутана коронарна интервенција, аортокоронарна бајпас операција) или прележаних кардиоваскуларних догађаја као што су ранији инфаркт

миокарда или ЦВИ. Највећи проценат пацијената који су претходно прележали инфаркт миокарда био је у групи која је користила карведилол, а највећи проценат пацијената који нису имали претходни кардиоваскуларни догађај или интервенцију био у групи која је користила бисопролол.

Заступљеност медикамената које су пацијенти користили у лечењу коронарне болести, а који би могли да утичу на функцију тромбоцита (органски нитрати, статини, инхибитори протонске пумпе, АЦЕ инхибитори, триметазидин, калцијумски блокатор-нифедипински тип) се није значајно разликовала између поређених група.

Вредности лабораторијских параметара се нису сигнификантно разликовале између поређених група, па самим тим не би могли да се одразе на добијене разлике у вредности тестова агрегације тромбоцита између поређених група. Од свих лабораторијских параметара које смо узели у обзир једино се концентарција креатинина у крви разликовала између поређених група при чему је највећа била у групи са карведилолом (92,5 $\mu\text{mol/L}$), а најнижа у групи са метопрололом (72,0 $\mu\text{mol/L}$). Униваријантна регресиона анализа није показала повезаност вредности креатинина и параметара функције тромбоцита.

Параметри хемостазе, комплетне крвне слике се нису сигнификантно разликовали између поређених група.

У нашем истраживању уочили смо различит проценат редукције АДП индуковане агрегабилности тромбоцита у односу на базалну вредност између група пацијената на двојној антиагрегационој терапији који су користили небиволол и бисопролол, при чему се та разлика не може приписати другим факторима који би утицали на агрегабилност тромбоцита осим самог ефекта различитих бета блокатора.

5.4. Бета блокатори и агрегабилност тромбоцита

Утицај бета блокатора на агрегабилност тромбоцита могао би да се објасни различитим механизмима. Познато је да катехоламини (адреналин, норадреналин) осим дејства на кардиоваскуларни систем испољавају ефекат и на тромбоците, где је потенцирају њихову агрегацију индуковану аденозин-ди-фосфатом (АДП-ом) и тромбоксаном (39), а у већој концентрацији директно стимулишу активацију, агрегацију и секрецију тромбоцита (40, 41). Тромбоцити на својој површини испољавају адренергичке претежно α_{2A} рецепторе, али се могу наћи и β_2 рецептори (42), који су потенцијална мета бета блокатора. Више аутора указало је на повезаност α_{2A} адренергичких рецептора и појаве резистенције на клопидогрел коју објашњавају повећаном активношћу и смањеном инактивацијом P2Y₁₂ рецептора (43). Берес (Beres) и сарадници су испитивали утицај адренергичког система на функцију тромбоцита код пацијената који су се лечили од ангине пекторис и узимали двојну антиагрегационој терапији (АСК, клопидогрел). Уочили су да су пацијенти који су имали повишену активност адренергичког система (мерену након примене ниске дозе адреналина, као и примене селективног инхибитора α_{2A} адренергичких рецептора-атипамезола) имали и повишен ниво АДП и колаген индуковане агрегабилности тромбоцита као и слабији инхибиторни ефекат тиенопиридина на АДП индуковану агрегабилност тромбоцита, мерену применом светлосне трансмисионе агрегометрије (44).

Неколико истраживача је указало на повећану АДП и тромбоксан индуковану агрегабилност тромбоцита у стањима са повећаном концентрацијом катехоламина попут акутног инфаркта миокарда (40), током раних јутарњих сати када је израженији тонус симпатикуса (45), па чак и током физичког и менталног стреса (46,47,48), зашта постоје и опречна мишљења других истраживача (49).

Сматрамо да би управо у стању повишене концентрације катехоламина примена бета блокатора спречила додатну активацију тромбоцита катехоламинима. Дејство бета блокатора на тромбоците не би требало ограничити само на антагонизам ефекта катехоламина. Познато је да поједини лекови из групе бета блокатора имају ефекат на

стабилизацију ћелијске мембране, као и друге додатне ефекте: блокада α рецептора, стимулација ослобађања азот монооксида из ендотела, антиоксидативни ефекат.

Антиагрегациони ефекат прве генерације бета блокатора попут пропранолола испитиван је током 80. и 90. година 20. века. Кемпбел (Campbell) и сарадници су показали да примена пропранолола у високој дози (320-640 mg дневно) код хипертензивних пацијената значајно редукује агрегабилност тромбоцита индуковану тромбином и арахидонском киселином, као и продукцију тромбоксана у тромбоцитима. Како је исти ефекат уочен и за његов стереоизомер, који не поседује својства бета блокатора, аутори објашњавају антиагрегациони ефекат пропранолола независно од бета блокаде, ефектом стабилизације ћелијске мембране (смањењем њене пропустљивости за јоне калцијума) (50).

У лабораторијском испитивању утицаја пропранолола уз помоћ светлосне трансмисионе агрегометрије у узорцима плазме богате тромбоцитима, Векслер (Weksler) и сарадници су показали да пропранолол у концентрацији (0,1-1 μ M), која одговара концентрацији у крви у клиничкој пракси, успорава брзину АДП индуковане агрегације тромбоцита и повећава праг тромбоцита за АДП индуковану агрегабилност, а у већој концентрацији (10-50 μ M) је директно спречио другу фазу агрегације тромбоцита. Сличан ефекат уочен је и за агрегацију тромбоцита индуковану адреналином, тромбином и колагеном, а примећена је и инхибиција секреције серотонина из тромбоцита након додавања пропранолола. Овакав ефекат пропранолола аутори објашњавају модулаторним ефектом на ћелијску мембрану тромбоцита, чинећи је мање сензитивном на проагрегаторне супстанце (51).

Група истраживача око Зиса (Siess) је пратила утицај пропранолола на агрегабилност тромбоцита у узорцима плазме богате тромбоцитима. Примена пропранолола је довела до инхибиције агрегације тромбоцита и продукције тромбоксана индуковане АДП-ом, адреналином и колагеном при концентрацији пропранолола (20-100 μ M), док је за инхибицију агрегације тромбоцита индуковане арахидонском киселином била потребна већа концентрација пропранолола (250-500 μ M). Овакав антиагрегациони ефекат пропранолола аутори нису потврдили у клиничкој пракси што објашњавају

податком да након примене уобичајене дневне дозе лека концентрација у крви не би могла да буде толико висока (52).

Антиагрегациони ефекат неселективног бета блокатора пропранолола није био предмет нашег истраживања због његове мање заступљености у терапији коронарних болесника, где је потиснут новијим и селективнијим врстама бета блокатора. У савременој терапији коронарне болести срца заступљени су претежно бета блокатори друге и треће генерације, који се одликују селективном блокадом β_1 рецептора или вазодилаторним својствима.

Неколико истраживача се бавило испитивањем антиагрегационог ефекта селективних бета блокатора друге генерације попут метопролола и ателолола. Радило се претежно о студијама са мањим бројем испитаника које су користиле различите методе мерења функције тромбоцита.

У истраживању које је претило утицај четири различита бета блокатора: пиндолола, ателолола, метопролола и тимолола, истраживачи су показали антиагрегациони ефекат метопролола и ателолола на агрегабилност тромбоцита индуковану колагеном, адреналином и АДП-ом, док ови лекови нису имали ефекат на агрегацију тромбоцита индуковану арахидонском киселином. Тимолол није показао антиагрегациона својства. Пиндолол је редуковао агрегацију тромбоцита индуковану АДП-ом, адреналином, колагеном као и арахидонском киселином (53).

У неколико студија није идентификован антиагрегациони ефекат селективних бета блокатора метопролола и ателолола или је показана њихова инфериорност у односу на друге врсте бета блокатора. Група скандинавских аутора испитивала је антиагрегациони ефекат селективног бета блокатора метопролола на агрегабилност тромбоцита индуковану АДП-ом код пацијената током 4 недеље након прележаног инфаркта миокарда. Истраживачи нису пронашли разлику у АДП индукованој агрегабилности тромбоцита код 30 пацијената који су користили метопролол у односу на 33 пацијента који су били на плацебу (54).

Утицај пропранолола и метопролола на АДП и адреналином индуковану агрегабилност тромбоцита, мерену светлосном трансмисионом агрегометријом, као и продукцију цАМП-а мерену одговарајућим сетовима за детекцију, упоређен је код 10 пацијената са хипертензијом. Половина пацијената је 2 недеље користила 80mg пропранолола (два пута дневно), а друга половина 100mg метопролола (два пута дневно). Након 2 недеље праћења групе су замењене. У групи са пропранололом уочен је мањи ниво АДП и адреналином индуковане агрегабилности тромбоцита, као и мања концентрација цАМП-а у серуму, што је указивало на израженији антиагрегациони ефекат пропранолола (55).

У истраживању које је поредило ефекат атенолола (100mg дневно) и пропранолола (у дози 40mg три пута дневно) на агрегабилност тромбоцита код 20 пацијената са хипертензијом показан је значајно већи антиагрегациони ефекат пропранолола у односу на атенолол у погледу стварања мањег броја тромбоцитних агрегата (56).

Група пацијената која је користила метопролол у нашем истраживању имала је сличан ниво АДП и арахидонат индуковане агрегабилности тромбоцита као и групе које су користиле бисопролол и карведилол, што упућује на његов подједнак утицај на агрегабилност тромбоцита као и два поменута бета блокатора. У групи са небивололом смо уочили нижи ниво агрегабилности тромбоцита индуковане АДП-ом у односу на групу са метопрололом, што упућује на израженији антиагрегациони ефекат небиволола, али због мањег броја пацијената у групи са метопрололом у није уочена статистичка значајност између ове две групе.

