

Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
Wydział Lekarski

Artur Dziewierz

Oporność na leczenie kłopidogrelem u pacjentów
z chorobą niedokrwienną serca

Praca doktorska

Promotor: Prof. dr hab. med. Jacek S. Dubiel

Pracę wykonano w II Klinice Kardiologii Instytutu Kardiologii
Kierownik jednostki: Prof. dr hab. med. Jacek S. Dubiel

Kraków, 2007 rok

*Wielce Szanownemu Panu Prof. dr hab. med. Jackowi S. Dubielowi
Kierownikowi II Kliniki Kardiologii Collegium Medicum Uniwersytetu
Jagiellońskiego, serdecznie dziękuję za ogromny wkład w realizację pracy, za
cenne uwagi i wskazówki oraz za życzliwość w trakcie tworzenia pracy.*

*Wyrazy wdzięczności składam także Koleżankom i Kolegom z II Kliniki
Kardiologii, Zakładu Hemodynamiki i Angiokardiografii Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego, za umożliwienie badań oraz za życzliwość i
pomoc w realizacji niniejszej pracy.*

Spis treści

Wykaz użytych skrótów.....	5
1. Wstęp	8
1.1 Wprowadzenie.....	8
1.2 Budowa i funkcja płytek krwi	9
1.3 Płytkowe receptory dla ADP (receptory purinergiczne).....	10
1.4 Farmakodynamika i mechanizm działania kłopidogrelu	11
1.5 Wyniki badań klinicznych z zastosowaniem kłopidogrelu	13
1.6 Aktualne wytyczne dotyczące stosowania kłopidogrelu	21
1.7 Metody laboratoryjne oceniające odpowiedź na leczenie kłopidogrelem	22
1.8 Zjawisko oporności na leczenie kłopidogrelem	27
1.9 Potencjalne mechanizmy zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem	27
1.9.1 Brak lub ograniczone przyjmowanie leku przez pacjenta.....	28
1.9.2 Upośledzone wchłanianie kłopidogrelu	29
1.9.3 Interakcje z lekami metabolizowanymi przez CYP3A4	30
1.9.4 Czynniki genetyczne	32
1.9.5 Zwiększony obrót pulą płytek krwi	34
1.10 Potencjalne znaczenie zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem	34
2. Cele badania	35
3. Metodyka	36
3.1 Badana populacja.....	36
3.2 Stosowane leczenie.....	36
3.3 Ocena kliniczna	38
3.4 Pomiar stopnia zahamowania agregacji płytek krwi	39
3.4.1 Metodyka pomiaru	39
3.4.2 Odczynniki i reagenty	40
3.4.3 Pobranie i przygotowanie próbek krwi	40
3.4.4 Procedury pomiaru.....	41
3.4.5 Definicja oporności na leczenie kłopidogrelem	42
3.5 Analiza statystyczna	42
4. Wyniki.....	43
4.1 Wpływ kłopidogrelu na stopień zahamowania agregacji płytek krwi.....	43

4.2	Przebieg kliniczny	45
4.3	Częstość zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem	47
4.4	Wczesna identyfikacja zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem	49
4.5	Oporność na leczenie kłopidogrelem w terapii przewlekłej	50
4.6	Charakterystyka kliniczna, a zjawisko oporności na leczenie kłopidogrelem	51
4.7	Leczenie współistniejące, a zjawisko oporności na leczenie kłopidogrelem	52
4.8	Zjawisko oporności na leczenie kłopidogrelem, a wyniki kliniczne leczenia	57
5.	Dyskusja.....	58
5.1	Wpływ kłopidogrelu na stopień zahamowania agregacji płytek krwi.....	58
5.2	Częstości zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem	58
5.3	Wczesna identyfikacja zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem	59
5.4	Charakterystyka kliniczna, a zjawisko oporności na leczenie kłopidogrelem	60
5.5	Oddziaływanie pomiędzy lekami jako przyczyna zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem.....	62
5.6	Znaczenie kliniczne zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem	63
5.7	Postępowanie w przypadku oporności na leczenie kłopidogrelem	69
5.7.1	Wysokie dawki kłopidogrelu.....	69
5.7.2	Nowe inhibitory receptora płytkowego P2Y ₁₂	70
5.7.3	Cilostazol.....	72
5.7.4	Dożylnie inhibitory receptora płytkowego GPIIb/IIIa	73
5.8	Oporność na inne leki przeciwplatekcyjne.....	74
5.8.1	Oporność na leczenie aspiryną	74
5.8.2	Oporność na leczenie inhibitorami GPIIb/IIIa	76
5.8.3	Oporność na inne leki przeciwplatekcyjne, a oporność na kłopidogrel	77
5.9	Znane ograniczenia badania	78
6.	Wnioski	80
7.	Streszczenia	81
7.1	Streszczenie w języku polskim.....	81
7.2	Streszczenie w języku angielskim	85
8.	Załączniki	88
8.1	Spis rycin.....	88
8.2	Spis tabel.....	90
9.	Piśmiennictwo.....	91

Wykaz użytych skrótów

ACE-I	ang. <i>angiotensin converting enzyme - inhibitor</i> , inhibitor konwertazy angiotensyny
ADP	adenozynodifosforan
ALBION	ang. <i>Assessment of the best Loading dose of clopidogrel to Blunt platelet activation, Inflammation and Ongoing Necrosis</i>
ARMYDA-2	ang. <i>Antiplatelet therapy for Reduction of MYocardial Damage during Angioplasty</i>
ATP	adenozynotrifosforan
Ca-bloker	bloker kanałów wapniowych
CABG	ang. <i>coronary artery bypass grafting</i> , pomostowanie aortalno-wieńcowe
cAMP	cykliczny monofosforan
CAPRIE	ang. <i>Clopidogrel vs Aspirin in Patients at Risk of Ischemic Events</i>
CCS	ang. <i>Canadian Cardiovascular Society</i>
CHAMPION-PCI	ang. <i>Clinical Trial Comparing Cangrelor to Clopidogrel in Subjects Who Require Percutaneous Coronary Intervention</i>
CHAMPION-PLATFORM	ang. <i>Clinical Trial Comparing Treatment With Cangrelor (in Combination With Usual Care) to Usual Care, in Subjects Who Require Percutaneous Coronary Intervention</i>
CHARISMA	ang. <i>Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management, and Avoidance</i>
CI	ang. <i>confidence interval</i> , przedział ufności
CK-MB	izoenzym kinazy fosfokreatynowej pochodzenia sercowego
CPK	ang. <i>creatine phosphokinase</i> , kinaza fosfokreatynowa
CLARITY-TIMI-28	ang. <i>Clopidogrel as Adjunctive Reperfusion Therapy - Thrombolysis In Myocardial Infarction 28</i>
CLASSICS	ang. <i>Clopidogrel Aspirin Stent International Cooperative Study</i>
CLEAR-PLATELETS	ang. <i>Clopidogrel Loading With Eptifibatide to Arrest the Reactivity of Platelets</i>
COMMIT	ang. <i>Clopidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial</i>
COX	cyklooksygenaza
CREDO	ang. <i>Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation</i>
CREST	ang. <i>Clopidogrel effect on platelet REactivity in patients with Stent Thrombosis</i>
CURE	ang. <i>Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent ischemic Events</i>
CURRENT / OASIS-7	ang. <i>Clopidogrel Optimal Loading Dose Usage to Reduce Recurrent Events / Optimal Antiplatelet Strategy for Interventions – 7</i>

CY	cytochrom
DISPERSE 2-TIMI-33	ang. <i>Safety, Tolerability and Preliminary Efficacy of AZD6140, the First Oral Reversible ADP Receptor Antagonist, Compared with Clopidogrel in Patients with Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndrome</i>
ESPRIT	ang. <i>Enhanced Suppression of the Platelet IIb/IIIa Receptor with Integrilin Therapy</i>
EXCELSIOR	ang. <i>Impact of Extent of Clopidogrel Induced Platelet Inhibition During Elective Stent Implantation on Clinical Event Rate</i>
GP	glikoproteina
HR	ang. <i>hazard ratio</i> , hazard względny
Hb	hemoglobina
HbA1C	hemoglobina glikolizowana
HOPE	ang. <i>Heart Outcomes Prevention Evaluation</i>
Ht	hematokryt
inhibitor GPIIb/IIIa	dożylny inhibitor receptora płytkowego GPIIb/IIIa
INTERACTION	ang. <i>Interaction of Atorvastatin and Clopidogrel Study</i>
ISAR-CHOICE	ang. <i>Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose Between 3 High Oral Doses for Immediate Clopidogrel Effect</i>
ISAR-CHOICE 2	ang. <i>Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose a High Oral maintenance dose for Intensified Clopidogrel Effect 2</i>
ISAR-REACT	ang. <i>Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen-Rapid Early Action for Coronary Treatment</i>
ISAR-SMART 2	ang. <i>Intracoronary Stenting or Angioplasty for Restenosis Reduction in Small Arteries</i>
ISAR-SWEET	ang. <i>Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Is Abciximab a Superior Way to Eliminate Elevated Thrombotic Risk in Diabetics</i>
JUMBO-TIMI-26	ang. <i>Joint Utilization of Medications to Block Platelets Optimally – TIMI-26</i>
LVEF	ang. <i>left ventricular ejection fraction</i> , frakcja wyrzutowa lewej komory
MITRA PLUS	ang. <i>Maximal Individual Therapy of Acute Myocardial Infarction PLUS registry</i>
NSTE-ACS	ang. <i>non-ST-segment elevation acute coronary syndrome</i> , ostry zespół wieńcowy bez uniesienia odcinka ST
OPUS-TIMI-16	ang. <i>Orbofiban in Patients with Unstable coronary Syndromes-TIMI-16</i>
OR	ang. <i>odds ratio</i> , iloraz szans
PCI	ang. <i>percutaneous coronary intervention</i> , zabieg przezskórnej interwencji wieńcowej
PLATO	ang. <i>Platelet Inhibition and Patient Outcomes</i>
PREPARE POST-STENTING	ang. <i>Platelet REactivity in PATients and REcurrent events POST-STENTING</i>

PRINCIPLE-TIMI-44	ang. <i>Prasugrel in Comparison to Clopidogrel for Inhibition of Platelet Activation and Aggregation</i>
PRONTO	ang. <i>Plavix Reduction of New Thrombus Occurrence</i>
RESISTOR	ang. <i>Research Evaluation to Study Individuals Who Show Thromboxane or P2Y12 Receptor Resistance</i>
RR	ang. <i>relative risk</i> , ryzyko względne
STEMI	ang. <i>ST-segment elevation myocardial infarction</i> , zawał serca z uniesieniem odcinka ST
SZAP	stopień zahamowania agregacji płytek krwi
ΔSZAP	zmiana stopnia zahamowania agregacji płytek krwi
TOPPS	ang. <i>Ticlid or Plavix Post-Stents</i>
TRAP	ang. <i>thrombin receptor activating peptide</i> , peptyd aktywujący receptor dla trombiny
TRITON-TIMI-38	ang. <i>Trial to assess Improvement of Therapeutic outcomes by Optimizing platelet inhibition with prasugrel-TIMI-38</i>
TTP	ang. <i>thrombotic thrombocytopenic purpura</i> , zakrzepowa płamica małopłytkowa
TX	tromboksan
VASP	ang. <i>vasodilator-stimulated phosphoprotein</i> , fosfoproteina stymulowana przez związki rozszerzające naczynia
vWF	ang. <i>von Willebrand factor</i> , czynnik von Willebranda

1. Wstęp

1.1 Wprowadzenie

Miażdżyca jest złożonym zjawiskiem, w którym istotną rolę odgrywają przewlekłe procesy zapalne obejmującym przede wszystkim tętnice średniego i dużego kalibru. Proces ten rozpoczyna się wcześniej już w okresie dzieciństwa i postępuje najczęściej bezobjawowo, stopniowo do okresu dorosłości.^{1, 2} Miażdżyca może manifestować się wystąpieniem incydentów sercowo-naczyniowych, na przykład ostrego zespołu wieńcowego, czy też udaru niedokrwienego mózgu. Są one najczęściej następstwem pęknięcia lub erozji blaszki miażdżycowej z następowym formowaniem się zakrzepu.³ Kluczową rolę w jego powstawaniu pełnią płytki krwi. Bliższe poznanie patofizjologii tworzenia zakrzepu, w tym procesów aktywacji i agregacji płytek krwi przyczyniło się do coraz szerszego stosowania leków przeciwplatek w terapii i zapobieganiu incydentom sercowo-naczyniowym.² „Złotym standardem” w prewencji i leczeniu miażdżycy tętnic wieńcowych i obwodowych pozostaje zastosowanie aspiryny. Terapia aspiryną wiąże się z 25% ($p=0,0001$) redukcją ryzyka wystąpienia zawału serca, udaru niedokrwienego mózgu lub śmierci z przyczyn sercowo-naczyniowych.⁴ W podgrupie pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym bez uniesienia odcinka ST (ang. *non-ST-segment elevation acute coronary syndrome*, NSTEMI-ACS) obserwowana redukcja ryzyka może być jeszcze bardziej wyrażona i sięgać 46% (w metaanalizie *Antithrombotic Trialist Collaboration* odpowiednio z 13,3% do 8,0%).⁴ Pomimo tego, leczenie samą aspiryną wydaje się nie chronić przed wystąpieniem incydentów niedokrwienych w znaczącej części przypadków, w szczególności w grupie pacjentów wysokiego ryzyka. Tym samym celem poprawy osiąganych wyników klinicznych leczenia wprowadzono leki wykazujące silniejsze działanie przeciwplatekowe. Jednym z nich jest kłopidogrel, będący doustnym lekiem przeciwplatekowym z grupy tienopirydyn, który selektywnie i nieodwracalnie hamuje zależną od adenozylo-5'-difosforanu (ADP) agregację płytek krwi. Aspirynę i kłopidogrel uważa się za stosunkowo słabe i bezpieczne leki przeciwplatekowe, ponieważ każde z nich blokuje tylko jeden z wielu szlaków aktywacji płytek krwi. Co istotne, łączne zastosowanie tych

leków wykazuje synergistyczny i silniej wyrażony efekt przeciwpłytkowy niż w przypadku osobnego ich podania.

1.2 Budowa i funkcja płytek krwi

Płytki krwi są komórkami pozbawionymi jądra, w kształcie płaskiego dysku o średnicy 2-4 μm powstającymi poprzez fragmentację cytoplazmy megakariocytów szpiku kostnego. Liczba płytek krwi u osób zdrowych zawiera się w przedziale od 140 do 440 tysięcy $/\text{mm}^3$. Średni czas ich przeżycia wynosi 8-12 dni. Płytki stare lub o nieprawidłowej strukturze są usuwane przez makrofagii układu siateczkowo-śródbłonkowego śledziony. Płytki krwi mają trójwarstwową błonę komórkową z licznymi kanalikami, przez które wydostają się substancje uwalniane z ziarnistości wewnątrzkomórkowych (ziarnistości α zawierające białka adhezyjne, czynniki wzrostu, czynniki krzepnięcia i fibrynolizy oraz ziarnistości gęste δ zawierające ADP, adenozynotrifosforan (ATP), serotoninę, jony wapnia). Warstwą zewnętrzną błony komórkowej jest otoczka bogata w glikoproteiny (GP) o właściwościach receptorów dla czynników aktywujących i hamujących czynność płytek krwi.

Płytki krwi pełnią kluczową rolę w procesie pierwotnej hemostazy i formowaniu zakrzepu, oraz aktywacji krzepnięcia krwi. Biorą one nie tylko udział w utrzymaniu hemostazy, ale także w procesie naprawy śródbłonka w przypadku wystąpienia jego dysfunkcji. Są również odpowiedzialne za formowanie samej blaszki miażdżycowej w następstwie lokalnego uwolnienia czynników wzrostu i uczestnictwa w procesie zapalnym w jej zakresie.⁵

Udział płytek krwi w hemostazie pierwotnej obejmuje adhezję, aktywację i agregację płytek krwi. W miejscu uszkodzenia naczynia, krążący czynnik von Willebranda (ang. *von Willebrand factor*, vWF) łączy się z odsłoniętym kolagenem, który następnie łączy się z GPIb/IX/V na powierzchni płytki krwi.^{6, 7} W przypadkach patologicznych lub w przypadku działania sił ścinających vWF może być uwalniany z ziarnistości płytkowych lub komórek śródbłonka nasilając proces aktywacji płytek krwi. Pomimo, że interakcja pomiędzy GPIb/IX/V a vWF jest wystarczająca dla doprowadzenia do łączenia się płytek krwi do białek macierzy pozakomórkowej wykazuje ona jednak jedynie charakter przejściowy i prowadzi do szybkiego przemieszczenia płytek krwi w miejsce uszkodzenia naczynia. Łączenie GPVI do

macierzy kolagenowej jest wolniejsze, ale raz zapoczątkowane prowadzi do trwałej adhezji płytek krwi do powierzchni naczynia. Zarówno GPIIb/IX/V i GPVI regulują proces oddziaływania pomiędzy płytkami krwi a leukocytami i tym samym wpływają na procesy zapalenia i miażdżycy w zakresie naczyń.^{5, 8-10}

Płytki krwi mogą ulegać aktywacji w wyniku łączenia ze ścianą naczynia i/lub poprzez oddziaływanie z krążącymi substancjami takimi jak epinefryna, trombina, serotonina, tromboksan (TX) A₂ i ADP poprzez specyficzne receptory powierzchniowe. Aktywacja płytek krwi prowadzi do zmiany kształtu płytki krwi z dyskoidalnego na nieregularny, z licznymi wypustkami i translokacji jonów wapnia z kanalików gęstych do cytoplazmy. Następnie, wolne jony wapnia zwiększają uwolnienie ADP z ziarnistości gęstych. Uwolnienie ADP wiąże się z efektem autokrynnym poprzez aktywację własnych receptorów powierzchniowych dla ADP, oraz efektem parakrynnym poprzez działanie na receptory dla ADP płytek znajdujących się w sąsiedztwie i tym samym potęgowanie procesu aktywacji. Aktywacja płytek krwi prowadzi do aktywacji fosfolipazy A₂, która jest odpowiedzialna za metabolizm kwasu arachidonowego. Płytkowa cyklooksygenaza (COX) 1 indukuje przemianę kwasu arachidynowego w prostoglandyny G₂/H₂, które są następnie przekształcane w TXA₂. TXA₂ jest uwalniany do krwiobiegu, gdzie łącząc się z receptorem dla tromboksanu wzmacnia aktywację płytek krwi i doprowadza do skurczu naczynia.

W następstwie działania jonów wapnia dochodzi do zmiany konformacji receptora GPIIb/IIIa dla fibrynogenu na powierzchni płytki krwi. Modyfikacja kształtu receptora pozwala na łączenie się płytek krwi z białkami adhezyjnymi, głównie fibrynogenem doprowadzając do łączenia się płytek krwi (agregacji). Aktywacja GPIIb/IIIa jest związana nie tylko z działaniem GPVI i GPIIb/IX/V, ale również receptorów związanych z białkiem G dla trombiny (PAR-1 lub PAR-4) oraz ADP (P2Y₁ lub P2Y₁₂), które nasilają zależną od GPIIb/IIIa agregację płytek krwi poprzez wzrost ekspozycji cząsteczek GPIIb/IIIa na powierzchni płytki krwi, przemieszczanych z puli wewnątrzkomórkowej.

1.3 Płytkowe receptory dla ADP (receptory purinergiczne)

ADP oddziałuje na płytki krwi poprzez dwa receptory związane z białkiem G (P2Y₁ i P2Y₁₂), oraz receptor związany z kanałem wapniowym (P2X₁).¹¹ Aktywacja

P2X₁ prowadzi do szybkiego, przejściowego napływu jonów wapnia do wnętrza płytki krwi. Zjawisko to nie odgrywa jednak znaczącej roli w procesie agregacji płytek krwi.¹¹ Aktywacja receptora P2Y₁ jest odpowiedzialna za powstawanie trójfosforanu inozytolu w wyniku działania fosfolipazy C, który prowadzi do przejściowego wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia, zmiany kształtu płytek krwi i słabej przejściowej agregacji płytek krwi.^{12, 13} Dane doświadczalne potwierdzają znaczącą rolę P2Y₁ w inicjacji zależnej od ADP aktywacji płytek krwi, generacji TXA₂ i aktywacji w odpowiedzi na innych agonistów.¹⁴ Receptor P2Y₁₂ jest odpowiedzialny za zakończenie procesu agregacji płytek stymulowanej ADP. W wyniku łączenia się ADP z receptorem P2Y₁₂ dochodzi do aktywacji powstawania substancji sygnałowych – cyklicznego monofosforanu (cAMP), defosforylacji fosfoproteiny stymulowanej przez związki rozszerzające naczynia (ang. *vasodilator-stimulated phosphoprotein*, VASP), kinazy 3-fosfatydyloinozytolu i Rap1B.¹⁵⁻¹⁷ Wykazano, że aktywacja receptora P2Y₁₂ prowadzi do uwolnienia zawartości ziarnistości gęstych, aktywacji receptora dla fibrynogenu, zwiększenia ekspresji selektyny P i formowania zakrzepu. Tym samym receptor P2Y₁₂ uważany jest za jeden z głównych mediatorów procesu krzepnięcia.¹⁸⁻²¹ Bierze on również udział w procesie agregacji płytek krwi w odpowiedzi na innych niż ADP agonistów: trombinę, adrenalinę, serotoninę, TXA₂.^{18, 22, 23} Oba receptory (P2Y₁ i P2Y₁₂) są pośrednio zaangażowane w proces ekspozycji selektyny P na powierzchni płytek krwi i tworzenia agregatów leukocyarno-płytkowych.^{24, 25} Istotnym wydaje się również, że aktywacja tylko jednego z receptorów P2Y nie jest wystarczająca dla pełnej agregacji płytek krwi. Jedynie jednoczasowa aktywacja szlaków zależnych od receptorów P2Y₁ i P2Y₁₂ prowadzi do pełnej agregacji płytek krwi.²⁶

1.4 Farmakodynamika i mechanizm działania kłopidogrelu

Kłopidogrel jest prekursorem leku metabolizowanym w wątrobie przy udziale układu enzymatycznego cytochromu (CY) P450.²⁷⁻²⁹ Po podaniu doustnym wchłanianie się szybko z przewodu pokarmowego. Wchłonięciu z jelit do krwiobiegu ulega około 50% leku, a stopień wchłaniania nie wykazuje zależności od ilości i rodzaju jednoczasowo przyjmowanego pokarmu. Przemianie przez CYP450 ulega niewielka ilość kłopidogrelu. Większość (85%) podlega procesowi hydrolizy przy udziale esteraz i przekształcana jest do nieaktywnej formy karboksylowej. CYP3A4 jest głównym

izoenzymem CYP450 odpowiedzialnym za utlenianie kłopidogrelu i powstanie aktywnej formy tiolowej. Clark i wsp. potwierdzili ponadto udział CYP3A5 i CYP2B6 w aktywacji kłopidogrelu, przy czym jest on wyraźnie mniej wyrażony niż w przypadku CYP3A4.²⁷ Stężenie osoczowe metabolitów kłopidogrelu osiąga wartość maksymalną już po jednej godzinie od podania dawki wysycającej leku.²⁹⁻³¹ Poziom ten może być podwyższony u osób starszych lub z zaburzeniami funkcji nerek, przy czym modyfikacja stosowanej dawki kłopidogrelu nie jest w tym przypadku wymagana. Około 98% kłopidogrelu i 94% jego aktywnej formy łączy się odwracalnie z białkami osocza. Około 50% leku wydalana jest z moczem i 46% z kałem w okresie do 5 dni. Połowiczny czas wydalania wynosi około 8 godzin.

Kłopidogrel jest doustnym lekiem przeciwplatecznym hamującym zależną od ADP agregację płytek krwi. Łączy się on selektywnie z receptorem P2Y₁₂ doprowadzając do jego nieodwracalnej modyfikacji poprzez wytworzenie mostków dwusiarczkowych z cysteiną 270 i cysteiną 17.^{32, 33} Doprowadza to do braku hamowania aktywacji cykazy adenylowej z następowym wzrostem poziomu cAMP. Podwyższony poziom cAMP prowadzi do zwiększonej fosforylacji VASP i tym samym zahamowania aktywacji GPIIb/IIIa. Poziom cAMP wykazuje bezpośrednią korelację ze stopniem fosforylacji VASP i stopniem zahamowania aktywacji GPIIb/IIIa.^{34, 35} W związku z tym, że łączenie aktywnej formy kłopidogrelu z receptorem P2Y₁₂ ma charakter nieodwracalny efekt jego działania utrzymuje się w okresie życia płytki krwi (7-10 dni). Jednak niespełna 60-70% receptorów dla ADP jest wrażliwych na działanie kłopidogrelu. Tym samym zastosowanie standardowej dawki kłopidogrelu nie prowadzi do całkowitej inhibicji receptora P2Y₁₂ i pozwala jedynie na osiągnięcie około 50% zahamowania agregacji płytek krwi w odpowiedzi na stymulację ADP.^{36, 37} Osiągnięty stopień zahamowania agregacji płytek krwi wykazuje zależność od zastosowanej dawki kłopidogrelu, jak i czasu od momentu inicjacji leczenia. Maksymalny efekt przeciwplateczny osiągany jest w okresie 2-5 godzin od momentu podania jednorazowo dawki 400 mg, 2-3 godzin od momentu jednorazowego podania dawki 600 mg, lub też 3-7 dni w przypadku stosowania dawki 75 mg/doba.³⁸⁻⁴⁰ Poza efektem hamowania agregacji płytek krwi kłopidogrel zmniejsza generację białka C-reaktywnego i ekspresję zależnych od płytek krwi markerów zapalenia (ligand CD40, selektyna P) u pacjentów poddawanych zabiegowi przezskórnej interwencji wieńcowej (ang. *percutaneous coronary intervention*, PCI).⁴¹⁻⁴³ Zmniejsza ponadto formowanie agregatów

leukocyтарно-пłytkowych u pacjentów z NSTE-ACS.⁴⁴ Ostatnie doniesienia wskazują również na zmniejszoną generację trombiny u pacjentów leczonych kłpidogrelem.⁴⁵⁻⁴⁷

1.5 Wyniki badań klinicznych z zastosowaniem kłpidogrelu

W badaniu CAPRIE (ang. *Clopidogrel vs Aspirin in Patients at Risk of Ischemic Events*), które objęło 19 185 pacjentów z objawową miażdżycą tętnic wieńcowych lub obwodowych zastosowanie w terapii przewlekłej kłpidogrelu w dawce 75 mg/doba wiązało się z istotną redukcją ryzyka wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych [zgon, zawał serca i udar mózgu rozpatrywane łącznie: redukcja o 8,7%; 95% przedział ufności (ang. *confidence interval*, CI) 0,3-16,5; $p=0,0043$] w porównaniu do aspiryny w dawce 325 mg/doba w okresie obserwacji 1-3 letniej (średnio 1,91 lat).⁴⁸ Korzyść ta była ponadto wyrażona szczególnie w grupach wysokiego ryzyka np. u pacjentów po przebytych zabiegu pomostowania aortalno-wieńcowego (redukcja ryzyka o 31,2%; 95% CI 15,8-43,8; $p=0,003$), z cukrzycą (redukcja ryzyka o 13,1%; 95% CI 1,2-23,7; $p=0,032$), z miażdżycą tętnic obwodowych (redukcja ryzyka o 23,8%; 95% CI 8,9-36,2; $p=0,0028$), czy też z zaburzeniami gospodarki lipidowej.⁴⁸⁻⁵⁰ Przyjmowanie kłpidogrelu było niezależnym czynnikiem zmniejszającym ryzyko wystąpienia zawału mięśnia sercowego w okresie prowadzonej obserwacji. Co istotne, zastosowanie kłpidogrelu nie wiązało się ze wzrostem ryzyka powikłań krwotocznych w porównaniu do leczenia samą aspiryną.