Већи број истраживача испитивао је антиагрегациони ефекат треће генерације бета блокатора: карведилола и небиволола и поредио њихов антиагрегациони ефекат у односу на друге врсте бета блокатора. Већина студија показала је антиагрегациони ефекат поменутих бета блокатора, при чему истраживачи овакав ефекат поред блокаде бета рецептора објашњавају и самом специфичношћу ових лекова односно њиховим додатним вазодилаторним и антиоксидативним својствима. Антиагрегациони ефекат селективног бета блокатора треће генерације бисопролола, који не поседује вазодилаторна својства

није до сада испитиван и поред тога што је један од најзаступљенијих бета блокатора који се примењује у лечењу пацијената са коронарном болешћу срца.

У међусобном поређењу антиагрегационог ефекта пропранолола, карведилола као и антагонисте калцијумских канала-верапамила истраживачи су показали антиагрегациони ефекат сва три лека на агрегабилност тромбоцита индуковану АДП-ом, колагеном и адреналином, у узорцима крви групе испитаника применом светлосне трансмисионе агрегометрије, као и путем мерења концентрације цАМП-а и тромбосана Б2, при чему је пропранолол показао најизраженији антиагрегациони ефекат (57).

Петрикова (Petrikova) и сарадници су испитивали антиагрегациони ефекат карведилола на агрегабилност тромбоцита индуковану тромбином, адреналином и АДП-ом мерену светлосном трансмисионом агрегометријом, као и продукцију тромбосана Б2 мерену RIA методом. Добијене резултате су потом упоредили са резултатима испитивања атенолола и пропранолола. Карведилол је испољио израженији антиагрегациони ефекат у редукцији активације тромбоцита и формирања тромбосана Б2 од пропранолола, док атенолол није показао антиагрегациона својства (58). Антиагрегациони ефекат карведилола аутори објашњавају претежно ефектом на макромолекуле ћелијске мембране (фосфолипиди, јонски канали, ензими) (59).

Закирова (Zakirova) и сарадници испитивали су утицај карведилола (у дози 12,5mg два пута дневно) и метопролола (100mg два пута дневно) на агрегабилност тромбоцита код пацијената након акутног инфаркта миокарда са СТ елевацијом користећи светлосну трансмисиону агрегометрију. Групу са карведилолом чинила су 42 пацијента, а групу са метопрололом 44 пацијента. Након 4 недеље праћења код пацијената који су користили карведилол уочена је мања АДП и колаген индукована агрегабилност тромбоцита у односу на групу са метопрололом. Истраживачи су уочили и мањи тромбоцитни волумен (MPV) у групи са карведилолом, који је један од предиктора исхода након инфаркта миокарда (60).

У испитивању утицаја карведилола на периферну хемодинамику и хемореолошке параметре попут агрегације еритроцита, вискозитета плазме, хематокрита, агрегацију тромбоцита код 11 геријатријских пацијената који су користили карведилол (10-20mg

дневно) током 8 недеља, поред антихипертензивног ефекта карведилол је испољио ефекат на побољшање каротидног протока мереног Доплер методом, смањење агрегације еритроцита, вискозитета крви, а такође редукован је и ниво циркулишућих агрегата тромбоцита (61).

Фалђијани (Falciani) и сарадници су поредили ефекат 3 различита бета блокатора: небиволола, карведилола и пропранолола на агрегабилност тромбоцита индуковану АДП-ом и колаген-ом користећи светлосну трансмисиону агрегометрију у узорку плазме богате тромбоцитима здравих особа. Сва три бета блокатора показала су антиагрегациони ефекат, од чега је ефекат небиволола на АДП и колаген индуковану агрегабилност тромбоцита био најизраженији. Аутори објашњавају ефекат небиволола утицајем на систем продукције азот монооксида (Л-аргинин NO систем), јер је додавање супстрата овог ензимског система-Л-аргинина појачало инхибиторни ефекат небиволола на агрегабилност тромбоцита, док је примена инхибитора азот монооксид синтазе умањила антиагрегациони ефекат небиволола (62).

Целик (Celik) и сарадници су упоредили антиагрегациони ефекат небиволола и метопролола код 72 испитаника који су лечени од хипертензије путем мерења средњег волумена тромбоцита (MPV), као и концентрације П-селектина. Након 6 месеци праћења пацијенти који су узимали небиволол (5mg дневно) су имали значајно нижи средњи волумен тромбоцита и концентрацију П-селектина, у односу на групу која је користила метопролол (100mg дневно) (63).

У студији која је обухватила 35 пацијената са хипертензијом након 2 месеца праћења небиволол у дози од 5mg дневно је осим ефекта на хипертензију деловао и на параметре хемостазе/фибринолизе, као што је смањење нивоа фибриногена и смањење времена лизирања еуглобина (ELT), који је један од показатеља интензитета фибринолизе (64).

Група руских истраживача испитивала је ефекат небиволола на микроциркулацију, вискозитет крви, спонтану и АДП индуковану агрегабилност тромбоцита код 30 пацијената са умереном хипертензијом користећи ласер-доплер флоуметрију. Након 3 месеца терапије (5mg небиволола дневно) регистрована је значајно мања спонтана и АДП

индукована агрегабилност тромбоцита, а код пацијената са спастично-хиперемичним типом микроциркулације дошло је до побољшања микроциркулације (65).

У испитивању антиагрегационог ефекта небиволола на Zucker дијабетесним пацовима показано је да су агрегација тромбоцита, као и параметри оксидативног стреса значајно више редуковани у групи са небивололом у односу на групу са атенололом. Евалуација експресије плазминоген активатор инхибитора и ћелијских молекула попут VCAM-1 и PECAM-1 у васкуларном зиду дијабетесних пацова који су третирани небивололом 6 месеци показала је повољну модификацију тих протромботичних маркера у односу на контролну групу са атенололом (66).

Добијени резултати нашег истраживања су указали да различите врсте бета блокатора показују различит ефекат на агрегабилност тромбоцита индуковану АДП-ом, док није било значајне разлике у утицају на агрегабилност тромбоцита индуковану арахидонском киселином, нити у вредности базалне агрегабилности тромбоцита.

Пошто су у истраживање укључени само пацијенти са бета блокатором, сматрамо да на основу дизајна истраживања не можемо донети закључак о значају искључиво блокаде бета адренергичких рецептора на агрегабилност тромбоцита, већ смо испитивали разлике у додатним ефектима различитих бета блокатора које би могле да утичу на агрегабилност тромбоцита. Између групе пацијената са неселективним бета блокатором карведилолом и групе пацијената са селективним бета блокаторима (небиволол, бисопролол, метопролол) није било статистички значајне разлике у вредности АДП теста. У групи са небивололом уочили смо највећи преценат редукције АДП индуковане агрегабилности тромбоцита у односу на базалну вредност, при чему је та редукција била значајно већа наго у групи са бисопрололом. Сматрамо да се овакав ефекат небиволола може објаснити специфичним својствима овог лека: дејством на продукцију азот монооксида, антиоксидативним ефектом, као што је описано и у претходно наведеним истраживањима.

5.5. Утицај небиволола на васкуларни ендотел, срчани мишић и ћелије крви

Изузев селективне блокаде β_1 адренергичких рецептора небивололу се преписује директан вазодилаторни ефекат на артеријске и венске крвне судове (4). Више истраживача показало је вазодилаторни ефекат небиволола на артеријске крвне судове подлактице код пацијената са хипертензијом, а у експерименталном моделу показао је вазодилаторни ефекат и на венске крвне судове руку (67, 68, 69). Овакав ефекат небиволола истраживачи објашњавају дејством на систем продукције азот монооксида у ендотелу крвних судова, при чему се повећава активност ендотелне форме азот моноксид синтазе (eNOS) (70), што се може супримирати додавањем инхибитора овог ензима (71).

Азот моноксид се у ендотелу ствара из аминокиселине L-аргинин под дејством ензима ендотелне азот моноксид синтазе. Након ослобађања дифузијом доспева до глатких мишићних ћелија крвног суда, где индукује стварање цикличног гуанозин монофосфата што доводи до вазодилатације, али и других ефеката. У условима када је смањено стварање вазодилатора, посебно азот монооксида настаје ендотелна дисфункција за коју се сматра да је повезана са атеросклерозом. Стимулација β адренергичких рецептора ендотела стимулише стварање азот монооксида под утицајем ендотелне синтазе азот монооксида, али парадоксно, прекомерна стимулација овог механизма инхибише синтезу азот монооксида и доводи до прекомерног стварања кисеоничних радикала (попут супероксидног анјона) (72). Прекомерна активација симпатичког система или повећање концентрације катехоламина у плазми један од главних чинилаца настанка ендотелне дисфункције услед блокаде стварања азот монооксида, повећаног стварања супероксидног анјона и синтезе инфламаторних медијатора (73, 74).

Поред вазодилаторне улоге, азот моноксид игра кључну улогу у очувању нормалне функције васкуларног ендотела. Он смањује адхезију и агрегацију тромбоцита, инхибише процес настанка тромба, адхезије моноцита на васкуларни ендотел, као и пролиферације глатких мишићних ћелија (75). Азот моноксид је такође део протективних механизма који ограничавају инфламацију ендотела, као и продукцију ткивних фактора (76). Више истраживача, попут Фалџијанија (Falciani) управо објашњава антиагрегациони

ефекат небиволола путем индукције стварања азот монооксида, а овој хипотези иде у прилог и чињеница да се додавањем супстрата азот монооксид синтазе, аминокиселине L-аргинина, појачава инхибиторни ефекат небиволола на агрегацију тромбоцита индуковану АДП-ом и колагеном, док инхибитори азот монооксид синтазе умањују антиагрегациони ефекат небиволола (62).