Badanie CHARISMA (ang. *Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management, and Avoidance*) objęło 15 603 pacjentów z objawową miażdżycą tętnic wieńcowych lub obwodowych i/lub posiadających liczne czynniki ryzyka miażdżycy. Pacjenci zostali zrandomizowani do leczenia kłpidogrelem (75 mg/doba) w połączeniu z aspiryną (75-162 mg/doba) lub też do leczenia samą aspiryną w okresie średnio 28 miesięcy. Zastosowanie kłpidogrelu nie wiązało się z istotną redukcją ryzyka wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych [zgon, zawał serca i udar mózgu rozpatrywane łącznie, kłpidogrel + aspiryna vs placebo + aspiryna odpowiednio 6,8% vs 7,3%; ryzyko względne (ang. *relative risk*, RR) 0,93; 95% CI 0,83-1,05; $p=0,22$] w całej badanej populacji pacjentów.⁵¹ Korzyść z terapii kłpidogrelem była jednak stwierdzana w podgrupie pacjentów z objawową miażdżycą tętnic wieńcowych lub obwodowych (kłpidogrel + aspiryna vs placebo +

aspiryna odpowiednio 6,9% vs 7,9%; RR 0,88; 95% CI 0,77-0,998; $p=0,046$). Zastosowanie kłopidogrelu w całej badanej populacji prowadziło do redukcji ryzyka wystąpienia udaru mózgu nie zakończonego zgonem (kłopidogrel + aspiryna vs placebo + aspiryna odpowiednio 1,9% vs 2,4%; $p=0,03$) i konieczności ponownej hospitalizacji (11,1% vs 12,3%; $p=0,02$). W grupie pacjentów leczonych kłopidogrelem obserwowano jednak trend do wzrostu ryzyka wystąpienia ciężkich powikłań krwotocznych (kłopidogrel + aspiryna vs placebo + aspiryna: 1,7% vs 1,3%; $p=0,09$).⁵¹

Badanie CREDO (ang. *Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation*) miało na celu ocenę skuteczności i bezpieczeństwa leczenia kłopidogrelem w okresie 1 roku, oraz skuteczności i bezpieczeństwa zastosowania dawki wysycającej kłopidogrelu przed planowym zabiegiem PCI.⁵² Łącznie do badania włączono 2 116 pacjentów leczonych inwazyjnie. Terapia kłopidogrelem i aspiryną łącznie wiązała się w powyższym badaniu ze względną redukcją ryzyka wystąpienia złożonego punktu końcowego (zgon, zawał serca, udar mózgu łącznie) o 26,9% ($p=0,02$) w porównaniu do grupy leczonej samą aspiryną. Korzyść wynikająca z podania dawki wysycającej kłopidogrelu (300 mg) była ograniczona jednak jedynie do grupy pacjentów, w której leczenie kłopidogrelem rozpoczęto co najmniej 6 godzin przed zabiegiem PCI. W badaniu CREDO kłopidogrel zwiększał ryzyko dużych krwawień w okresie 1 roku (kłopidogrel vs placebo: 8,8% vs 6,7%; $p=0,07$).⁵²

Efekt zastosowania kłopidogrelu w połączeniu z aspiryną w leczeniu NSTEMI-ACS został oceniony w badaniu CURE (ang. *Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent ischemic Events*), które objęło łącznie 12 562 pacjentów. Zastosowanie dawki wysycającej 300 mg kłopidogrelu, a następnie kontynuacja jego stosowania w okresie 3-12 miesięcy (średnio 9 miesięcy) w dawce 75 mg/doba prowadziło do istotnej redukcji złożonego punktu końcowego (zgon sercowo-naczyniowy, zawał serca nie zakończony zgonem lub udar mózgu: 11,4% vs 9,3%; RR 0,8; $p<0,001$) w porównaniu do placebo.⁵³ Korzyść ta była szczególnie wyrażona w podgrupie pacjentów wysokiego ryzyka zgonu i/lub zawału serca.⁵⁴ Obserwowano również istotną redukcję częstości wystąpienia nawrotu niedokrwienia w okresie hospitalizacji w grupie leczonej kłopidogrelem, przy czym korzyść ta była widoczna już w okresie pierwszych kilku godzin od momentu włączenia do badania.⁵³ Co istotne ten korzystny efekt kłopidogrelu był obserwowany również w podgrupie pacjentów poddawanej zabiegom przezskórnej rewaskularyzacji wieńcowej (PCI-CURE).⁵⁵ Użycie kłopidogrelu wiązało się z istotnym wzrostem dużych (3,7% vs 2,7%; $p=0,02$) i małych (5,1% vs 2,4%; $p<0,001$) powikłań

krwotocznych w porównaniu do placebo. Jednak obserwowana korzyść wynikająca z redukcji powikłań niedokrwiennych u pacjentów leczonych kłopidogrelem przewyższała ryzyko wystąpienia krwawień. Zarówno w grupie otrzymującej placebo jak i leczonej kłopidogrelem, ryzyko wystąpienia krwawień zwiększało się proporcjonalnie do stosowanej dawki aspiryny. Odpowiednio dla dawek aspiryny: ≤ 100 mg, 100-300 mg i > 300 mg, odsetek poważnych krwawień wynosił w grupie otrzymującej placebo: 2,0%, 2,2% i 4,0%, a w grupie leczonej kłopidogrelem: 2,5%, 3,5% i 3,9%.⁵³ Tym samym aktualne wytyczne zalecają redukcję dawki aspiryny stosowanej przewlekłe w skojarzeniu z kłopidogrelem do 75-100 mg/doba.⁵⁶

Wpływ dołączenia kłopidogrelu do standardowej terapii aspiryną i lekiem fibrynolitycznym na wyniki kliniczne i angiograficzne leczenia zawału serca z uniesieniem odcinka ST (ang. *ST-segment elevation myocardial infarction*, STEMI) oceniono w badaniu CLARITY-TIMI-28 (ang. *Clopidogrel as Adjunctive Reperfusion Therapy - Thrombolysis In Myocardial Infarction 28*).⁵⁷ Objęło ono 3 491 pacjentów ze STEMI i czasem trwania bólu < 12 godzin. Pacjentów zrandomizowano do dwóch grup terapeutycznych: terapia standardowa (aspiryna + lek fibrynolityczny) w połączeniu z kłopidogrelem (dawka wysycająca 300 mg, a następnie kontynuowana w dawce 75 mg/doba do momentu wykonania badania koronarograficznego) i terapii standardowej + placebo. U wszystkich pacjentów wykonano badanie koronarograficzne w okresie 48-192 godzin (mediana 3,5 dnia) od momentu włączenia do badania. Oceniano wystąpienie złożonego punktu końcowego określonego jako obecność okluzji tętnicy odpowiedzialnej za zawał (napływ TIMI 0/1) lub zgonu lub powtórnego zawału serca przed badaniem angiograficznym. Stwierdzana częstość pierwotnego punktu końcowego była niższa w grupie leczonej kłopidogrelem i wyniosła odpowiednio 15% w porównaniu do 21,7% w grupie terapii standardowej ($p < 0,001$), co stanowiło 36% redukcję wystąpienia złożonego punktu końcowego na korzyść kłopidogrelu. Zamkniętą tętnicę odpowiedzialną za zawał - napływ obwodowy TIMI 0/1 stwierdzano częściej w grupie terapii standardowej (18,4% vs 11,7%; $p < 0,001$). Korzyść z zastosowania kłopidogrelu wyraziła się także redukcją o 20% złożonego punktu końcowego [zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych, zawał serca, niedokrwienie wymagające rewaskularyzacji w okresie 30 dni: iloraz szans (ang. *odds ratio*, OR) 0,8; $p = 0,026$]. Nie stwierdzono różnic w częstości wystąpienia powikłań krwotocznych, nawet w podgrupie pacjentów poddanych operacji pomostowania aortalno-wieńcowego w okresie pierwszych 5 dni od zakończenia leczenia kłopidogrelem.⁵⁷ Podobnie

subanaliza danych dotyczących 1 863 pacjentów z badania CLARITY-TIMI-28 poddawanych zabiegowi PCI (tzw. PCI-CLARITY) jednoznacznie potwierdziła korzyść z wczesnej terapii kłopidogrelem przed zabiegami kardiologii inwazyjnej.⁵⁸ Zastosowanie dawki wysycającej kłopidogrelu 300 mg i następnie 75 mg/doba wiązało się z istotną redukcją ryzyka wystąpienia zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych, ponownego zawału serca, udaru mózgu po zabiegu PCI rozpatrywanych łącznie (kłopidogrel vs placebo: 3,6% vs 6,2%; OR 0,54; 95% CI 0,35-0,85; p=0,008). Wczesne zastosowanie kłopidogrelu redukowało ponadto częstość wystąpienia ponownego zawału serca, udaru mózgu w okresie przed badaniem angiograficznym i następową PCI (4,0% vs 6,2%; OR 0,62; 95% CI 0,40-0,95; p=0,03). Podanie kłopidogrelu wiązało się ze zmniejszeniem częstości wystąpienia zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych, ponownego zawału serca, udaru mózgu rozpatrywanych łącznie w okresie obserwacji 30-dniowej (7,5% vs 12,0%; OR 0,59; 95% CI 0,43-0,81; p=0,001). Co istotne, dołączenie do terapii standardowej kłopidogrelu nie wiązało się ze wzrostem ryzyka małych i dużych krwawień.⁵⁸

Kolejnym badaniem oceniającym skuteczność i bezpieczeństwo kłopidogrelu było badanie COMMIT (ang. *Clopidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial*), które objęło 45 852 pacjentów ze STEMI z czasem trwania objawów <24 godzin.⁵⁹ Wszyscy pacjenci byli leczeni farmakologicznie [aspiryna 162 mg/doba, heparyna (około 75% badanej populacji), leczenie fibrynolityczne (w około 50% przypadków)] i zrandomizowani do leczenia kłopidogrelem [75 mg/doba przez okres hospitalizacji lub maksymalnie przez okres 4 tygodni (średnio 14,8 dnia), bez zastosowania dawki wysycającej] lub placebo. Zastosowanie kłopidogrelu wiązało się z istotną redukcją wystąpienia zgonu, ponownego zawału serca lub udaru mózgu łącznie (kłopidogrel vs placebo: 9,2% vs 10,1%; p=0,002), jak również samego zgonu (7,5% vs 8,1%; p=0,03) i ponownego zawału serca (2,1% vs 2,4%; p=0,02) w okresie terapii. Co istotne, korzyść ta była niezależna od rodzaju współistniejącego leczenia farmakologicznego i wyjściowej charakterystyki pacjentów. Podanie kłopidogrelu nie zwiększało ryzyka powikłań krwotocznych w całej badanej populacji pacjentów, jak również w podgrupie pacjentów leczonych fibrynolitykiem lub w wieku >70 lat, czyli o potencjalnie wyższym ryzyku krwawień.⁵⁹

Kłopidogrel jest podawany rutynowo w połączeniu z aspiryną celem redukcji ryzyka wystąpienia ostrej lub podostrej zakrzepicy w stencie po zabiegach PCI.⁵⁶ Wcześniejsze badania z zastosowaniem połączenia tiklopidyny (lek z grupy

tienopirydyn wykazujący słabsze od kłopidogrelu działanie przeciwplatekowe) jednoznacznie potwierdziły przewagę tej kombinacji leków w redukcji powikłań niedokrwienych po zabiegach PCI w porównaniu do samej aspiryny, bądź też połączenia aspiryny i doustnych leków przeciwzakrzepowych.⁶⁰⁻⁶⁴ Na podstawie wyników trzech badań randomizowanych (CLASSICS (ang. *Clopidogrel Aspirin Stent International Cooperative Study*), TOPPS (ang. *Ticlid or Plavix Post-Stents*), Bad Krozingen) można wnioskować iż połączenie kłopidogrelu i aspiryny może być równie skuteczne jak kombinacja tiklopidyny i aspiryny w zapobieganiu ostrej lub podostrej zakrzepicy w stencie po zabiegach PCI.⁶⁵⁻⁶⁷ Co istotne, zastosowanie kłopidogrelu wiąże się z lepszą tolerancją przez pacjentów i rzadszym występowaniem efektów ubocznych leczenia. Powyższe obserwacje potwierdzają ponadto wyniki rejestrów i meta-analiz.⁶⁸⁻⁷²

Istotnym wydaje się, że obserwowana w przedstawionych powyżej badaniach PCI-CURE, CREDO i PCI-CLARITY redukcja ryzyka wystąpienia powikłań niedokrwienych może być związana głównie z efektem zastosowanej dawki nasycającej kłopidogrelu (wszyscy pacjenci otrzymywali kłopidogrel w okresie bezpośrednio po zabiegu PCI).^{52, 55, 58} Do chwili obecnej istnieją kontrowersję dotyczącą wielkości i momentu podania dawki wysycającej kłopidogrelu przed zabiegiem PCI, która pozwoliłaby na osiągnięcie maksymalnego efektu terapeutycznego. Zastosowanie standardowej dawki wysycającej kłopidogrelu (300 mg) może być niewystarczające dla osiągnięcia szybkiego i pełnego efektu przeciwplatekowego. W badaniu ARMYDA-2 (ang. *Antiplatelet therapy for Reduction of MYocardial Damage during Angioplasty*) podanie wysokiej dawki wysycającej kłopidogrelu (600 mg) 4-8 godzin przed planowym zabiegiem PCI wiązało się z redukcją ryzyka wystąpienia złożonego punktu końcowego (zgon/zawał serca/ponowna rewaskularyzacja poszerzanego naczynia) w okresie 30 dni w porównaniu do grupy pacjentów leczonych dawką standardową (dawka wysoka vs dawka standardowa odpowiednio 4% vs 12%; $p=0,041$). Ten korzystny efekt był związany głównie z redukcją ryzyka wystąpienia pozabiegowego wzrostu poziomu enzymów nekrotycznych mięśnia sercowego.⁷³ Von Beckerath i wsp. w badaniu ISAR-CHOICE (ang. *Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose Between 3 High Oral Doses for Immediate Clopidogrel Effect*) porównali trzy różne dawki wysycającej kłopidogrelu i potwierdzili możliwość osiągnięcia szybszego i pełniejszego efektu przeciwplatekowego w przypadku zastosowania wysokich dawek wysycających (600

mg, 900 mg) w porównaniu do dawki standardowej 300 mg. Co istotne, dawka 900 mg nie wykazywała silniejszego efektu hamowania agregacji płytek krwi w 4 godzinie od podania kłopidogrelu w porównaniu do dawki 600 mg. Podobnie poziom aktywnego metabolitu kłopidogrelu w osoczu krwi nie wykazywał różnic pomiędzy dawką 600 mg i 900 mg. Może to wskazywać na ograniczoną zdolność do absorpcji i aktywacji kłopidogrelu w przypadku zastosowania dawki wysycającej 900 mg i więcej.³⁰ Celem badania ALBION (ang. *Assessment of the best Loading dose of clopidogrel to Blunt platelet activation, Inflammation and Ongoing Necrosis*) było określenie dodatkowych korzyści płynących z zastosowania wyższych dawek wysycających kłopidogrelu (600 mg, 900 mg) w grupie chorych z NSTEMI-ACS.⁷⁴ W powyższym badaniu zastosowanie wysokich dawek wysycających wiązało się z uzyskaniem szybszego i pełniejszego stopnia zahamowania aktywności płytek krwi w porównaniu do standardowej dawki wysycającej (300 mg). Obserwowano ponadto trend dotyczący redukcji ryzyka wystąpienia wzrostu poziomu enzymów nekrotycznych mięśnia sercowego (troponina I) w okresie pierwszych 24 godzin od włączenia terapii wraz ze wzrostu dawki wysycającej (odpowiednio 300 mg vs 600 mg vs 900 mg: 34,6% vs 42,9% vs 50,0%; p=NS). Nie wykazano różnicy częstości wystąpienia powikłań niedokrwienych pomiędzy badanymi grupami pacjentów. Zastosowanie wysokich dawek nie wiązało się ponadto ze wzrostem ryzyka krwawień.⁷⁴ Tym samym podanie wysokich dawek kłopidogrelu (600 mg, 900 mg) może być przydatnym szczególnie w przypadku konieczności uzyskania wczesnego zahamowania aktywności płytek krwi przed planowanym leczeniem interwencyjnym. Jednak dawka 900 mg nie jest obecnie zalecana do rutynowego stosowania klinicznego. Co istotne w badaniu ISAR-REACT (ang. *Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen-Rapid Early Action for Coronary Treatment*) wykazano, że w grupie pacjentów niskiego i umiarkowanego ryzyka poddawanych planowemu zabiegowi PCI, u których zastosowano wysoką dawkę wysycającą kłopidogrelu (600 mg) co najmniej 2 godziny przed PCI dodanie do terapii dożylnego inhibitora receptora płytkowego GPIIb/IIIa (inhibitora GPIIb/IIIa) - abciximab nie wiązało się z dodatkową korzyścią kliniczną (zgon, zawał serca, potrzeba pilnej rewaskularyzacji; placebo vs abciximab odpowiednio 4,0% vs 4,2%; p=NS).⁷⁵ Podobne wyniki (brak efektu klinicznego związanego z dołączeniem do terapii abciximabu w przypadku podania dawki wysycającej 600 mg kłopidogrelu) osiągnięto w badaniu ISAR-SWEET (ang. *Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Is Abciximab a Superior Way to Eliminate Elevated Thrombotic Risk in Diabetics*), które

objęło populację pacjentów z cukrzycą oraz badaniu ISAR-SMART 2 (ang. *Intracoronary Stenting or Angioplasty for Restenosis Reduction in Small Arteries*) z grupą pacjentów poddawanych PCI w zakresie małych (średnica $\leq 2,5$ mm) tętnic wieńcowych.^{76, 77} W praktyce klinicznej wyniki powyższych badań powinny być jednak odnoszone jedynie do grupy pacjentów ze stabilną dławicą piersiową. Kłopidogrel może słabo ograniczać aktywację płytek w sytuacjach klinicznych przebiegających z intensywną generacją trombiny, jak to ma miejsce w przypadku ostrych zespołów wieńcowych.⁷⁸ Tym samym uzasadnionym wydaje się stosowanie inhibitora GPIIb/IIIa w grupie pacjentów z NSTEMI-ACS wysokiego ryzyka leczonych kłopidogrelem, gdyż dodanie inhibitora GPIIb/IIIa wiąże się z osiągnięciem pełniejszego efektu przeciwpłytkowego niż w przypadku leczenia samą aspiryną i kłopidogrelem.⁷⁹⁻⁸¹ Korzyść tą potwierdziły wyniki badania ISAR-REACT 2. Badanie to było zaprojektowane analogicznie do badania ISAR-REACT, jednak dotyczyło tym razem pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym. Objęło ono 2 022 pacjentów z NSTEMI-ACS zrandomizowanych do leczenia inhibitorem GPIIb/IIIa (abciximab, n=1012) lub placebo (n=1010). Wszyscy pacjenci otrzymali dawkę wysycającą 600 mg kłopidogrelu co najmniej 2 godziny przed PCI oraz 500 mg aspiryny. Pierwotnym punktem końcowym badania było wystąpienie zgonu, zawału serca lub potrzeby pilnej rewaskularyzacji poszerzanego naczynia w okresie 30 dni od randomizacji. Dołączenie do terapii aspiryną i kłopidogrelem abciximabu wiązało się w badanej populacji pacjentów z istotną redukcją częstości wystąpienia pierwotnego punktu końcowego (odpowiednio abciximab vs placebo: 8.9% vs 11.9%; RR 0,75; p=0,03), przy czym korzyść ta była w zasadzie zarezerwowana jedynie dla grupy pacjentów z dodatnim wyjściowym wynikiem oznaczenia troponin (odpowiednio dla troponina (+), abciximab vs placebo: 13,1% vs 18,3%; RR 0,71; p=0,02; dla troponina (-), 4,6% vs 4,6%; RR 0,99; p=0,98).⁸² Obserwowana redukcja ryzyka powikłań niedokrwiennych była niezależna od obecności współistniejącej cukrzycy, czy też długości trwania wstępnego leczenia kłopidogrelem. Nie wykazano różnic pomiędzy grupami w zakresie częstości dużych i małych powikłań krwotocznych, oraz konieczności transfuzji krwi. Tym samym wydaje się, że zastosowanie inhibitorów GPIIb/IIIa jest szczególnie korzystne u pacjentów z dodatnim wynikiem oznaczenia troponin, a więc charakteryzujących się wysokim ryzykiem powikłań niedokrwiennych w obserwacji krótko- i długoterminowej.⁸²

Kastrati i wsp. wykazali, że podanie wysokiej dawki wysycającej kłopidogrelu (600 mg) w przypadku pacjentów przyjmujących kłopidogrel w terapii przewlekłej (dawka 75 mg/doba co najmniej przez okres 1 miesiąca) może pozwolić na osiągnięcie dodatkowego efektu hamowania agregacji płytek krwi.⁸³ Pewne dane wskazujące na ewentualne korzyści wynikające ze strategii zastosowania ponownej dawki wysycającej kłopidogrelu przyniosła analiza *post hoc* badania PCI-CLARITY.⁵⁸ W powyższym badaniu pacjenci, którzy otrzymali w sposób zaślepiony dawkę 300 mg kłopidogrelu i następnie w momencie PCI ponowną dawkę wysycającą kłopidogrelu charakteryzowali się najniższym ryzykiem powikłań niedokrwiennych w okresie prowadzonej obserwacji.⁸⁴ Znaczenie kliniczne tak uzyskanego silniejszego działania przeciwplatekowego wymaga jednak określenia w dalszych badaniach klinicznych, szczególnie w aspekcie wielkości i momentu podania ponownej dawki kłopidogrelu.

Podwójna terapia przeciwplatekowa (połączenie aspiryny i kłopidogrelu) po zabiegu PCI jest stosowana rutynowo przez okres 3-4 tygodni. Okres ten został ustalony arbitralnie na podstawie badań dotyczących kinetyki procesu śródbłonkowania stentu, jako okres o najwyższym ryzyku wystąpienia zakrzepicy w zakresie implantowanego stentu wieńcowego. Dodatkowa korzyść kliniczna może jednak zostać uzyskana poprzez wydłużenie okresu stosowania rutynowej dawki kłopidogrelu (75 mg/doba) powyżej 30 dni, co potwierdzają wyniki obserwacji odległej badań PCI-CURE i CREDO.^{52, 55} Przedłużona podwójna terapia przeciwplatekowa może mieć szczególne znaczenie w prowadzeniu pacjentów po zabiegach PCI z implantacją stentów powlekanych lekiem antymitotycznym w przypadku których proces śródbłonkowania stentu jest wydłużony, co może wiązać się z podwyższonym ryzykiem wystąpienia późnej zakrzepicy w stencie. Ostatnio opublikowane wyniki badania ISAR-CHOICE 2 (ang. *Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose a High Oral maintenance dose for Intensified Clopidogrel Effect 2*) sugerują ponadto, że zastosowanie wyższych dawek kłopidogrelu w terapii przewlekłej (150 mg/doba) u pacjentów z chorobą niedokrwinną serca pozwala na osiągnięcie silniejszego efektu przeciwplatekowego.⁸⁵ Podobne obserwacje poczynili Angiolillo i wsp. w podgrupie pacjentów z chorobą niedokrwinną serca i współistniejącą cukrzycą.⁸⁶ Określenie znaczenia zastosowania wyższych dawek kłopidogrelu w terapii przewlekłej, w szczególności wskazanie podgrup pacjentów którzy mogą odnieść największe korzyści kliniczne z ich zastosowania wymaga jednak dalszych badań. Jednym z nich jest toczące się aktualnie badanie CURRENT / OASIS-7 (ang. *Clopidogrel Optimal*

Loading Dose Usage to Reduce Recurrent Events / Optimal Antiplatelet Strategy for Interventions – 7), którego celem jest określenie skuteczności i bezpieczeństwa zastosowania wysokiej dawki wysycającej kłopidogrelu (600 mg) kontynuowanej przez okres jednego tygodnia w dawce 150 mg/doba i następnie 75 mg/doba, w odniesieniu do rutynowo stosowanych dawek kłopidogrelu (dawka wysycająca – 300 mg, dawka podtrzymująca – 75 mg/doba) u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym poddawanych wczesnej strategii inwazyjnej (diagnostyka i leczenie inwazyjne w okresie do 24 godzin od randomizacji). Pierwotnym punktem końcowym badania jest wystąpienie zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych, zawału serca lub nawrotu niedokrwienia w okresie obserwacji 30-dniowej. Dodatkowo badanie może pozwolić na określenie optymalnej dawki aspiryny jaka ma być stosowana w skojarzeniu z kłopidogrelem – wysoka (≥ 300 mg) vs niska (≤ 100 mg).