Поред индукције синтезе азот монооксида у васкуларном ендотелу постоје докази да небиволол индукује стварања азот монооксида у самом срчаном мишићу. У лабораторијском испитивању изолованих срца пацова перфундованих по Лантгендорфу Мафеи (Maffei) и сарадници су применом флуоресцентног маркера-диаминофлуоресцина, који је показатељ продукције азот монооксида, у миокарду пацова регистровали повећање продукције азот монооксида након примене небиволола у дозно зависном ефекту. Примећен је ефекат небиволола чак и при нижим концентрацијама лека (10^{-7} mol/L) и прогресивно се увећавао са повећањем дозе лека (77). Како су у миокарду присутне све три форме азот монооксид синтазе (не само ендотелна форма-eNOS, већ и индуцибилна форма-iNOS, као и неуронална nNOS), истраживачи су применом различитих врста инхибитора типова азот монооксид синтазе показали да се ефекат небиволола на индукцију стварања азот монооксида у срчаном мишићу пацова може инхибирати применом неселективног инхибитора азот монооксид синтазе (L-NAME), као и инхибитора iNOS изоформе (L-NIL) (78, 79).

Још увек није у попуности објашњено на који начин небиволол активира систем продукције азот монооксида у ендотелу и срчаном мишићу, а овакав ефекат се доводи у везу са активацијом β_3 адренергичких рецептора васкуларног ендотела и миокарда. Адренергички β_3 рецептори су идентификовани између осталих и у ћелијама ендотела и миокарда, а показано је да њихова активација доводи до стимулације продукције азот монооксида (80). На овакав механизам указују подаци да се вазодилататорни ефекат небиволола може инхибирати применом специфичног антагонисте β_3 адренергичких рецептора (77, 81), а у генетички модификованим мишевима (нокаут мишеви) који нису поседовали β_3 адренергички рецептор уочен је смањен вазодилататорни ефекат небиволола (82). Недавна истраживања показала су да небиволол, као и још двоје агониста β_3 рецептора могу да умање исхемијску реперфузиону повреду миокарда услед брзе

активације азот моноксид синтазе и продукције азот монооксида (83). Поред механизма повезаних са активацијом рецептора сматра се и да небиволол може да повећа генску експресију протеина, компонената eNOS, као iNOS система продукције азот монооксида (77, 84).

Небивололу се преписују и антиоксидативна својства која су показана у лабораторијском и у клиничким испитивањима. Небиволол је умањио стварање супероксидног анјона (85), редуковао концентрацију пероксинитрита (86), а у два истраживања (експерименталном на изолованој аорти пацова, и клиничком код 20 пацијената са хипертензијом) умањио је инактивацију азот монооксида кисеоничним радикалима у односу на контролну групу (87, 88). У експерименталним моделима хипертензије укључујући хипертензију ангиотензином II третираних пацова, спонтано хипертензивних пацова и трансгенских пацова са прекомерном експресијом ренина показано је да небиволол инхибише NADPH оксидазу и стварање кисеоничних радикала (86, 89, 90). Индукција стварања азот монооксида и неутралисање кисеоничних радикала заједно за блокадом β рецептора синергистички доприносе очувању функције ендотела након примене небиволола.

У неколико истраживања показан је и антиоксидативни ефекат карведилола. У лабораторијском испитивању култура ћелија хуманог ендотела које су третиране ЛДЛ липопротеином, оксидисаним ЛДЛ-ом и ТНФ α примена карведилола (40 μ M) редуковала је продукцију 8-изопростагландина (PG)F(2 α) као параметра оксидативног стреса. Овакав ефекат аутори нису нису уочили у клиничком истраживању примене карведилола (у дози 25mg дневно) односу на контролну групу, али је уочен тренд ка мањој концентрацији исопростана у урину и 3-нитротирозина у серуму као параметра оксидативног стреса, наговештавајући неспецифичан антиоксидативни ефекат карведилола (91).

Изразенији антиагрегациони ефекат небиволола у односу на друге бета блокаторе у нашем истраживању може се објаснити претодно наведеним механизмима индукције продукције азот монооксида у ендотелу, миокарду као његовим антиоксидативним својствима.

5.6. Ефекат ацетил салицилне киселине и клопидогрела на редукцију агрегабилности тромбоцита мерен уз помоћ multiplate анализатора

Примена антиагрегационе терапије: АСК, клопидогрел, редуковала је агрегабилност тромбоцита у односу на базалну вредност, али уочили смо да степен редукције агрегабилности тромбоцита након примене клопидогрела и АСК није био подједнак.

Средња вредност агрегабилности тромбоцита индуковане АДП-ом у целокупној популацији (укључујући све групе пацијената) била је 380 АЈ/мин, а средња вредност агрегабилности тромбоцита индуковане арахидонском киселином у целокупној испитиваној популацији била је 256 АЈ/мин, односно медијана 174 АЈ/мин.

Средња вредност процента резидуалне АДП индуковане агрегабилности тромбоцита у целокупној популацији (укључујући све групе пацијената) у односу на базалну вредност била је 0,44 (44%), док је средња вредност процента агрегабилности тромбоцита индуковане арахидонском киселином-ом у целокупној популацији у односу на базалну вредност била је 0,30 (30%), односно медијана 0,22 (22%).

Добијени резултати показују да је примена АСК ефикасније редуковала агрегабилност тромбоцита у односу на клопидогрел, остављајући мало простора да проценимо ефекат других чинилаца на функцију тромбоцита. Примена клопидогрела је у мањој мери утицала на функцију тромбоцита у поређењу са АСК, при чему је постојао хетероген интериндивидуални резултат, који је могао да буде последица мноштва фактора, између којих је и ефекат различитих бета блокатора.

Утицај терапијске дозе бета блокатора само на АДП индуковану агрегабилност тромбоцита је и у складу са резултатима претходно наведених истраживања који су утврдили да је за редукцију агрегације тромбоцита изазване арахидонском киселином потребна значајно већа доза бета блокатора од оне која се користи у клиничкој пракси и од оне која је потребна за редукцију АДП индуковане агрегабилности тромбоцита (51, 52, 53).

Недавно истраживање је показало да клопидогрел поред ефекта на P2Y₁₂ рецептор може и да умањити учесталост резистенције на АСК, што би могло да објасни већу ефикасност АСК у редукцији тромбоцитне агрегације код пацијената који уз АСК узимају клопидогрел (92).

Поставља се питање и саме сензитивности и специфичности теста у детектовању одговора на АСК и клопидогрел. У више клиничких испитивања резултати мерења АДП и агрегабилности тромбоцита индуковане арахидонском киселином мерене уз помоћ multiplate анализатора показале су корелацију са вредностима мерених другим методама.

Група италијанских истраживача поредила је multiplate агрегометрију (АДП тест, тест арахидонске киселине, колаген тест) са светлосном трансмисионом агрегометријом и PFA-100 методом (кетрици са колагеном, АДП-ом, епинефрином) код 297 пацијената са акутним коронарним синдромом на двојној антиагрегационој терапији. Сигнификантне корелације су идентификоване између multiplate методе и светлосне трансмисионе агрегометрије за све тестове агониста (АДП, арахидонске киселине, колагена). Значајна корелација је примећена и између multiplate методе (арахидонат и колаген тест) и PFA-100 методе (кетриц са епинефрином) (93).

Multiplate анализатор је у неколико истраживања мониторишања ефекта клопидогрела показао јаку корелацију са проточном цитометријом (користећи VASP метод). Неколико истраживања показало је да је у односу на multiplate анализатор проточна цитометрије поузданији метод праћења ефекта клопидогрела у лабораторијским условима у већини случајева (31, 32), али у истраживању које је пратило клинички значај резистенције на клопидогрел поредећи ове две методе, хиперагрегабилност тромбоцита детектована multiplate анализатором је била бољи предиктор каснијем настанку исхемијских догађаја у односу на резултате проточне цитометрије (33).

Постоји више истраживања везаних за процену поузданости multiplate анализатора у праћењу ефекта АСК у односу на друге методе. Мерење ефекта АСК применом multiplate анализатора показало се подједнако ефикасним као и метода Verify Now Aspirin и PFA-100 метода, код 52 пацијената на профилактичкој дози АСК (100мг дневно) (94).

Такође у мониторишању ефеката АСК код 21 здравих пацијената и 43 пацијената са коронарном болешћу срца multiplate анализатор се показао подједнако добар као и светлосна, трансмисиона агрегометрија (95). Групе аутора из Минхена показала је поузданост процене ефекта АСК преко АСПИ теста помоћу multiplate анализатора у односу на базалну активност мерену ТРАП тестом (96).

6. Закључци

1. Пацијенти са коронарном болешћу срца на двојној антиагрегационој терапији који су користили небиволол имали су статистички значајно нижи ниво резидуалне, АДП индуковане агрегабилности тромбоцита у односу на базалну вредност од пацијената који су користили бисопролол.
2. Није било статистички значајне разлике у вредности АДП индуковане агрегабилности тромбоцита између група пацијената са коронарном болешћу срца на двојној антиагрегационој терапији које су користиле различите врсте бета блокатора (бисопролол, небиволол, карведилол, метопролол). Постоји тренд ка нижој вредности АДП индуковане агрегабилности тромбоцита у групи пацијената која је користила небиволол у односу на групу која је користила бисопролол ($p=0,059$).
3. Већи проценат редукције агрегабилности тромбоцита индуковане АДП-ом у групи пацијената која је користила небиволол у односу на групу пацијената која је користила бисопролол је последица специфичног ефекта лека небивола.
4. Код пацијената са коронарном болешћу срца на двојној антиагрегационој терапији није било статистички значајне разлике у вредности агрегабилности тромбоцита индуковане арахидонском киселином (АСПИ тест) између група пацијената које су користиле различите врсте бета блокатора (бисопролол, небиволол, карведилол, метопролол).
5. Код пацијената са коронарном болешћу срца на двојној антиагрегационој терапији није било статистички значајне разлике у нивоу резидуалне агрегабилности тромбоцита индуковане арахидонском киселином у односу на базалну вредност између група пацијената које су користиле различите врсте бета блокатора (бисопролол, небиволол, карведилол, метопролол).
6. Није било статистички значајне разлике у вредности базалне агрегабилности тромбоцита, мерене ТРАП тестом код пацијената са коронарном болешћу срца које

су користиле различите врсте бета блокатора (бисопролол, небиволол, карведилол, метопролол).