1.6 Aktualne wytyczne dotyczące stosowania kłopidogrelu

Biorąc pod uwagę wyniki powyższych badań, zgodnie z wytycznymi Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego dla PCI u pacjentów ze stabilną dławicą piersiową poddawanych planowym zabiegom kardiologii interwencyjnej dawka wysycająca 300 mg powinna zostać poddana co najmniej 6 godzin (optymalnie dzień wcześniej) przed zabiegiem PCI – patrz tabela 1. Leczenie kłopidogrelem powinno być następnie kontynuowane przez okres 3-4 tygodni po zabiegu implantacji stentu stalowego i okres 6-12 miesięcy po zabiegu implantacji stentu powlekanego lekiem antymitotycznym. Okres stosowania kombinacji aspiryny i kłopidogrelu w terapii przewlekłej powinien być natomiast wydłużony do 9-12 miesięcy od momentu wystąpienia ostrego zespołu wieńcowego zarówno w grupie pacjentów leczonych inwazyjnie jak i zachowawczo.⁵⁶

Tabela 1. Zalecenia dotyczące stosowania kłopidogrelu u pacjentów poddawanych PCI (na podstawie wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego dla zabiegów PCI)⁵⁶

Wskazanie	Dawkowanie	Klasa zaleceń
Leczenie wstępne przed planowym zabiegiem PCI w stabilnej dławicy piersiowej	Dawka wysycająca – 300 mg, co najmniej 6 godzin przed PCI, najlepiej dzień wcześniej	I C
Leczenie wstępne przed pierwotną PCI w STEMI lub przed natychmiastową PCI w NSTEMI-ACS lub PCI bezpośrednio po badaniu koronarograficznym w stabilnej dławicy piersiowej	Dawka wysycająca – 600 mg najszybciej jak to możliwe od pierwszego kontaktu medycznego chorego, jeśli klinicznie uzasadnione	I C
W terapii przewlekłej po PCI z implantacją stentu stalowego (stabilna dusznica bolesna)	75 mg/doba, 3-4 tygodnie	I A
W terapii przewlekłej po zabiegu brachyterapii wewnątrzwątrobowej	75 mg/doba, 12 miesięcy	I C
W terapii przewlekłej po PCI z implantacją stentu powlekanego lekiem antymitotycznym	75 mg/doba, 6-12 miesięcy	I C
W terapii przewlekłej po wystąpieniu ostrego zespołu wieńcowego	75 mg/doba, wydłużone do 9-12 miesięcy	IB

1.7 Metody laboratoryjne oceniające odpowiedź na leczenie kłopidogrelem

Najczęściej stosowaną metodą laboratoryjną służącą dla oceny stosowanego leczenia kłopidogrelem jest pomiar *ex vivo* agregacji płytek krwi w odpowiedzi na stymulację ADP przy użyciu agregometru optycznego lub agregometru impedancyjnego (tabela 2).⁸⁷⁻⁸⁹ W przypadku agregometrii optycznej ocenia się maksymalną agregację płytek krwi w odpowiedzi na ADP w osoczu bogatopłytkowym przed i po leczeniu kłopidogrelem. W przypadku agregometrii impedancyjnej pomiar dokonywany jest w krwi pełnej.⁸⁹ Odpowiedź na stosowane leczenie kłopidogrelem jest wyrażana jako różnica pomiędzy agregacją płytek krwi po leczeniu i przed rozpoczęciem leczenia.⁹⁰ Co istotne, w licznych badaniach wykazano korelację pomiędzy zmianą maksymalnej agregacji w odpowiedzi na leczenie przeciwplatekcyjne a

rokowaniem pacjentów z miażdżycą tętnic wieńcowych i obwodowych.^{47, 81, 91-96} Ograniczeniem powyższych metod jest słaba powtarzalność uzyskiwanych wyników, konieczność pobrania dużej objętości próbki krwi i złożony proces jej przygotowania, długi czas wykonania oznaczenia, konieczność dużego doświadczenia w wykonaniu oznaczenia i jego wysoki koszt.⁸⁹

Odminną metodą oceny odpowiedzi na leczenie kłopidogrelem jest oznaczenie aktywności powierzchniowej selektyny P i ekspresji aktywowanej integryny $\alpha\text{IIb}\beta 3$ (receptor płytkowy GPIIb/IIIa) przy użyciu cytofluorometrii przepływowej.^{81, 97} Ograniczeniem metody pozostaje jej trudność w zastosowaniu w codziennej praktyce klinicznej ze względu na konieczność posiadania cytofluorometru przepływowego i dużego doświadczenia w wykonywaniu oznaczeń. Podobne ograniczenie posiada ocena aktywności VASP.^{89, 98-100} Oznaczony poziom fosforylacji VASP (przeciwciała monoklonalne specyficzne w stosunku do fosforylowanej formy VASP) jest proporcjonalny do stopnia zahamowania aktywności receptora płytkowego P2Y_{12} .⁹⁹ Tym samym metoda pozwala na specyficzną ocenę odpowiedzi na stosowane leczenie kłopidogrelem.^{98, 100} Porównanie wyników uzyskanych metodą oceny aktywności VASP i agregacji płytek krwi w odpowiedzi na ADP w osoczu bogatopłytkowym (agregometria optyczna) wskazuje na wyższy poziom zahamowania agregacji płytek krwi w odpowiedzi na leczenie kłopidogrelem w przypadku oceny aktywności VASP. Wydaje się to być wynikiem możliwości zależnej od stymulacji ADP agregacji płytek krwi za pośrednictwem receptora P2Y_1 nie hamowanego przez kłopidogrel.¹⁰⁰ Dotychczasowe badania wskazują ponadto, iż pacjenci, u których stwierdzono słabszą odpowiedź na leczenie kłopidogrelem przy użyciu oceny aktywności VASP charakteryzują się zwiększonym ryzykiem zakrzepicy w stencie w obserwacji odległej.^{92, 94}

Zaletą nowych testów pozwalających na ocenę czynności płytek krwi i monitorowania wyników stosowanego leczenia przeciwplateletowego jest możliwość wykonania oznaczeń praktycznie przy łóżku chorego (ang. *point-of-care*), a tym samym natychmiastowe uzyskanie wyniku (tabela 2). Do najczęściej stosowanych należą: VerifyNow (Accumetrics, San Diego, CA, USA), Plateletworks (Helena Laboratories, Beaumont, TX, USA), Thrombelastograph PlateletMapping System (Haemoscope Corporation, Niles, IL, USA), Impact cone and plate(let) analyzer (DiaMed, Cressier, Szwajcaria), Platelet Function Analyzer 100 (PFA-100; Dade Behring, Newark, DE, USA) i Multiplate Analyzer (Dynabyte, Munich, Niemcy).

Zasada działania systemu VerifyNow opiera się na ocenie zdolności płytek krwi do łączenia się z fibrynogenem za pośrednictwem receptora GPIIb/IIIa.⁸⁹ Skrótowo, polega ona na pomiarze zmiany przenikliwości światła przez próbkę krwi pełnej poddanej ekspozycji na znany czynnik wyzwalający agregację płytek krwi w obecności fibrynogenu. Uzyskane przy użyciu systemu VerifyNow wyniki dobrze korelują z oznaczeniami w agregometrii optycznej oraz wskaźnikiem aktywności receptora GPIIb/IIIa.^{101, 102} Zaletami powyższego systemu jest możliwość uzyskania wyniku praktycznie przy łóżku chorego, prostota i szybkość oznaczenia (do 5 minut) oraz możliwość zastosowanie krwi pełnej. Aktualnie dostępne są trzy odmiany testów: VerifyNow IIb/IIIa Assay (specyficzny w stosunku do inhibitorów GPIIb/IIIa, agonista – peptyd aktywujący receptor dla trombiny (ang. *thrombin receptor activating peptide*, TRAP), VerifyNow Aspirin Assay (specyficzny w stosunku do aspiryny, agonista – kwas arachidonowy) i VerifyNow P2Y₁₂ Assay (specyficzny w stosunku do kłopidogrelu, agonista - ADP).⁸⁹ Celem zwiększenia specyficzności testu służącego ocenie działania kłopidogrelu oprócz ADP do próbki krwi dodawana jest prostaglandyna E₁ celem zmniejszenia wewnątrzkomórkowego poziomu jonów wapnia i tym samym ograniczenie wpływu indukowanej przez ADP aktywacji płytek krwi za pośrednictwem receptora P2Y₁. Do chwili obecnej wykazano zależność pomiędzy odpowiedzią na stosowane leczenie inhibitorem GPIIb/IIIa (VerifyNow IIb/IIIa Assay) a częstością powikłań niedokrwienych poddawanych planowym zabiegom PCI.¹⁰³ Podobnie stwierdzono korelację wyników oznaczenia aktywności płytek krwi w odpowiedzi na aspirynę (VerifyNow Aspirin Assay) a częstością wystąpienia istotnego okołozabiegowego wzrostu enzymów nekrotycznych po zabiegu PCI.¹⁰⁴

System testów Plateletworks pozwala na ocenę agregacji płytek krwi w krwi pełnej.^{105, 106} Zasada działania opiera się na pomiarze ilości płytek krwi za pomocą analizatora hematologicznego w próbce krwi pełnej, a następnie wykonania oznaczenia ilości płytek krwi w drugiej próbce krwi poddanej ekspozycji na znany czynnik wyzwalający agregację (ADP, kolagen). Stopień agregacji płytek krwi może być wyrażony wówczas jako stosunek ilość płytek krwi w próbce eksponowanej na czynnik wyzwalający agregację w porównaniu do wyjściowej ilość płytek krwi. Uzyskane wyniki wykazują dobrą korelację z wynikami agregometrii optycznej i mogą być przydatne dla monitorowania terapii przeciwpłytkowej.¹⁰⁵⁻¹⁰⁸

Wyniki uzyskane przy pomocy Thrombelastograph PlateletMapping System (TEG) pozwalają nie tylko na ocenę zahamowania aktywności płytek krwi przy

stymulacji kwasem arachidonowym lub ADP, ale także dostarczają informacji dotyczących procesu formowania i lizy skrzepu.^{47, 105, 109, 110} Zaletą systemu jest zastosowanie do oznaczeń krwi pełnej i możliwość uzyskania wyniku praktycznie przy łóżku chorego. Do chwili obecnej brak jest jednak dostatecznej ilości danych dotyczących przydatności powyższego systemu dla monitorowania stosowanej terapii przeciwpłytkowej.^{111, 112}

W przypadku systemu Impact cone and plate(let) analizy krew pełna jest poddawana działaniu sił ścinających poprzez rotację kuwetki w kształcie stożka w wystandaryzowanych warunkach. Poprzez analizę dystrybucji agregatów płytek krwi w obrębie kuwetki możliwa jest ilościowa ocena procesu adhezji i agregacji płytek krwi.^{89, 113} Zaletami omawianej metody jest łatwość zastosowania, wykonanie oznaczeń z użyciem małej ilości krwi pełnej oraz symulowanie działających w warunków fizjologicznych sił ścinających przepływu krwi. Dotychczas system ten stosowano do oceny skuteczności leczenia inhibitorami GPIIb/IIIa.¹¹³⁻¹¹⁵ Dodatkowa inkubacja *ex vivo* próbki krwi z kwasem arachidonowym lub ADP pozwala na zastosowanie Impact cone and plate(let) analizy w monitorowaniu działania odpowiednio aspiryny i kłopidogrelu. Do chwili obecnej brak jest jednak danych potwierdzających przydatność kliniczną tego modelu postępowania.

Zasada działania analizatora czynności płytek krwi PFA-100 oparta jest na symulacji w warunkach *in vitro* odpowiedzi układu krzepnięcia, w tym płytek krwi na uszkodzenie naczynia. Elementy wchodzące w skład systemu (zbiorniczek z próbką krwi, kapilara i aktywna biologicznie membrana (pokryta kolagenem i ADP lub epinefryną) z położoną centralnie szczelinką) tworzą sztuczne naczynie krwionośne. Pod wpływem działających sił ścinających płytki krwi ulegają aktywacji i agregacji formując skrzepinę, która stopniowo zamyka system, doprowadzając do zmniejszenia i ostatecznie wstrzymania przepływu krwi. Uzyskany wynik wyrażany jest jako czas potrzebny do zatrzymania przepływu krwi (tzw. „czas zamknięcia”).^{89, 116, 117} System PFA-100 charakteryzuje się prostotą obsługi i nie wymaga specjalnego przygotowania pobranych próbek krwi, dzięki czemu może pozwolić na uzyskanie wyniku praktycznie przy łóżku chorego. Ma ponadto ugruntowaną pozycję w diagnostyce i prowadzeniu pacjentów z wrodzonymi i nabytymi zaburzeniami czynności płytek krwi.¹¹⁷⁻¹¹⁹ Uzyskane wyniki nie odpowiadają jednak bezpośrednio stopniowi aktywacji płytek krwi, gdyż głównym determinantem czasu zamknięcia jest osoczowy poziom vWF.¹²⁰ Pomimo to, czas zamknięcia wykazał korelację ze stopniem uszkodzenia mięśnia

sercowego (poziomem wzroście enzymów nekrotycznych mięśnia sercowego) u pacjentów ze świeżym zawałem serca.¹²¹ Pozwala ponadto na wyodrębnienie grupy pacjentów z upośledzoną odpowiedzią na leczenie aspiryną.¹²²⁻¹²⁴ System PFA-100 wykazuje jednak ograniczoną przydatność w monitorowaniu efektów terapii kłopidogrelem i/lub inhibitorem GPIIb/IIIa.^{89, 125-129}

Zasada działania Multiplate Analyser oparta jest na ocenie agregacji płytek krwi metodą impedancyjną w krwi pełnej.¹³⁰ System posiada wszystkie zalety klasycznej agregometrii impedancyjnej, nie posiadając jej wad. Dzięki uproszczeniu i automatyzacji procedur pomiaru, oraz wprowadzeniu mechanizmu kontroli możliwym jest uzyskanie powtarzalnych wyników praktycznie przy łóżku chorego. Aktualnie prowadzone są liczne badania oceniające przydatność powyższego systemu w monitorowaniu efektów działania leczenia przeciwplateletowego.