7. Није било статистички значајне разлике у вредности АДП, арахидонат и ТРАП индуковане агрегабилности тромбоцита између пацијената који су користили неки од селективних бета блокатора (бисопролол, небиволол, метопролол) у односу на пацијенте који су користили неселективни бета блокатор (карведилол).

7. Литература

- 1) Sterin-Borda L, Bernabeo G, Ganzinelli S, Joensen L, Borda E. Role of nitricoxide/cyclic GMP and cyclic AMP in β_3 adrenoceptor-chronotropic response. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2006;40:580–588.
- 2) Kume H, Hall I, Washabau R, Takagi K, Kotlikoff M. Beta-adrenergic agonists regulate KCa channels in human airway smooth muscle cells by cAMP-dependent and -independent mechanisms. *Journal of Clinical Investigation* 1994;93(1):371-9.
- 3) Barnes P. Beta-adrenergic receptors and their regulation. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine* 1995;152(3):838-60.
- 4) Gao Y, Nagao T, Bond RA, Janssens WJ, Vanhoutte PM. Nebivolol induces endothelium dependent relaxations of canine coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacology* 1991;17:964–9.
- 5) Auerbach AD, Goldman L. Beta-Blockers and reduction of cardiac events in non-cardiac surgery. *Journal of the American Medical Association* 2002;287(11):1435-47.
- 6) The task force on the management of stable angina pectoris of the european society of cardiology guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary. *Eur Heart J* 2006; 27:1341-81.
- 7) Yusuf S, Wittes J, Friedman L. Overview of results of randomized clinical trials in heart disease. I. Treatments following myocardial infarction. *JAMA* 1988;260:2088–2093.
- 8) Freemantle N, Cleland J, Young P, Mason J, Harrison J. Beta Blockade after myocardial infarction: systematic review and meta regression analysis. *BMJ.* 1999; 26;318(7200):1730-7.

- 9) Pepine CJ, Cohn PF, Deedwania PC, Gibson RS, Handberg E, Hill JA, et al. Effects of treatment on outcome in mildly symptomatic patients with ischemia during daily life. The atenolol silent ischemia study (ASIST). *Circulation* 1994;90:762–768.
- 10) Ban de Ven L, Vermeulen A, Tans J, Tans, AC, Liem K, Lageweg N, Lie K. Which drug to choose for stable angina pectoris: a comparative study between bisoprolol and nitrates. *International Journal of Cardiology* 1995;47:217-23.
- 11) Savonitto S, Ardissino D, Egstrup K, Rasmussen K, Bae EA, Omland T, et al. Combination therapy with metoprolol and nifedipine, versus monotherapy in patients with stable angina pectoris. *Journal of the American College of Cardiology* 1996;27(2):311-6.
- 12) Wallace W, Wellington K, Chess M, Liang C. Comparison of nifedipine gastrointestinal therapeutic system and atenolol on antianginal efficacies and hemodynamic responses in stable angina pectoris. *American Journal of Cardiology* 1994;73(1):23-8.
- 13) Lopez-Sendon j, Swedberg K, McMurray J, Tamargo J, Maggioni AP, Dargie H, et al. Expert consensus document on beta-adrenergic receptor blockers. *European Heart Journal* (2004) 25, 1341–1362.
- 14) Van de Werf F, Ardissino D, Betriu A, Cokkinos DV, Falk E, Fox KA, et al. Task force of the management of acute myocardial infarction of the European society of cardiology. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2003;24:28–66.
- 15) ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients With ST-Elevation Myocardial Infarction—Executive Summary. A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of Patients With Acute Myocardial Infarction). *Circulation*. 2004; 110: 588-636.

- 16) Halkin A, Grines CL, Cox DA, Garcia E, Mehran R, Tcheng JE et al. Impact of intravenous beta-blockade before primary angioplasty on survival in patients undergoing mechanical reperfusion therapy for acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2004 May 19;43(10):1780-7.
- 17) Kernis SJ, Arguya KJ, Boura J. Does beta-blocker therapy improve clinical outcomes of acute myocardial infarction after successful primary angioplasty? A pooled analysis from the primary angioplasty in myocardial infarction-2 (PAMI-2). No surgery on-site (noSOS), stent PAMI and Air PAMI trials. *Circulation* 2003;108(Suppl.IV):416-7.
- 18) Dahlof B, Lindholm LH, Hansson L, Schersten B, Ekbom T, Wester PO. Morbidity and mortality in the Swedish trial in old patients with hypertension (STOP-Hypertension). *Lancet*. 1991;338:1281-5.
- 19) SHEP cooperative research group. Prevention of stroke by antihypertensive drug treatment in older persons with isolated systolic hypertension. Final results of the systolic hypertension in the elderly program (SHEP). *JAMA*. 1991; 265:3255-64.
- 20) Dahlöf B, Devereux RB, Kjeldsen SE, Julius S, Beevers G, de Faire U, et al. Cardiovascular morbidity and mortality in the losartan intervention for endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. *Lancet* 2002; 359:995-1003.
- 21) Dahlöf B, Sever PS, Poulter NR, Wedel H, Beevers DG, Caulfield M, et al. Prevention of cardiovascular events with an antihypertensive regimen of amlodipine adding perindopril as required versus atenolol adding bendroflumethiazide as required, in the anglo-scandinavian cardiac outcomes trial blood pressure lowering arm (ASCOT-BPLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 366:895-906.
- 22) CIBIS-II investigators and committees. The cardiac insufficiency bisoprolol study II (CIBIS-II): a randomised trial. *Lancet* 1999;353:9-13.

- 23) MERIT-HF study group. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure. Metoprolol CR/XL randomised intervention trial in congestive heart failure (MERIT-HF). *Lancet* 1999;353:2001–7.
- 24) Packer M, Fowler MB, Roecker EB, Coats AJ, Katus HA, Krum H, et al. Effect of carvedilol on the morbidity of patients with severe chronic heart failure: results of the carvedilol prospective randomized cumulative survival (COPERNICUS) study. *Circulation* 2002;106:2194–2199.
- 25) Flather MD, Shibata MC, Coats AJ, Van Veldhuisen DJ, Parkhomenko A, Borbola J, et al. Randomized trial to determine the effect of nebivolol on mortality and cardiovascular hospital admission in elderly patients with heart failure (SENIORS). *Eur Heart J* 2005;26:215–225.
- 26) ISIS-2 (second international study of infarct survival) collaborative group. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17 187 cases of acute myocardial infarction. *Lancet* 1988;II:349-60.
- 27) Marc S. Sabatine. Clopidogrel in ST-elevation myocardial infarction. *Eur Heart J Suppl* (October 2006) 8 (suppl G): G31-G34.
- 28) CURE: steering committee. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST elevation. *NEJM*;2001:345:494-502.
- 29) Gurbel PA, Becker RC, Mann KG, Steinhubl SR, Michelson AD. Platelet function monitoring in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1822–34.
- 30) Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, Shechter M, Beinart R, Goldenberg I, et al. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;109: 3171–5.
- 31) Mueller T, Dieplinger B, Poelz W, Calatzis A, Haltmayer M. Utility of whole blood impedance aggregometry for the assessment of clopidogrel action using the novel

multiplate analyzer--comparison with two flow cytometric methods. *Thromb Res.* 2007;121(2):249-58.

- 32) Freynhofer MK, Brozovic I, Bruno V, Farhan S, Vogel B, Jakl G, et al. Multiple electrode aggregometry and vasodilator stimulated phosphoprotein-phosphorylation assay in clinical routine for prediction of postprocedural major adverse cardiovascular events. *Thrombosis and Haemostasis* 106.2/2011.
- 33) Siller-Matula JM, Christ G, Lang IM, Delle-Karth G, Huber K, Jilma B. Multiple electrode aggregometry predicts stent thrombosis better than the vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation assay. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* . 11/2009; 8(2):351 - 359.
- 34) Sibbing D, Braun S, Morath, Mehilli J, Vogt W, Schömig A, et al. Platelet reactivity after clopidogrel treatment assessed with point-of-care analysis and early drug-eluting Stent. *J Am Coll Cardiol.* 2009;53(10):849-856.
- 35) Mrdovic I, Savic L, Krljanac G, Asanin M, Perunicic J, Antonijevic N, et al. Impact of high post-loading platelet aggregation on 30-day clinical outcomes after primary percutaneous coronary intervention. The antiplatelet regimen tailoring after primary PCI (ART-PCI) trial. *Int J Cardiol.* 2013 Aug 20;167(4):1632-7.
- 36) Gremmel T, Calatzis A, Steiner S, Kaider A, Seidinger D, Koppensteiner R, et al. Is TRAP-6 suitable as a positive control for platelet reactivity when assessing response to clopidogrel? *Platelets.* 2010;21(7):515-21.
- 37) Samara WM, Bliden KP, Tantry US, Gurbel PA. The difference between clopidogrel responsiveness and posttreatment platelet reactivity. *Thromb Res* 2005;115:89-94.
- 38) Tantry US, Bliden KP, Gurbel PA. What is the best measure of thrombotic risks—pretreatment platelet aggregation, clopidogrel responsiveness, or posttreatment platelet aggregation? *Catheter Cardiovasc Interv* 2005;66:597-8.