Tabela 2. Metody laboratoryjne przydatne dla oceny efektu przeciwplateletowego kłopidogrelu

Metoda	Przewidywanie zdarzeń niedokrwiniennych
Zależna od receptora P2Y₁₂	
• VASP (cytofluorometria przepływowa)	tak
Zależna od stymulacji adenosynodifosforanem (ADP)	
• Agregometria optyczna	tak
• Agregometria impedancyjna (w tym Multiplate Analyser)	tak
• VerifyNow	tak
• Thrombelastograph PlateletMapping System	tak
• Plateletworks	nie
• Impact cone and plate(let) analyzer	nie
• Aktywność powierzchniowej selektyny P, ekspresji aktywowanego receptora GPIIb/IIIa (cytofluorometria przepływowa)	tak

1.8 Zjawisko oporności na leczenie kłopidogrelem

Pomimo wysokiej skuteczności kombinacji aspiryny i kłopidogrelu w zapobieganiu incydentom-sercowo naczyniowym raportowanej w kontrolowanych badaniach klinicznych, czy też rejestrach u części pacjentów stwierdza się wystąpienie nagłych zgonów sercowych, zawałów serca, udarów mózgu, czy też innych incydentów niedokrwienych. Może sugerować to obecność słabszej odpowiedzi, czy też braku odpowiedzi na stosowane leczenie farmakologiczne w pewnej grupie pacjentów. Potwierdzają to obserwacje oparte na pomiarach laboratoryjnych odpowiedzi płytek krwi na stosowane leczenie kłopidogrelem, które pokazały, że płytki krwi u pacjentów poddawanych zabiegom PCI wykazują dużą zmienność odpowiedzi na działanie ADP. U części pacjentów efekt zahamowania zależnej od ADP agregacji płytek krwi jest szczególnie słabo wyrażony pomimo zastosowania rutynowo zalecanych dawek kłopidogrelu.^{91-94, 97, 106, 126, 131-136} Zjawisko to określa się jako oporność lub też jako brak odpowiedzi na leczenie kłopidogrelem. Ta obserwowana zmienność odpowiedzi na leczenie kłopidogrelem wydaje się być uwarunkowana czynnikami genetycznymi i nabytymi. Może ona obejmować między innymi polimorfizm genetyczny białek będących punktem uchwytu leku, jego farmakokinetykę, oddziaływaniem pomiędzy lekami i innymi czynnikami środowiskowymi, oraz wyjściowym stopniem aktywności płytek krwi przed rozpoczęciem terapii. Ostatnie doniesienia sugerują, że 5-44% pacjentów w zależności od zastosowanych metod diagnostycznych i definicji nie osiąga dostatecznego stopnia zahamowania agregacji płytek krwi po zastosowaniu terapii kłopidogrelem.^{97, 106, 131-133, 136} Co istotne, pacjenci nie osiągający odpowiedniego stopnia zahamowania agregacji płytek krwi przed zabiegiem PCI mogą charakteryzować się podwyższonym ryzykiem wystąpienia okołozabiegowego wzrostu poziomu enzymów nekrotycznych, zakrzepicy w stencie lub też innych incydentów sercowo-naczyniowych w obserwacji odległej.^{47, 91-94, 111, 137-139}

1.9 Potencjalne mechanizmy zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem

U podłoża wystąpienia zjawiska oporności, czy też słabszej odpowiedzi na leczenie kłopidogrelem mogą leżeć czynniki zewnątrz- i wewnątrzpochodne – patrz

tabela 3.¹⁴⁰⁻¹⁴² Poniżej omówiono szerzej niektóre z potencjalnych mechanizmów tego zjawiska.

Tabela 3. Potencjalne czynniki warunkujące wystąpienie oporności na leczenie kłopidogrelem

Czynniki zewnątrzpochodne:

- Brak lub ograniczone przyjmowanie leku przez pacjenta (ang. *non-compliance*),
- Zastosowanie zbyt małej lub niewystarczającej dawki kłopidogrelu,
- Upośledzone wchłanianie kłopidogrelu,
- Interakcje z lekami metabolizowanymi przez cytochrom P450.

Czynniki wewnątrzpochodne:

- Czynniki genetyczne,
 - o Polimorfizm receptora P2Y₁₂,
 - o Polimorfizm cytochromu P450,
- Zwiększone uwalnianie adenozynodifosforanu (ADP),
- Zwiększony obrót pulą płytek krwi - wprowadzenie do krwioobiegu nowych płytek, nie poddanych do tej pory działaniu leku,
- Alternatywne drogi aktywacji płytek krwi,
 - o Nieskuteczne hamowanie zależnej od katecholamin (epinefryny) aktywacji płytek krwi,
 - o Zwiększona agregacja płytek krwi zależna od P2Y₁₂,
 - o Zwiększona agregacja płytek krwi niezależna od P2Y₁₂ (zależna od trombiny, tromboksanu A₂, kolagenu).

1.9.1 Brak lub ograniczone przyjmowanie leku przez pacjenta

W przypadku stwierdzenia niższej niż oczekiwana odpowiedzi na stosowane leczenie kłopidogrelem, szczególnie w przypadku terapii przewlekłej należy zróżnicować czy brak spodziewanego efektu terapeutycznego nie jest związany z brakiem lub ograniczeniem przyjmowania leku przez pacjenta. Okazuje się, że odsetek pacjentów zaprzestających leczenia przeciwplatekowego przed upływem 4 tygodni może

sięgać 20%.^{100, 143} Wydaje się to być o tyle ważnym, iż zaprzestanie leczenia przeciwplatekowego może wiązać się z bardzo wysokim ryzykiem wystąpienia zakrzepicy w stencie, szczególnie w przypadku stentów powlekanych lekiem antymitotycznym.^{143, 144} W opracowaniu Iakovou i wsp. zaprzestanie leczenia przeciwplatekowego było związane z 161-krotnym wzrostem ryzyka (95% CI 26-998) wystąpienia podostrej zakrzepicy w stencie i 57-krotnym wzrostem ryzyka (95% CI 15-220) późnej (>30 dni) zakrzepicy w stencie.¹⁴⁴ Spertus i wsp. wykazali w grupie 500 pacjentów poddanych zabiegowi pierwotnej PCI w STEMI z implantacją stentu powlekanego lekiem antymitotycznym, że zaprzestanie leczenia kłopidogrelem w okresie pierwszych 30 dni od incydentu wiąże się ze wzrostem śmiertelności w okresie kolejnych 11 miesięcy (7,5% vs 0,7%; $p < 0,0001$) i zwiększonym ryzykiem ponownych hospitalizacji (23% vs 14%; $p = 0,08$). Osoby przerywające leczenie przeciwplatekowe w powyższym badaniu częściej byli osobami starszymi, stanu wolnego, mieli niższe wykształcenie, chorobę niedokrwinną w wywiadzie oraz nie otrzymali dokładnych instrukcji dotyczących dalszego leczenia w momencie wypisu ze szpitala i nie byli kierowani celem rehabilitacji kardiologicznej.¹⁴³ Niebagatelne znaczenie dla zaniechania terapii może mieć również koszt leczenia kłopidogrelem. Równie ważnym zagadnieniem pozostaje zaprzestanie leczenia przeciwplatekowego wymuszone przez konieczność wykonania pilnego pozasercowego zabiegu chirurgicznego. W tym przypadku odstawienie kłopidogrelu prowadzi do znacznie podwyższonego ryzyka wystąpienia zawału serca i/lub zgonu w okresie okołozabiegowym.^{145, 146}

1.9.2 Upośledzone wchłanianie kłopidogrelu

Taubert i wsp. w grupie 10 zdrowych ochotników leczonych wysoką dawką wysycającą kłopidogrelu (600 mg) oznaczyli osoczowy poziom niezmodyfikowanej nieaktywnej formy kłopidogrelu, nieaktywnej pochodnej karboksylowej i aktywnej pochodnej tiolowej.²⁹ Badane osoby wykazywały dużą zmienność w zakresie odpowiedzi na stosowane leczenie kłopidogrelem (stopień zahamowania agregacji płytek krwi) i osoczowego poziomu kłopidogrelu i jego metabolitów. Co istotne, wykazano liniową zależność pomiędzy uzyskanym stopniem zahamowania agregacji płytek krwi a osoczowym poziomem kłopidogrelu ($r = 0,76$; $p = 0,01$), jego formy karboksylowej ($r = 0,70$; $p = 0,03$) i jego formy tiolowej ($r = 0,73$; $p = 0,02$), jak również zależność pomiędzy maksymalnym osoczowym poziomem kłopidogrelu a osoczowym

poziomem jego metabolitów. Wyniki powyższego badania mogą przemawiać za silną zależnością pomiędzy stopniem absorpcji kłopidogrelu, osiągniętym poziomem aktywnego metabolitu i ostatecznie uzyskanym wynikiem leczenia.²⁹ Potwierdzają to dane z badania ISAR-CHOICE wskazujące na ograniczoną zdolność do absorpcji i aktywacji kłopidogrelu w przypadku zastosowania bardzo wysokich dawek wysycających kłopidogrelu.³⁰

1.9.3 Interakcje z lekami metabolizowanymi przez CYP3A4

Jednym z potencjalnych mechanizmów oporności na leczenie kłopidogrelem może być jego oddziaływanie z innym lekami. Jak omówiono powyżej kłopidogrel jest prekursorem leku metabolizowanym w wątrobie przy udziale układu enzymatycznego CYP3A4. Tym samym leki będące inhibitorami, stymulatorami lub też substratami dla CYP3A4 mogą mieć potencjalny wpływ na skuteczność działania kłopidogrelu. Erytromycyna i troleandomycyna, będące inhibitorem CYP3A4 redukują efekt antyagregacyjny kłopidogrelu. Przeciwnie, rifampicyna, stymulator CYP3A4 zwiększa działanie kłopidogrelu.¹⁴⁷ Innymi lekami metabolizowanymi przez CYP3A4, które potencjalnie mogą upośledzać działanie kłopidogrelu są statyny (inhibitory reduktazy HMG-CoA). Leki te są często stosowane wspólnie z kłopidogrelem u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca jako element prewencji pierwotnej i wtórnej. Większość obecnie używanych leków z grupy statyn wykazuje powinowactwo do tłuszczu (z wyjątkiem prawastatyny) i jest metabolizowana, najczęściej w wątrobie do postaci rozpuszczalnej w wodzie i wydalana za pośrednictwem nerek. Lowastatyna i simwastatyna wykazują umiarkowane, natomiast atorwastatyna słabe powinowactwo do CYP 3A4.^{148, 149} Fluwastatyna i rosuwastatyna są natomiast metabolizowane za pośrednictwem CYP 2C9.^{140, 148}

Aktualnie dostępna forma atorwastatyny jest aktywną formą pochodną kwasu o słabym powinowactwie do CYP 3A4. W wyniku przemian biochemicznych powstaje z niej pochodna mleczanowa o wysokim powinowactwie do CYP3A4.¹⁵⁰ Po raz pierwszy zjawisko oddziaływania pomiędzy kłopidogrelem i atorwastatyną zostało opisane przez Clarke i wsp.²⁷ W badaniach *in vitro* z użyciem mikrosomów z wątroby szczurów, komórek owadów i ludzkich limfoblastów badacze potwierdzili udział CYP3A4 w metabolizmie kłopidogrelu. Wykazali ponadto, że poziom metabolizmu kłopidogrelu jest ściśle zależny od obecności innych substratów CYP3A4, a stopień zahamowania

metabolizmu kłopidogrelu wykazuje bezpośrednią zależność od stężenia atorwastatyny. Podobnie Lau i wsp. potwierdzili obecność istotnej interakcji pomiędzy działaniem kłopidogrelu i atorwastatyny (dawka 40 mg).¹⁴⁷ Obserwowana redukcja efektu przeciwpłytkowego kłopidogrelu była zależna od wielkości zastosowanej dawki atorwastatyny i utrzymywała się w okresie 6-8 dni od rozpoczęcia terapii. W przeciwieństwie do tego zastosowanie prawastatyny (statyna nie metabolizowana za pośrednictwem CYP3A4) nie wpływało na osiągnięty poziom zahamowania agregacji płytek krwi w odpowiedzi na kłopidogrel. Ograniczeniem badania Lau i wsp. jest niska liczebność badanej populacji i brak oceny agregacji płytek krwi metodą agregometrii optycznej.¹⁴⁷ Neubauer i wsp. wykazali, że podobny wpływ ograniczający działanie kłopidogrelu posiada również simwastatyna.¹⁵¹ Co istotne, badacze potwierdzili, że wpływ atorwastatyny i simwastatyny na zależne od zastosowania kłopidogrelu zahamowanie agregacji płytek krwi zmniejsza się wraz z wydłużeniem czasu ich łącznego zastosowania (29% redukcja zahamowania agregacji płytek krwi w 5. godzinie od podania dawki wysycającej kłopidogrelu vs 16% w 48. godzinie).¹⁵¹

W przeciwieństwie do powyższych obserwacji dalsze badania nie potwierdziły istotności klinicznej oddziaływania pomiędzy kłopidogrelem a lekami z grupy statyn. W retrospektywnej analizie badania PRONTO (ang. *Plavix Reduction of New Thrombus Occurrence*) w grupie 100 pacjentów poddawanych planowemu zabiegowi PCI leczonych uprzednio dawką wysycającą 300 mg kłopidogrelu nie wykazano wpływu zastosowania statyn na stopień zahamowania agregacji płytek krwi określony w 2. i 5. dniu terapii kłopidogrelem.¹⁵² Analiza wyników badania CREDO nie wykazała zwiększonej częstości wystąpienia powikłań niedokrwiennych w obserwacji bezpośredniej i odległej w grupie pacjentów leczonych kłopidogrelem i statyną.¹⁵³ Podobnie w rejestrze MITRA PLUS (ang. *Maximal Individual Therapy of Acute Myocardial Infarction PLUS registry*) nie potwierdzono wpływu stosowania atorwastatyny i innych statyn na rokowanie kliniczne pacjentów (wystąpienie zgonu i udaru mózgu) leczonych kłopidogrelem w obserwacji 14-miesięcznej.¹⁵⁴ Ograniczeniem trzech powyższych badań jest ich retrospektywny charakter, brak randomizacji do stosowania, czy też nie stosowania statyny, oraz brak odniesienia uzyskanych wyników do wielkości stosowanych dawek statyny.¹⁵²⁻¹⁵⁴

Kolejne dwa badania nie potwierdziły wpływu zastosowania statyn na efekt przeciwpłytkowy osiągnięty poprzez zastosowanie wysokiej (600 mg) dawki kłopidogrelu.^{155, 156} Również łączne zastosowanie statyn (atorwastatyna 10 mg,

prawastyna 40 mg) i kłopidogrelu w terapii przewlekłej (5 tygodni po wystąpieniu ostrego zespołu wieńcowego) nie wiązało się z ograniczeniem efektu przeciwpłytkowego kłopidogrelu.^{157, 158} Z drugiej strony podanie kłopidogrelu nie osłabiało efektu hypolipemizującego atorwastatyny.¹⁵⁷ Podobnie Serebruany i wsp. w badaniu INTERACTION (ang. *Interaction of Atorvastatin and Clopidogrel Study*) nie wykazali różnic w zakresie 19 parametrów charakteryzujących czynność płytek krwi określonych w 4 i 24 godzinie od podania standardowej dawki wysycającej kłopidogrelu pomiędzy pacjentami przyjmującymi statyny, w tym atorwastatinę, a pacjentami nie leczonymi statyną. Co istotne, stwierdzili oni również istnienie przeciwpłytkowego efektu statyn (spadek ekspresji PAR-1).¹⁵⁹

Jednoznaczną interpretację wyników powyższych badań utrudniają ich ograniczenia metodologiczne wynikające z zastosowania odmiennych metod oceny funkcji płytek krwi, małej liczebności badanych populacji pacjentów, czy też braku standaryzacji stosowanych dawek statyn.^{147, 151-159} Tym samym dostępne dane nie mogą wykluczyć istotności klinicznej oddziaływania pomiędzy kłopidogrelem i statynami metabolizowanymi za pośrednictwem CYP3A4.

1.9.4 Czynniki genetyczne

Jednym z czynników warunkujących odpowiedź na stosowane leczenie kłopidogrelem, a tym samym wystąpienie zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem może być polimorfizm receptora P2Y₁₂. Wystąpienie mutacji w zakresie genu dla receptora P2Y₁₂ wiąże się z wystąpieniem wrodzonych zaburzeń krzepnięcia krwi.¹⁶⁰ Płytki krwi pacjentów posiadających ten polimorfizm utrzymują zdolność zmiany konformacji receptora w wyniku ekspozycji na ADP, ale uzyskana agregacja jest słaba i ma charakter przejściowy.¹⁶⁰ Fontana i wsp. w grupie 98 zdrowych ochotników określili zmiany sekwencji genów receptora P2Y₁₂, które mogą być odpowiedzialne za osobniczą zmienność stopnia agregacji płytek krwi w odpowiedzi na ADP.¹⁶¹ Zmiany sekwencji dotyczyły polimorfizmu trzech pojedynczych nukleotydów lub polimorfizmu związanego z insercją jednego nukleotydu. Badacze brak żadnego z powyższych czterech polimorfizmów określili jako duży haplotyp (H1), natomiast obecność wszystkich polimorfizmów jako mały haplotyp (H2). Obecność haplotypu H2 była związana z istotnie wyższą agregacją płytek krwi w odpowiedzi na ADP (mediana agregacji płytek krwi odpowiednio H1/H1 – 34,7% vs H1/H2 – 67,9% vs H2/H2 –

82,4%; $p=0,0071$).¹⁶¹ Obecność co najmniej jednego allelu H2 była ponadto stwierdzana częściej (30%) wśród pacjentów z potwierdzoną miażdżycą tętnic obwodowych, niż w przypadku pacjentów z grupy kontrolnej (21%; $p=0,02$).¹⁶² Tym samym można wnioskować, iż pacjenci posiadający haplotyp H2 charakteryzują się wyższym ryzykiem incydentów sercowo-naczyniowych i potencjalnie słabszą odpowiedzią na stosowane leczenie kłopidogrelem. Jednym z możliwych wytłumaczeń zwiększonej reaktywności płytek krwi może być zwiększenie ilości receptorów na ich powierzchni stwierdzone w przypadku obecności haplotypu H2.¹⁴⁰

Lau i wsp. potwierdzili wpływ aktywności CYP3A4 na odpowiedź na terapię kłopidogrelem.¹⁶³ Określona metodą testu oddechowego z użyciem erytromycyny aktywność CYP3A4 wykazywała korelację ze stopniem zahamowania agregacji płytek krwi po leczeniu kłopidogrelem. Ponadto w ponad jednej trzeciej przypadków oporność na leczenie kłopidogrelem była związana ze zmniejszoną osobniczo zmienną aktywnością CYP3A4. Użycie induktorów CYP 3A4 (rifampicyna) pozwoliło na zwiększenie odpowiedzi na wysycającą dawkę kłopidogrelu, w grupie pacjentów zidentyfikowanej wcześniej jako odpornej na leczenie.¹⁶³ W związku ze zbliżoną specyficznością CYP3A4 i CYP3A5 trudno jednoznacznie zróżnicować ich wpływ na metabolizm zależny od CYP3A.¹⁶⁴ Co istotne, aktywność CYP3A4 wykazuje niezależną od działania znanych inhibitorów i stymulatorów osobniczą zmienność, która wydaje się być uwarunkowana czynnikami genetycznymi.¹⁶⁵ Ta indywidualna zmienność dotycząca czynności CYP3A4 może mieć znaczący wpływ na aktywację i tym samym działanie kłopidogrelu. Do chwili obecnej zidentyfikowano polimorfizm 30 pojedynczych nukleotydów w zakresie genu dla CYP3A4 i polimorfizm 10 pojedynczych nukleotydów w zakresie genu dla CYP3A5.^{140, 164, 166} Obecność polimorfizmów może odpowiadać za osobnicze różnice dotyczące metabolizmu zależnego od CYP3A.¹⁴⁰ Angiolillo i wsp. zidentyfikowali jeden z polimorfizmów CYP3A4 (IVS10+12G>A) potencjalnie odpowiedzialny za zmienność odpowiedzi na leczenie kłopidogrelem.¹⁶⁷ Polimorfizm CYP3A5*3 jest związany natomiast z obniżoną ekspresją CYP3A5.¹⁶⁶ Suh i wsp. wykazali słabszą odpowiedź na leczenie kłopidogrelem w obecności silnego inhibitora CYP3A (itakonazol) w przypadku wystąpienia polimorfizmu CYP3A5*3, niż polimorfizmu CYP3A5*1. Co istotne, stwierdzana częstość incydentów sercowo-naczyniowych (zgon, zawał serca, udar niedokrwieny mózgu) w okresie 6 miesięcy po zabiegu PCI z implantacją stentu była istotnie wyższa w przypadku polimorfizmu CYP3A5*3 (polimorfizm CYP3A5*3 vs

polimorfizm CYP3A5*1: 7,3% vs 1,9%; $p=0,023$). Analiza wieloczynnikowa wykazała ponadto, że obecność polimorfizmu CYP3A5*3 jest niezależnym predyktorem wystąpienia zdarzeń niedokrwiennych u pacjentów leczonych kłopidogrelem.¹⁶⁸

1.9.5 Zwiększony obrót pulą płytek krwi

Lim i wsp. porównali stopień zahamowania agregacji płytek osiągnięty w 5. dniu od zabiegu kardiochirurgicznego u pacjentów leczonych samą aspiryną lub samym kłopidogrelem. W przeciwieństwie do pacjentów leczonych aspiryną chorzy otrzymujący kłopidogrel nie uzyskali istotnego przyrostu stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w odpowiedzi na stosowaną terapię.¹⁶⁹ Tym samym zwiększony obrót pulą płytek krwi związany z zabiegiem chirurgicznym może wiązać się z opornością na stosowane leczenie kłopidogrelem, przy czym dokładny mechanizm tego zjawiska do chwili obecnej jest nieznan.¹⁷⁰

1.10 Potencjalne znaczenie zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem

Wystąpienie zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem może wiązać się z nieosiąganiem przez pewną grupę pacjentów optymalnego stopnia zahamowania agregacji płytek krwi przed zabiegiem PCI, a tym samym potencjalnie wzrostem ryzyka powikłań niedokrwiennych w okresie obserwacji krótkoterminowej i odległej. Oznaczenie stopnia zahamowania agregacji płytek krwi przy użyciu prostych i szybkich metod oceny funkcji płytek krwi może pozwolić na wykrycie grupy pacjentów opornych na stosowane leczenie kłopidogrelem. Wczesna identyfikacja tej grupy chorych może w przyszłości pozwolić na optymalizację stosowanego leczenia przeciwplatekowego, na przykład poprzez modyfikację dawki lub też rodzaju stosowanego leczenia przeciwplatekowego.

2. Cele badania

Głównymi celami powyższego badania były:

1. określenie częstości występowania zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca przy zastosowaniu metod szybkiej oceny funkcji płytek krwi,
2. określenie możliwości wczesnej identyfikacji pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem przy zastosowaniu metod szybkiej oceny funkcji płytek krwi,
3. określenie ewentualnych różnic w zakresie charakterystyki klinicznej i współistniejącego leczenia farmakologicznego pomiędzy grupą pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem i pacjentów z odpowiedzią prawidłową.

3. Metodyka

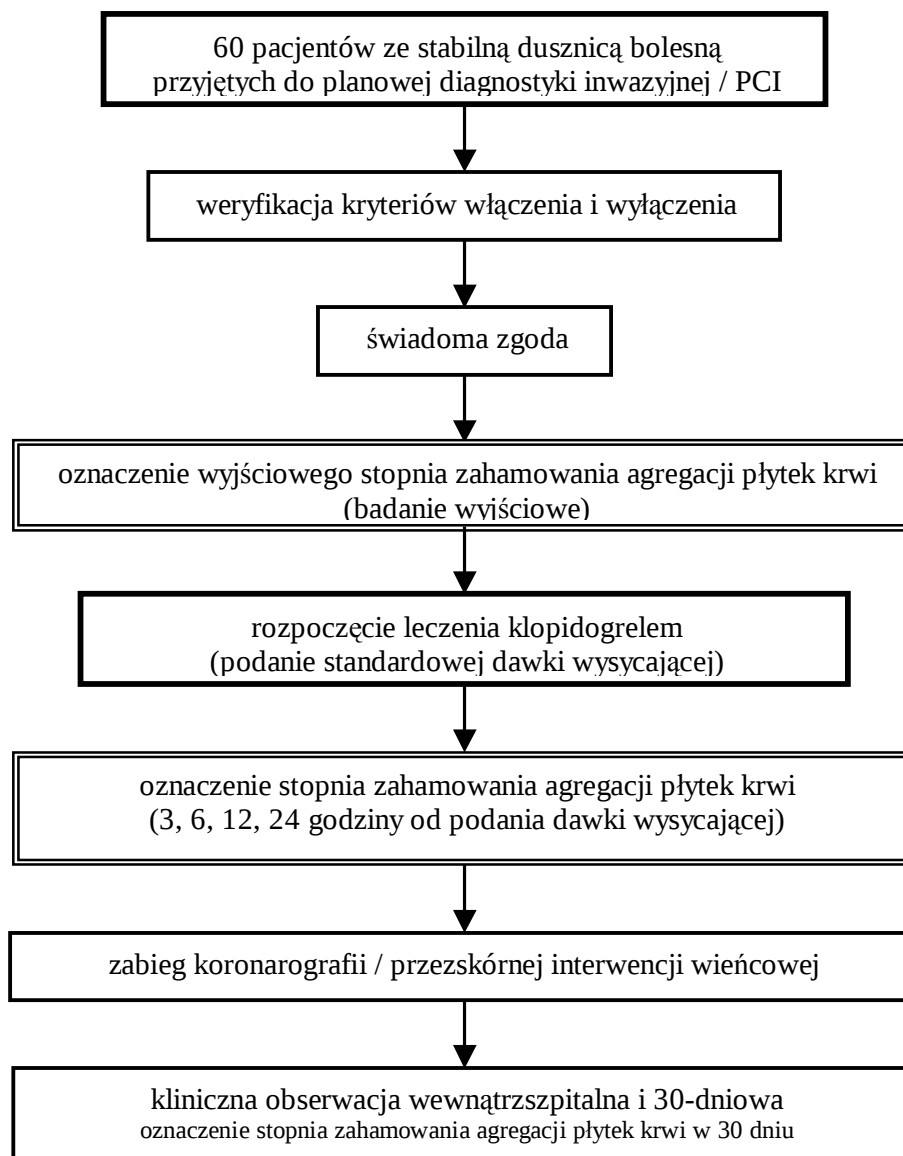
3.1 Badana populacja

Po uzyskaniu świadomej zgody do badania włączono 60 kolejnych pacjentów ze stabilną dusznicą bolesną zakwalifikowanych do planowego zabiegu koronarografii / przezskórnej interwencji wieńcowej leczonych co najmniej przez okres 7 ostatnich dni aspiryną w dawce 75-100 mg/doba (patrz rycina 1. i tabela 4.). Od wszystkich pacjentów uzyskano świadomą, pisemną zgodę zgodną ze wzorem zaaprobowanym przez Komisję Bioetyczną. Kryteriami wyłączenia z badania było stosowanie tienopirydyn i/lub inhibitora GPIIb/IIIa i/lub leków fibrynolitycznych w okresie ostatnich 30 dni, przebyty ostry incydent wieńcowy w okresie ostatnich 30 dni, przeciwwskazania do zastosowania kłopidogrelu (znana nadwrażliwość na substancje czynne lub inne składniki preparatu), zwiększone ryzyko powikłań krwotocznych (skaza krwotoczna, liczba płytek krwi $<100000/\text{mm}^3$, terapia doustnymi lekami przeciwzakrzepowymi, duże krwawienie, uraz lub zabieg operacyjny w okresie ostatnich 30 dni, czynna choroba wrzodowa), ciężka niewydolność nerek, ciężka niewydolność wątroby, ciąża, udział w innym badaniu klinicznym z użyciem leków lub środków farmaceutycznych.