- 39) Mills B, Roberts K. Effects of adrenaline on human blood platelets. *J Physiol* 1967;193:443-453.
- 40) Sorkin RP, Tokarsky JM, Huber-Smith MJ, Steiger JF, McCann DS. In vivo platelet aggregation and plasma catecholamines in acute myocardial infarction. *Am Heart J*. 1982; 104:1255-61.
- 41) Anfossi G, Trovati M. Role of catecholamines in platelet function pathophysiological and clinical significance. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 353–370.
- 42) Steer ML, Atlas D. Demonstration of human platelet beta-adrenergic receptors using 125I-labeled cyanopindolol and 125I-labeled hydroxybenzylpindolol. *Biochimica et Biophysica Acta*. 05/1982; 686(2):240-4.
- 43) Xiang YZ. Adrenoreceptors, platelet reactivity and clopidogrel resistance. *Thromb Haemost* 2008; 100: 729–730.
- 44) Beres BJ, Toth-Zsomboki E, Vargova K, Laszlo A, Masszi T, Kerecsen G et al. Analysis of platelet alpha-2 adrenergic receptor activity in stable coronary artery disease patients on dual antiplatelet therapy. *Thromb Haemost* 2008; 100:829-836.
- 45) Andrews NP, Gralnick HR, Merryman P, Vail M, Quyyumi AA. Mechanisms underlying the morning increase in platelet aggregation: a flow cytometry study *J Am Coll Cardiol* 1996; 28:1789-1795.
- 46) Levites R, Haft JJ. Effects of Exercise-Induced Stress on Platelet Aggregation. *Cardiology* 1975; 60:304-314.
- 47) Wallen NH, Held C, Rehnqvist N, Hjemdahl P. Effects of mental and physical stress on platelet function in patients with stable angina pectoris and healthy controls. *Eur Heart Journal* 1997; 18:807-815.
- 48) Pietraszek MH, Takada Y, Takada A. Effect of Mental Stress on Platelet Aggregation: Possible Link to Catecholamine Levels. *Haemostasis* 1991; 21:346-352.

- 49) Wang JS, Li YS, Chen JC, Chen YW. Effects of exercise training and deconditioning on platelet aggregation induced by alternating shear stress in men. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2005; 25:454-460.
- 50) Campbell WB, Callahan KS, Johnson AR, Graham RM. Antiplatelet activity of beta-adrenergic antagonist: inhibition of thromboxane synthesis and platelet aggregation in patients receiving long-term propranolol treatment. *The Lancet* 1981; 318:1382-1384.
- 51) Weksler BB, Gillick M, Pink J. Effect of propranolol on platelet function. *Blood*: 1977 49: 185-196.
- 52) Siess W, Lorenz R, Roth P, Weber PC. Effects of propranolol in vitro and in vivo on platelet function and thromboxane formation in normal volunteers. *Agents Actions* 1983 Feb; 13(1):29-34.
- 53) Srivastava KC . Influence of some beta blockers (pindolol, atenolol, timolol and metoprolol) on aggregation and arachidonic acid metabolism in human platelets. *Prostaglandins Leukot Med* 1987 Sep; 29(1) :79-84.
- 54) Vilen L, Kutti J, Swedberg K, Vedin A. ADP-induced platelet aggregation and metoprolol treatment of myocardial infarction patients. A controlled study. *Acta Med Scan.* 1985;217:15-20.
- 55) Winther K, Knudsen JB, Gormsen J, Jensen J. Effect of metoprolol and propranolol on platelet aggregation and cAMP level in hypertensive patients. *European Journal of Clinical Pharmacology* 1986, Volume 29, Issue 5, pp 561-564.
- 56) Punda A, Polić S, Rumboldt Z, Bagatin J, Marković V, Lukin A. Effects of atenolol and propranolol on platelet aggregation in moderate essential hypertension: randomized crossover trial. *Croat Med J* 2005;46(2):219-224.
- 57) Gasser JA, Betteridge DJ. Comparison of the effects of carvedilol, propranolol, and verapamil on in vitro platelet function in healthy volunteers. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991:S29-34.

- 58) Petrikova M, Jancinova V, Nosal R, Majekova M, Fabryova V. Carvedilol- β blocker with considerable antiaggregatory effect on human blood platelets. *Bratisl Lek Listy* 2005; 106:20-25.
- 59) Petrikova M, Jancinova V, Nosal R, Majekova M, Danihelova E. Antiplatelet activity of carvedilol in comparison to propranolol. *Platelets*. 2002 Dec;13(8):479-85.
- 60) Zakirova AN, Garifullin BN, Zarudij FS, Zakirova NE. Effects of carvedilol on platelet aggregation in men with ST-elevation acute myocardial infarction. *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии* 2010;6(2):149-159.
- 61) Nagakawa Y, Akedo Y, Kaku S, Orimo H. Effects of carvedilol on common carotid arterial flow, peripheral hemodynamics, and hemorheologic variables in hypertension. *Eur J Clin Pharmacol*. 1990;38 Suppl 2:S115-9.
- 62) Falciani M, Rinaldi B, D'Agostino B, Mazzeo F, Rossi S, Nobili B, et al. Effects of nebivolol on human platelet aggregation. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2001;38:922-9.
- 63) Celik T, Yuksel UC, Iyisoy A, Kursaklioglu H, Ozcan O, Kilic S, et al. Effects of nebivolol on platelet activation in hypertensive patients: A comparative study with metoprolol. *International Journal of Cardiology* 2007;116(2):206-11.
- 64) Tarighi B, Kurum T, Demir M, Azcan SN. The effects of nebivolol on fibrinolytic parameters in mild and moderate hypertensive patients. *Can J Cardiol*. 2007 Jun;23(8):651-5.
- 65) Zadionchenko VS, Sandomirskaja AP, Adasheva TV, Gorbacheva EV, Matveev DV, Mareeva AP, et al. Effects of nebivolol on microcirculation, platelet aggregation and blood viscosity in patients with essential hypertension. *Kardiologija*. 2002;42(5):14-8.
- 66) Toblli JE, Cao G, Rivas C, Munoz M, Giani J, Dominici F, et al. Cardiovascular protective effects of nebivolol in Zucker diabetic fatty rats. *J Hypertens*. 2010;28:1007–1019.

- 67) Bowman AJ, Chen CPL, Ford GA. Nitric oxide-mediated venodilator effects of nebivolol. *Br J Clin Pharmacol*. 1994;38:199–204.
- 68) Cockcroft JR, Chowienczyk PJ, Brett SE, Chen CP, Dupont AG, Van Nueten L, et al. Nebivolol vasodilates human forearm vasculature: evidence for an L-arginine/NO-dependent mechanism. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995;274:1067–71.
- 69) Dawes M, Brett SE, Chowienczyk PJ, Mant TG, Ritter JM. The vasodilator action of nebivolol in forearm vasculature of subjects with essential hypertension. *Br J Clin Pharmacol*. 1999;48:460–3.
- 70) Parenti A, Filippi S, Amerini S, Granger HJ, Fazzini A, Ledda F. Inositol phosphate metabolism and nitric-oxide synthase activity in endothelial cells are involved in the vasorelaxant activity of nebivolol. *J Pharmacol Exp Ther*. 2000;292:698–703.
- 71) Bowman AJ, Chen CP, Ford GA. Nitric oxide mediated venodilator effects of nebivolol. *Br J Clin Pharmacol*. 1994;38:199–204.
- 72) Davel AP, Kawamoto EM, Scavone C, Vassallo DV, Rossoni LV. Changes in vascular reactivity following administration of isoproterenol for 1 week: a role for endothelial modulation. *Br J Pharmacol*. 2006;148:629–639.
- 73) Fukuda LE, Davel AP, Verissimo-Filho S, Lopes LR, Cachofeiro V, Lahera V, et al. Fenofibrate and pioglitazone do not ameliorate the altered vascular reactivity in aorta of isoproterenol-treated rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2008;52:413–421.
- 74) Ferro A, Queen LR, Priest RM, Xu B, Ritter JM, Poston L, et al. Activation of nitric oxide synthase by beta 2-adrenoceptors in human umbilical vein endothelium in vitro. *Br J Pharmacol*. 1999;126:1872–1880.
- 75) Joseph Loscalzo. Nitric Oxide Insufficiency, Platelet Activation, and Arterial Thrombosis. *Circ Res*. 2001;88:756-762.

- 76) Ganz P, Vita JA. Testing endothelial vasomotor function: nitric oxide, a multipotent molecule. *Circulation*. 2003;108:2049–2053.
- 77) Maffei A, Di Pardo A, Carangi R, Carullo P, Poulet R, Gentile MT et al. Nebivolol induces nitric oxide release in the heart through inducible nitric oxide synthase activation. *Hypertension*. 2007;50:652–656.
- 78) Massion PB, Feron O, Dessy C, Balligand JL. Nitric oxide and cardiac function. *Circ Res*. 2003; 93: 388–398.
- 79) Balligand JL, Kelly RA, Marsden PA, Smith TW, Michel T. Control of cardiac muscle cell function by an endogenous nitric oxide signalling system. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993; 90: 347–351.
- 80) Gauthier C, Leblais V, Kobzik L, Trochu JN, Khandoudi N, Bril A, Balligand JL, Le Marec H. The negative inotropic effect of beta3-adrenoceptor stimulation is mediated by activation of a nitric oxide synthase pathway in human ventricle. *J Clin Invest*. 1998; 102: 1377–1384.
- 81) Rozec B, Quang TT, Noireaud J, Gauthier C. Mixed beta3-adrenoceptor agonist and alpha1-adrenoceptor antagonist properties of nebivolol in rat thoracic aorta. *Br J Pharmacol*. 2006; 147: 699–706.
- 82) Dessy C, Saliez J, Ghisdal P, Daneau G, Lobysheva II, Frerart F, et al. Endothelial beta3-adrenoreceptors mediate nitric oxide-dependent vasorelaxation of coronary microvessels in response to the third-generation beta-blocker nebivolol. *Circulation* 2005;112:1198–1205.
- 83) Aragón JP, Condit ME, Bhushan S, Predmore BL, Patel SS, Grinsfelder DB, et al. Beta(3)-adrenoreceptor stimulation ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury via endothelial nitric oxide synthase and neuronal nitric oxide synthase activation. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58:2683–2691.

- 84) Ladage D, Brixius K, Hoyer H, Steingen C, Wesseling A, Malan D, Bloch W, Schwinger RH. Mechanisms underlying nebivolol-induced endothelial nitric oxide synthase activation in human umbilical vein endothelial cells. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33:720–724.
- 85) Cominacini L, Pasini AF, Garbin U, Nava C, Davoli A, Criscuoli M, et al. Nebivolol and its 4-keto derivative increase nitric oxide in endothelial cells by reducing its oxidative inactivation. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42:1838–1844.
- 86) Mason RP, Kubant R, Jacob RF, Walter MF, Boychuk B, Malinski T. Effect of nebivolol on endothelial nitric oxide and peroxynitrite release in hypertensive animals: role of antioxidant activity. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2006;48:862–869.
- 87) Groot AA, Mathy MJ, van Zwieten PA, Peters SL. Antioxidant activity of nebivolol in the rat aorta. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004;43:148–53.
- 88) Pasini AF, Garbin U, Nava MC, Stranieri C, Davoli A, Sawamura T, et al. Nebivolol decreases oxidative stress in essential hypertensive patients and increases nitric oxide by reducing its oxidative inactivation. *J Hypertens*. 2005;23:589–96.
- 89) Oelze M, Daiber A, Brandes RP, Hortmann M, Wenzel P, Hink U, et al. Nebivolol inhibits superoxide formation by NADPH oxidase and endothelial dysfunction in angiotensin II-treated rats. *Hypertension*. 2006;48:677–684.
- 90) Whaley-Connell A, Habibi J, Johnson M, Tilmon R, Rehmer N, Rehmer J, et al. Nebivolol reduces proteinuria and renal NADPH oxidase-generated reactive oxygen species in the transgenic Ren2 rat. *Am J Nephrol*. 2009;30:354–360.
- 91) Fahlbusch SA, Tsikas D, Mehls C, Gutzki FM, Boger RH, Frolich JC, et al. Effects of carvedilol on oxidative stress in human endothelial cells and healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol*. 2004 Apr;60(2):83-8.
- 92) Frelinger III AL, Furman MI, Linden MD, Li Y, Fox ML, Barnard MR, et al. Residual arachidonic acid-induced platelet activation via an adenosine diphosphate-dependent but

cyclooxygenase-1- and cyclooxygenase-2-independent pathway. A 700-patient study of aspirin resistance. *Circulation* 2006;113:2888–96.

93) Paniccia R, Antonucci E, Maggini N, Romano E, Gori AM, Marcucci R, et al. Assessment of Platelet Function on Whole Blood by Multiple Electrode Aggregometry in High-Risk Patients With Coronary Artery Disease Receiving Antiplatelet Therapy. *Am J Clin Pathol* 2009;131:834-842.

94) Can MM, Tanboga IH, Turkyilmaz E, Karabay CY, Akgun T, Koca F, et al. The risk of false results in the assessment of platelet function in the absence of antiplatelet medication: comparison of the PFA-100, multiplate electrical impedance aggregometry and verify now assays. *Thromb Res.* 2010;125(4):132-7.

95) Pedersen SB, Grove EL, Nielsen HL, Mortensen J, Kristensen SD, Hvas AM. Evaluation of aspirin response by Multiplate whole blood aggregometry and light transmission aggregometry. *Platelets.* 2009 Sep;20(6):415-20.

96) Jambor C, Weber CF, Gerhardt K, Dietrich W, Spannagl M, Heindl B, et al. Whole blood multiple electrode aggregometry is a reliable point-of-care test of aspirin-induced platelet dysfunction. *Anesth Analg.* 2009 Jul;109(1):25-31.

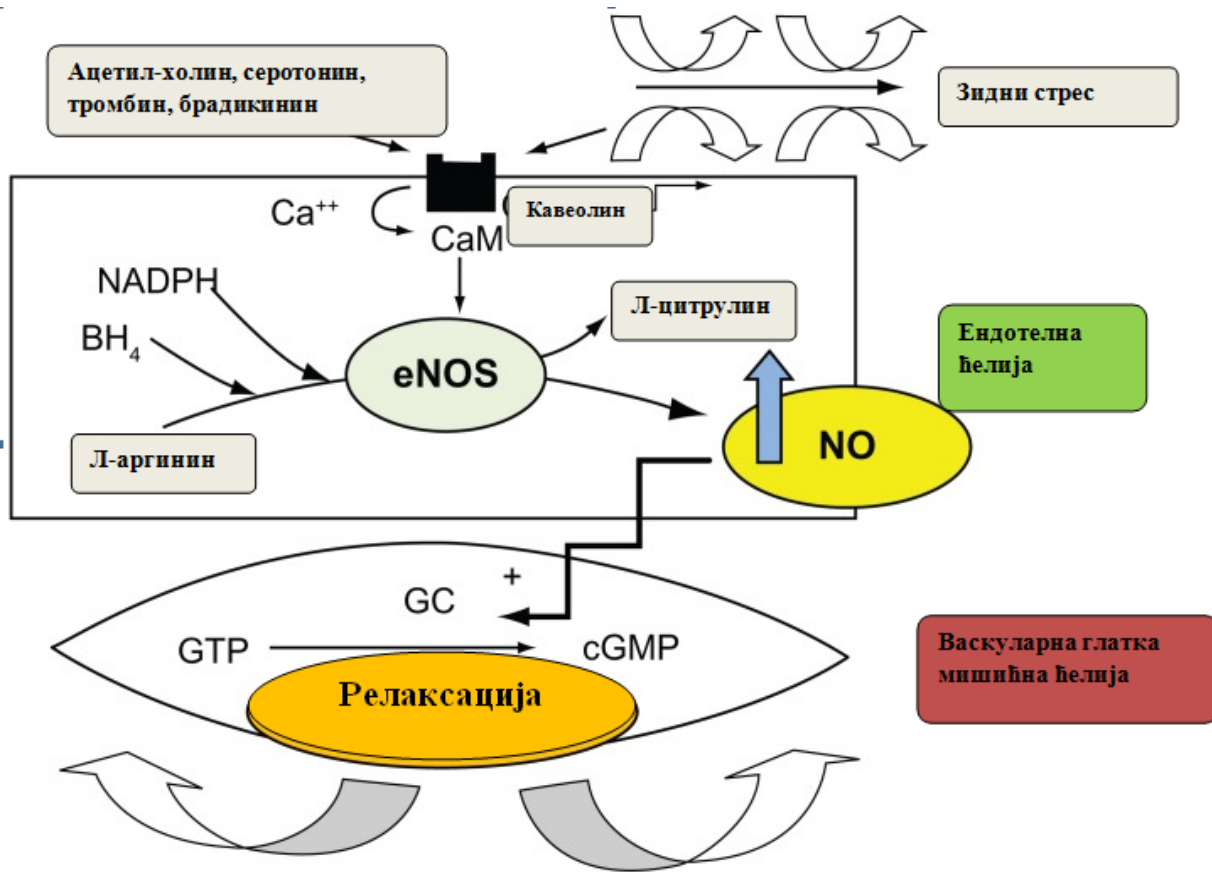
8. Прилози

Прилог 1: Различите методе мерења функције тромбоцита

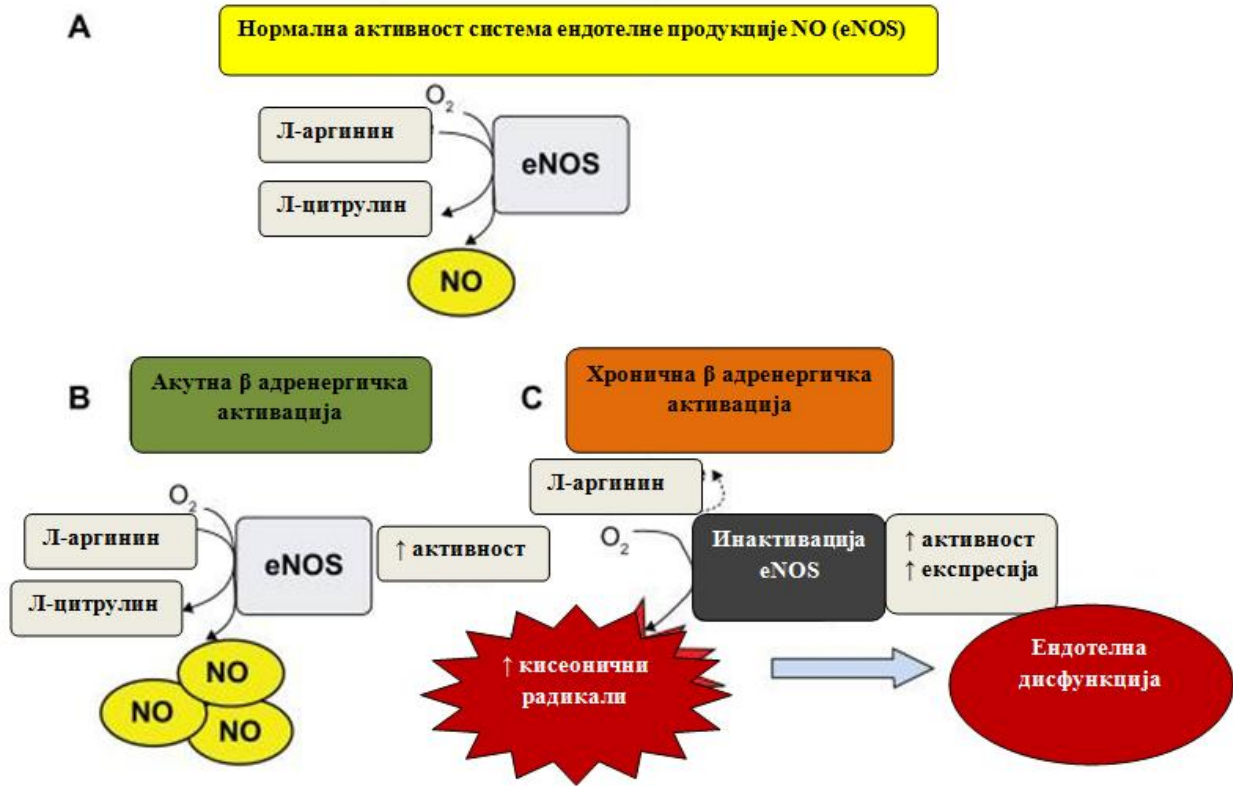
Тестови функције тромбоцита	Предности	Недостаци	Предикција исхода	Могућност праћена одговора		
				АСК	Тиенопиридини	ГП IIb/IIIa Инхиб.
Заустављање протока крви услед формирања тромбоцитног чепа						
Време крварења	In vivo; физиолошко	Није специфично, није сензитивно, индивидуално тумачење	Не	Не	Не	Не
PFA-100	Једноставно, брзо, узорак пуне крви, без припрема	Зависи од хематокрита, vWF.	Не	Да		
Агрегација тромбоцита						
Светлосна трансмисиона агрегометрија	Ранији златни стандард	Скупо, велика количина крви, комплексна припрема, дуготрајно, варијабилни резултати.	Да	Да	Да	
Агрегометрија путем мерња промена импеданце	Узорак пуне крви	Скупо, припрема узорка.	Да	Да	Да	Да
VerifyNow	Једноставно, брзо, без припеме узорка, узорак пуне крви.	Без подешавања инструмената	Да	Да	Да	Да
Plateletworks	Без припеме узорка, узорак пуне крви.	Недовољно испитивано	Не	Да	Да	Да
Адхезија тромбоцита						
Cone and plate(let) analyzer	Брзо, једноставно, мали узорак крви	Недоступно свуда	Не	Да	Да	
Допринос тромбоцита настанку тромба						
Тромбоеластограм	Узорак пуне крви, настанак и лиза тромба	Недовољно испитиван	Да	Да	Да	Да

Тестови функције тромбоцита	Предности	Недостаци	Предикција исхода	Могућност праћена одговора		
				АСК	Тиенопиридини	ГП IIb/IIIa Инхиб.
Детектовање промена на површини тромбоцита услед активације						
П селектин, активирани рецептори ГП IIb/IIIa, агрегати тромбоцита и леукоцита	Мали узорак пуне крви	Припрема узорка, скупно, обучено особље, захтева flow cytometer.	Да	Да	Да	Да
Сигнални путеви након активације тромбоцита						
ВАСП фосфорилација	Мали узорак пуне крви, зависно од P2Y ₁₂ рецептора	Припрема узорка, скупно, обучено особље, захтева flow cytometer.	Да	Не	Да	Не
Детекција медијатора ослобођених у процесу активације тромбоцита						
Мерење микрочестица ослобођене из тромбоцита	Мали узорак пуне крви	Припрема узорка, скупно, обучено особље, захтева flow cytometer.	Не	Не	Не	Не
Тромбоксан Б2 у серуму	СОХ-1 зависно	Индиректно, није специфично за тромбоците.	Не	Да	Не	Не
Уринарна екскреција 11-dehydro тромбоксана Б2	СОХ-1 зависно	Индиректно, није специфично за тромбоците.	Да	Да	Не	Не
Плазма солубилни CD40 лиганд	Већи део CD40 лиганда у плазми је из тромбоцита	Активација тромбоцита током издвајања плазме	Да	Не	Не	Не
Плазма ГП V	Зпецифично за тромбоците	Активација тромбоцита током издвајања плазме	Не	Не	Не	Не
Конституент α-гранула	Одговара секрецији тромбоцита	Активација тромбоцита про припреми, ендотелне ћелије секретују П-селектин.	Не	Не	Не	Не

Прилог 2: Механизам стварања азот монооксида (NO) у ендотелу.



Прилог 3: Утицај краткорочне и дугорочне стимулације β адренергичких рецептора на стварање азот монооксида.



ПРИЛОГ

8.1 КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

Редни број:

РБ

Идентификациони број:

ИБР

Тип документације:

Монографска документација

ТД

Тип записа:

Текстуални штампани материјал

ТЗ

Врста рада:

Докторска дисертација

ВР

Аутор:

Владимир Игњатовић

АУ

Ментор/коментор:

Проф. Др Синиша Павловић

МН

Наслов рада:

Утицај примене различитих бета блокатора на агрегабилност тромбоцита код пацијената са коронарном болешћу срца на двојној антиагрегационој терапији

НР

Језик публикације:

српски

ЈП

Језик извода:

српски/енглески

ЈИ

Земља публикавања:

Србија

ЗП

Уже географско подручје:

Шумадија

УГП

Година:

2013.

ГО

Издавач:

ауторски репринт

ИЗ

Место и адреса:

МС

Физичи опис рада:

113 страна, 18 табела, 30 графикона

ФО

Научна област:

Медицина

НО

Научна дисциплина:

Експериментална и клиничка Интерна медицина

ДИ

Предметна одредница/ кључне речи

Агрегабилност тромбоцита, бета блокатори, антиагрегациона терапија, коронарна болест

ПО

УДК

Чува се:

Универзитетска библиотека Универзитета у Крагујевцу,

ЧУ

Библиотека Факултета медицинских наука универзитета у Крагујевцу.

Важна напомена:

МН

Извод:

Примена бета блокатора у лечењу пацијената са коронарном болешћу срца повезана је са смањењем

учесталости ангинозних тегоба и морталитета пацијената. Због саме тежине болести и претходних кардиоваскуларних интервенција многи пацијенти са коронарном болешћу користе двојну антиагрегациону терапију у циљу постизања веће инхибиције агрегабилности тромбоцита. Утицај бета блокатора на агрегабилност тромбоцита код пацијената који користе антиагрегациону терапију је недовољно испитан.

Циљ: Испитати утицај различитих бета блокатора на агрегабилност тромбоцита код пацијената који користе двојну антиагрегациону терапију.

Методологија: Истраживање је обухватило 331 пацијента, лечених на Клиници за кардиологију КЦ Крагујевац у току 2011. године. Пацијенти су подељени у четири групе у зависности од врсте бета блокатора који су користили (биспролол, небиволол, метопролол, карведилол). Агрегабилност тромбоцита је мерена применом multiplate анализатора и изражена кроз вредност АДП теста (за процену ефекта клопидогрела), АСПИ теста (за процену ефекта АСК), ТРАП теста (за процену базалне агрегабилности тромбоцита) као и однос АДП/ТРАП и АСПИ/ТРАП који представљају степен инхибиције агрегабилности тромбоцита у односу на базалну вредност. У обзир је узета и заступљеност демографских, клиничких параметара, вредности лабораторијски параметара и заступљеност група кардиваскуларних лекова између поређених група.

Резултат: Пацијенети који су користили небиволол имали су значајно нижу вредност односа АДП/ТРАП теста ($0,39 \pm 0,30$) у односу на пацијенте који су користили биспролол ($0,48 \pm 0,26$; $p=0,038$), као и тренд ка нижој вредности АДП теста ($328,0 \pm 197,3$ према $403,7 \pm 213,2$; $p=0.059$) док није било статистички значајне разлике у вредности лабораторијских параметара функције тромбоцита

између осталих поређених група.

Закључак: Пацијенти са коронарном болешћу срца на двојној антиагрегационој терапији који су користили небиволол имали су статистички значајно нижи ниво резидуалне, АДП индуковане агрегабилности тромбоцита у односу на базалну вредност од пацијената који су користили бисопролол.

Датум прихватања теме од стране ННВ: 07.12.2011.

ДП

Датум одбране:

ДО

Чланови комисије:

КО

Проф. др Владимир Милорадовић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина

Доц. др Горан Давидовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина

Проф. др Радојица Столић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Приштини за ужу научну област Интерна медицина

Доц. др Предраг Ђурђевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина

Доц. др Михајло Јаковљевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија

8.2 KEY WORDS DOCUMENTATION

UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC FACULTY OF MEDICINE KRAGUJEVAC

Accession number:

ANO

Identification number:

INO

Documentation type:

monographic documentation

DT

Type of record:

Text printed material

TR

Contents code:

doctoral Dissertation

CC

Author:

Vladimir Ignjatović

AU

Menthor/co-mentor

Prof. dr Siniša Pavlović

MN

Title: The influence of different beta-blockers on platelet aggregation in patients with coronary heart disease on dual antiplatelet therapy
TI

Language of text: serbian
LT

Language of abstract: Serbian/english

Country of publication:
CP

Locality of publication: Serbia
LP

Publication year: 2013.
PY

Publisher: Author reprint
PU

Physical description 113 pages, 18 tables, 30 charts
PD

Scientific field: Medicine
SF

Scientific discipline:

Internal medicine

SD

Subject/key words:

Platelet aggregation, beta blockers, antiplatelet therapy, coronary heart disease

SKW

UDC

Holding data:

University Library, University of Kragujevac,
Library of the Faculty of Medical science
University of Kragujevac.

Note:

N

Abstract:

AB

The use of beta-blockers in the treatment of patients with coronary heart disease is associated with a decrease in the frequency of angina pectoris and mortality of patients. Due to the severity of the disease and previous cardiovascular interventionc, many patients with coronary artery disease use dual antiplatelet therapy to achieve greater inhibition of platelet aggregation. The influence of beta blockers on platelet aggregation in patients using antiplatelet therapy is not well understood.

Objective: To examine the effect of different beta-blockers on platelet aggregation in patients on dual antiplatelet therapy .

Methodology: The study included 331 patients

who were treated at the Department of Cardiology, Clinical Center Kragujevac during the 2011th year. Patients were divided into four groups depending on the type of beta-blockers that are used (bisoprolol, nebivolol, metoprolol, carvedilol). Platelet aggregation was measured using the multiplate analyzer and expressed through the value of ADP test (to assess the effect of clopidogrel), ASPI test (to assess the effect of ASA) TRAP test (to assess baseline platelet aggregation) and the ratio of ADP/TRAP and ASPI/TRAP representing the degree of inhibition of platelet aggregation compared to the basal value. In consideration was taken the representation of demographic, clinical characteristics, laboratory parameters and cardiovascular medications between the groups.

The result : patients which used by nebivolol had a significantly lower value of the ratio of ADP/TRAP (0.39 ± 0.30) compared to patients who used bisoprolol (0.48 ± 0.26 ,

$p = 0.038$), and trend toward lower values ADP test (328.0 ± 197.3 vs 403.7 ± 213.2 ,

$p = 0.059$) while there was no statistically significant difference in values of other laboratory parameters of platelet function between other groups.

Conclusion : Patients with coronary artery disease on dual antiplatelet therapy who used nebivolol had significantly lower levels of residual ADP-induced platelet aggregation compared to baseline than patients who used bisoprolol.

Accepted by the Scientific Board on:

07.12.2011.

ASB

Defended on:

DE

Thesis defended board

(Degree/name/surname/title/faculty)

DB

Prof. Vladimir Miloradovic, Univ. Professor,
Faculty of Medical Science, University of
Kragujevac in the specialized field of Internal
Medicine

Doc. dr Goran Davidovic, Assistant Professor,
Faculty of Medical Science, University of
Kragujevac in the specialized field of Internal
Medicine

Prof. dr Radojica Stolic, Univ. Professor of
Medicine at the University of Pristina in the
specialized field of Internal Medicine

Doc. Predrag Djurdjevic, Assistant Professor,
Faculty of Medical Science, University of
Kragujevac in the specialized field of Internal
Medicine

Doc. dr Mihajlo Jakovljevic, Assistant
Professor, Faculty of Medical Science,
University of Kragujevac in the specialized
field of Pharmacology

Биографија

Владимир Игњатовић, рођен 02. јануара 1981. године у Крагујевцу.

Образовање

1988-1996	Основна школа "Мирко Јовановић", Крагујевац (носилац дипломе Вук Караџић)
1996-2000	Прва крагујевачка Гимназија Смер: природно математички (носилац дипломе Вук Караџић)
2000-2003	Медицински факултет, Крагујевац, просечна оцена у току студија на Медицинском факултету у Крагујевцу 10.
2003-2006	Од 2003-2006. године наставио студирање на Медицинском факултету Универзитета у Бечу.
18.12.2006.	Дипломирао на Медицинском факултету Универзитета у Бечу са просечном оценом у току студија 9,44. Укупна дужина студирања 6 година.
Мај 2010.	Започео специјализацију из Интерне медицине у Клиничком центру Крагујевац.

Радови објављени у целини у часописима од међународног значаја

1. Ignjatovic VS, Petrovic Nj, Miloradovic V, Ignjatovic S, Cokanovic V, Grdinic A, Simic I, Petrovic I, Nikolic S, Andjelkovic A, Paramentic D, Ignjatovic S. The influence of bisoprolol dose on ADP-induced platelet aggregability in patients on dual antiplatelet therapy. *Coron Artery Dis.* 2010 Dec;21(8):472-6.
2. Grdinic A, Vojvodic D, Djukanovic N, Colic M, Grdinic AG, Ignjatovic V, Majstorovic I, Ilic V, Magic Z, Obradovic S, Ostojic M, Dolijanovic SP. PCI and clopidogrel: antiplatelet responsiveness and patient characteristics. *Acta Cardiol.* 2011 Jun;66(3):333-40. (M 23).
3. Simić I, Zdravković V, Davidović G, Irić-Ćupić V, Vučić R, Tasić M, Ignjatović V. fractional flow reserve of intermediate lesions on collateral donor coronary arteries after myocardial infarction. *Arch. Biol. Sci., Belgrade,* 65 (2), 571-576, 2013.
4. Simić I, Zdravković V, Vučić R, Miloradović V, Jagić N, Irić-Ćupić V, Ignjatović V, Petrović M. fractional flow reserve in patients with intermediate values of duke treadmill score and borderline coronary lesions. has been accepted on the recent session of the Editorial Committee of the Archives of Biological Sciences Belgrade and will therefore be published in vol. 65, 4 (2013).

Монографска библиографска публикација

1. Игњатовић Владимир, дипломски рад: "Cost effectiveness of the percutaneous intervention with Taxus drug eluted stent in patients with multivessel coronary artery disease: Comparison with aortocoronary bypass operation". Medizinische Universität Wien, 2006.

Curriculum vitae

Vladimir Ignjatovic, born 02 January in 1981. in Kragujevac.

Education

1988-1997	Primary School in Kragujevac
1996-2001	High school in Kragujevac, Serbia
2000-2003	School of Medicine, Kragujevac
2003-2006	Continued to study medicine at the Medical University of Vienna
18.12.2007.	Graduated at the Medical University of Vienna
Maj 2010.	Started specialization of Internal medicine for the Clinical Center Kragujevac

Papers published in journals of international importance

1. Ignjatovic VS, Petrovic Nj, Miloradovic V, Ignjatovic S, Cokanovic V, Grdinic A, Simic I, Petrovic I, Nikolic S, Andjelkovic A, Paramentic D, Ignjatovic S. The influence of bisoprolol dose on ADP-induced platelet aggregability in patients on dual antiplatelet therapy. *Coron Artery Dis.* 2010 Dec;21(8):472-6.
2. Grdinic A, Vojvodic D, Djukanovic N, Colic M, Grdinic AG, Ignjatovic V, Majstorovic I, Ilic V, Magic Z, Obradovic S, Ostojic M, Dolijanovic SP. PCI and clopidogrel: antiplatelet responsiveness and patient characteristics. *Acta Cardiol.* 2011 Jun;66(3):333-40.
3. Simić I, Zdravković V, Davidović G, Irić-Ćupić V, Vučić R, Tasić M, Ignjatović V. fractional flow reserve of intermediate lesions on collateral donor coronary arteries after myocardial infarction. *Arch. Biol. Sci.*, Belgrade, 65 (2), 571-576, 2013.
4. Simić I, Zdravković V, Vučić R, Miloradović V, Jagić N, Irić-Ćupić V, Ignjatović V, Petrović M. fractional flow reserve in patients with intermediate values of duke treadmill score and borderline coronary lesions. has been accepted on the recent session of the Editorial Committee of the Archives of Biological Sciences Belgrade and will therefore be published in vol. 65, 4 (2013).

Monographic bibliographic publications

1. Vladimir Ignjatovic, thesis: "Cost effectiveness of the percutaneous intervention with Taxus drug eluted stent in patients with multivessel coronary artery disease: Comparison with aortocoronary bypass operation". Medizinische Universität Wien, 2006.

ОБРАЗАЦ 1.

Изјава о ауторству

Потписани-а Владимир Игњатовић
број уписа 2007/72

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом
УТИЦАЈ ПРИМЕНЕ РАЗЛИЧИТИХ БЕТА БЛОКАТОРА НА АГРЕГАБИЛНОСТ ТРОМБОЦИТА КОД
ПАЦИЈЕНАТА СА КОРОНАРНОМ БОЛЕШЋУ СРЦА НА ДВОЈНОЈ АНТИАГРЕГАЦИОНОЈ ТЕРАПИЈИ

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Крагујевцу, 26.10.2008.

Владимир Игњатовић

ОБРАЗАЦ 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора ВЛАДИМИР ИГЊАТОВИЋ
Број уписа 2009/72
Студијски програм ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА И КЛИНИЧКА ИНТЕРНА МЕДИЦИНА
Наслов рада УТИЦАЈ ПРИМЕНЕ РАДЛИЧНИХ БЕТА БЛОКАТОРА НА АГРЕГАЦИЈУ ТРОМБОЦИТА КОД ПАЦИЈЕНАТА
Ментор САКОРОНАТОС БОЛЕШЋУ СРЦА НА ДВОЈНОЈ АНТИАГРЕГАЦИОНОЈ ТЕРАПИЈИ
Проф. др Снежана Павловић, ментор
Потписани ВЛАДИМИР ИГЊАТОВИЋ

изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу**.

Дозвољавам да се објаве који лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијана Универзитета у Крагујевцу.

Потпис аутора

у Крагујевцу, 26.10.2009.

Владимир Игњатовић

ОБРАЗАЦ 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу унесе моју докторску дисертацију под насловом:

УТИЦАЈ ПРИМЕНЕ РАЗЛИЧИТИХ БЕТА БЛОКАТОРА НА АГРЕГАБИЛНОСТ ТРОМБОЦИТА КОД ПАЦИЈЕНАТА СА КОМБИНИРАНОМ БИОМЕТРИЈУ СРЦА ИЛИ АРТЕРИЈОСКОМ ХИПЕРТАЗИЈОМ У ТЕРАПИЈИ
која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Крагујевцу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство - некомерцијално - без прераде
4. Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
5. Ауторство - без прераде
6. Ауторство - делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, чије је краatak опис дат је на обрасцу број 4.).

Потпис аутора

У Крагујевцу, *26.10.2013*

Владимир Шкобарец