3.2 Stosowane leczenie

Wszyscy pacjenci otrzymali kłopidogrel w standardowej dawce wysycającej (300 mg), a następnie w dawce 75 mg/doba do momentu wykonania zabiegu PCI, a następnie przez okres 28 dni, jeśli w czasie zabiegu PCI implantowano stent wieńcowy (stent stalowy). Dodatkowo pacjenci byli leczeni aspiryną w dawce 75 mg/doba. Zabieg koronarografii i ewentualnej PCI wykonywano w czasie dłuższym niż 24 godziny od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem. Zgodnie z protokołem badania nie stosowano inhibitora GPIIb/IIIa w okresie pierwszych 24 godzin od momentu podania wysycającej dawki kłopidogrelu. Stosowanie inhibitora GPIIb/IIIa i dawkowanie heparyny w czasie PCI było zależne od decyzji operatora. Uzupełniające leczenie farmakologiczne było

przewodzone zgodnie z aktualnymi wytycznymi dotyczącymi leczenia stabilnej dusznicy bolesnej, oraz prowadzenia zabiegów przezskórnej interwencji wieńcowej.⁵⁶



Rycina 1. Schemat badania

Tabela 4. Rozkład czasowy procedur badania

	Czas do / od podania dawki wysycającej klopidogrelu					Czas od PCI				
	-24 godz	-1 min	3 godz	6 godz	12 godz	24 godz	>24god z	24 godz	wypis	30 dni
Kryteria włączenia i wyłączenia	X									
Świadoma zgoda	X									
Wywiad / badanie fizyczne	X									
Podstawowe badania laboratoryjne	X									
Hb / Ht ^a	X							X		
CPK / CK-MB ^b	X							X		
elektrokardiogram ^c	X							X		
Leczenie współistniejące	X									
Dawka wysycająca klopidogrelu (300 mg)		X								
Ocena stopnia zahamowania agregacji platek krwi		X	X	X	X	X				X
Koronarografia / PCI							X			
Ocena wystąpienia klinicznych punktów końcowych									X	X

^a dodatkowe oznaczenia poziomu hemoglobiny (Hb) i hematokrytu (Ht) w każdym przypadku podejrzenia epizodu krwawienia lub konieczności przetoczenia krwi

^b dodatkowe oznaczenia poziomu fosfokinazy kreatynowej (CPK) / izoenzymu sercowego fosfokinazy kreatynowej (CK-MB) w każdym przypadku spoczynkowych dolegliwości bólowych w klatce piersiowej, oraz 8, 16, 24 godzin od incydentu

^c dodatkowy zapis elektrokardiogramu w każdym przypadku spoczynkowych dolegliwości bólowych w klatce piersiowej

3.3 Ocena kliniczna

Oceniono wystąpienie dużych incydentów wieńcowych takich jak: zgon, zawał serca, potrzeba (ponownej) pilnej rewaskularyzacji mięśnia sercowego (zabiegu przezskórnej interwencji wieńcowej i/lub pomostowania aortalno-wieńcowego), wystąpienie spoczynkowych dolegliwości bólowych w klatce piersiowej w okresie

hospitalizacji i obserwacji 30-dniowej. W powyższym okresie oceniono ponadto wystąpienie innych incydentów sercowo-naczyniowych w szczególności wystąpienie udaru niedokrwiennego mózgu / przejściowego niedokrwienia mózgu, oraz powikłań krwotocznych. Poziom kinazy fosfokreatynowej (ang. *creatine phosphokinase*, CPK) i izoenzymu kinazy fosfokreatynowej pochodzenia sercowego (CK-MB) w surowicy krwi oznaczono bezpośrednio przed zabiegiem PCI, oraz w 8, 16. i 24. godzinie od momentu zakończenia zabiegu PCI. Dodatkowe próbki krwi pobrano ponadto w każdym przypadku spoczynkowych dolegliwości bólowych w klatce piersiowej co 8 godzin w ciągu pierwszych 24 godzin od wystąpienia incydentu bólu. Celem monitorowania wystąpienia powikłań krwotocznych pobrano próbki krwi dla oceny poziomu hemoglobiny i hematokrytu przed zabiegiem koronarografii / PCI i w 24 godzinie po jego zakończeniu. Dodatkowych oznaczeń dokonano w każdym przypadku podejrzenia epizodu krwawienia lub konieczności przetoczenia krwi. Za zgon uznawano zgon sercowy, jak i pozasercowy w okresie prowadzonej obserwacji. Zawał serca definiowano jako wystąpienie dolegliwości bólowych w klatce piersiowej, z towarzyszącymi świeżymi zmianami w zapisie elektrokardiogramu (uniesienie odcinka ST, blok lewej odnogi pęczka Hisa, pojawienie się nowych załamków Q) i/lub wzrostem aktywności CPK trzykrotnie powyżej normy lub 50% powyżej stanu wyjściowego, jeśli norma była przekroczona. Duże powikłania krwotoczne definiowano jako wystąpienie krwawienia śródczaszkowego lub obecność krwawienia prowadzącego do spadku poziomu hemoglobiny >5 g/dl w porównaniu do badania wyjściowego. Ocenie poddano również wystąpienie małych powikłań krwotocznych w szczególności obecność krwiaka w miejscu nakłucia tętnicy udowej. U wszystkich pacjentów określono ponadto rodzaj stosowanego współlistniejącego leczenia farmakologicznego.

3.4 Pomiar stopnia zahamowania agregacji płytek krwi

3.4.1 Metodyka pomiaru

System testów Plateletworks Aggregation Kits (Helena Laboratories, Beaumont, TX, USA) jest dwu-etapową metodą wymagającą użycia automatycznego analizatora hematologicznego celem oceny ilości płytek krwi w próbce krwi pełnej, a następnie wykonania oznaczenia ilości płytek krwi w drugiej próbce krwi poddanej ekspozycji na

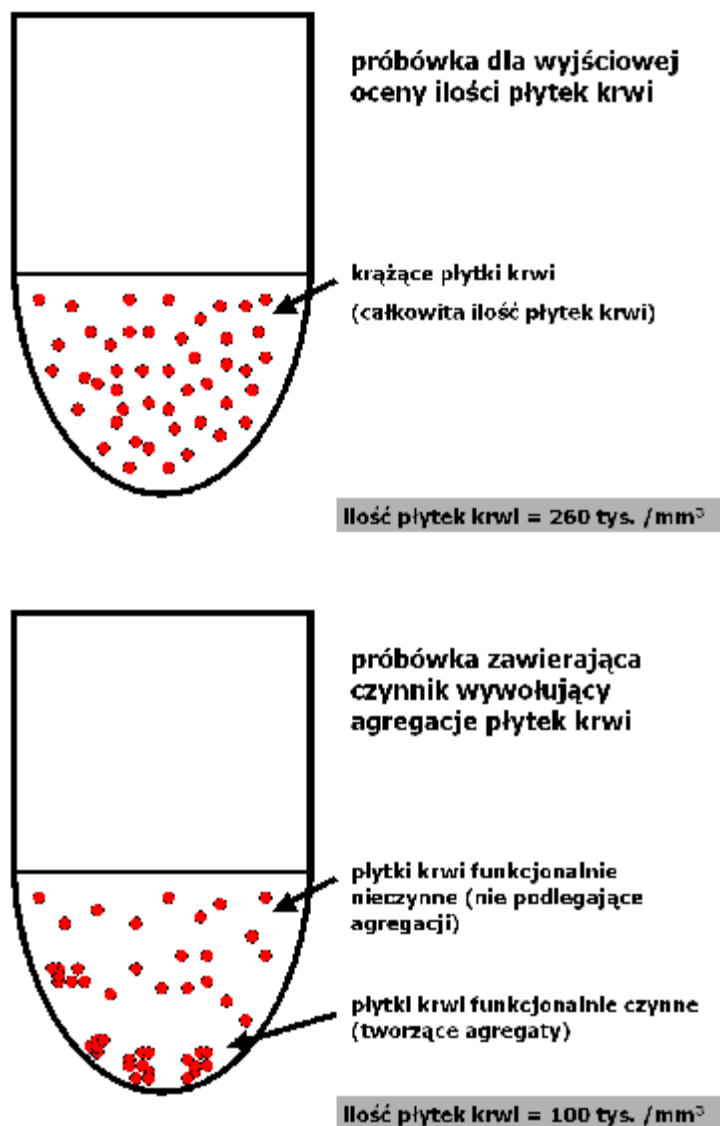
znany czynnik wyzwalający agregację. Czynnik wyzwalający agregację powoduje pobudzenie funkcjonalnie czynnych płytek krwi i ich agregację z wytworzeniem zakrzepu. Płytki krwi tworzące zakrzep nie są brane pod uwagę w trakcie oznaczania ilości płytek krwi w drugiej próbce. Płytki krwi nieczynne w wyniku podania leków przeciwpłytkowych uważane są za płytki funkcjonalnie nieczynne (nieaktywne) – patrz rycina 2. Uzyskany wynik może zostać wyrażony więc jako procent zahamowania agregacji płytek krwi (procent zahamowania agregacji = ilość płytek krwi w próbce ekspozycyjnej na czynnik wyzwalający agregację / wyjściowa ilość płytek krwi * 100%).

3.4.2 Odczynniki i reagenty

Próbówka do oceny wyjściowej ilości płytek krwi zawiera 0,024 ml 7,5% roztworu K₃EDTA (1,80 mg). Próbkę z agonistą zawiera około 20 µM liofilizowanego ADP (stężenie po umieszczeniu w próbówce 1,0 ml krwi pełnej), oraz 3,2% cytrynian sodu (antykoagulant) z solami buforującymi.

3.4.3 Pobranie i przygotowanie próbek krwi

Próbki krwi żyłnej zostały pobrane przy użyciu nakłucia żyły obwodowej w sposób zapobiegający kumulacji w próbce krwi tromboplastyny tkankowej. Do nakłucia użyto igieł o rozmiarze 21G i większym celem redukcji ryzyka potencjalnej aktywacji płytek krwi w trakcie pobierania próbek krwi. Unikano rozcieńczenia próbki krwi przez wlewy dożyłne oraz podawania antykoagulantów lub innych substancji mogących współoddziaływać z reagentami.



Rycina 2. Schemat przedstawiający zasadę oznaczenia stopnia zahamowania agregacji krwi (SZAP) przy pomocy systemu Plateletworks ($SZAP = 100\,000 / 260\,000 \cdot 100\% = 38,46\%$)

3.4.4 Procedury pomiaru

Próbki obwodowej krwi żyłnej (około 2 ml, z pominięciem pierwszych 2-3 ml) zostały pobrane zgodnie z techniką przedstawioną wyżej wyjściowo, oraz w 3, 6, 12, 24. godzinie od podania wysycającej standardowej dawki kłopidogrelu, oraz w trakcie kontrolnej wizyty 30-dniowej. Następnie, po 1 ml krwi umieszczono w próbówce

służącej do wyjściowej oceny ilości płytek krwi oraz próbówki zawierającej czynnik wywołujący agregację. Każda próbówka odwrócono 10-15 razy celem dokładnego wymieszania próbki krwi z antykoagulantem i/lub czynnikiem wywołującym agregację płytek krwi. Ilość płytek krwi w obu próbówkach została oznaczona przy użyciu automatycznego analizatora hematologicznego Sysmex K800 (TOA Medical Electronics, Japonia). Następnie określono procent zahamowania agregacji płytek krwi przy użyciu przedstawionego wyżej wzoru.

3.4.5 Definicja oporności na leczenie kłopidogrelem

Odpowiedź na stosowane leczenie kłopidogrelem [zmianę stopnia zahamowania agregacji płytek krwi (Δ SZAP)] zdefiniowano jako absolutną różnicę pomiędzy stopniem zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określoną w poszczególnych punktach czasowych od momentu rozpoczęcia leczenia kłopidogrelem, a SZAP określonym wyjściowo [np. Δ SZAP_{3 godz.} = SZAP (po 3 godzinach) - SZAP (wyjściowy)]. Wartość dodatnia Δ SZAP świadczy o zwiększeniu stopnia zahamowania agregacji płytek krwi. Za oporność na stosowane leczenie kłopidogrelem przyjęto Δ SZAP $\leq 10\%$, natomiast za prawidłową odpowiedź na stosowane leczenie kłopidogrelem Δ SZAP $> 10\%$.

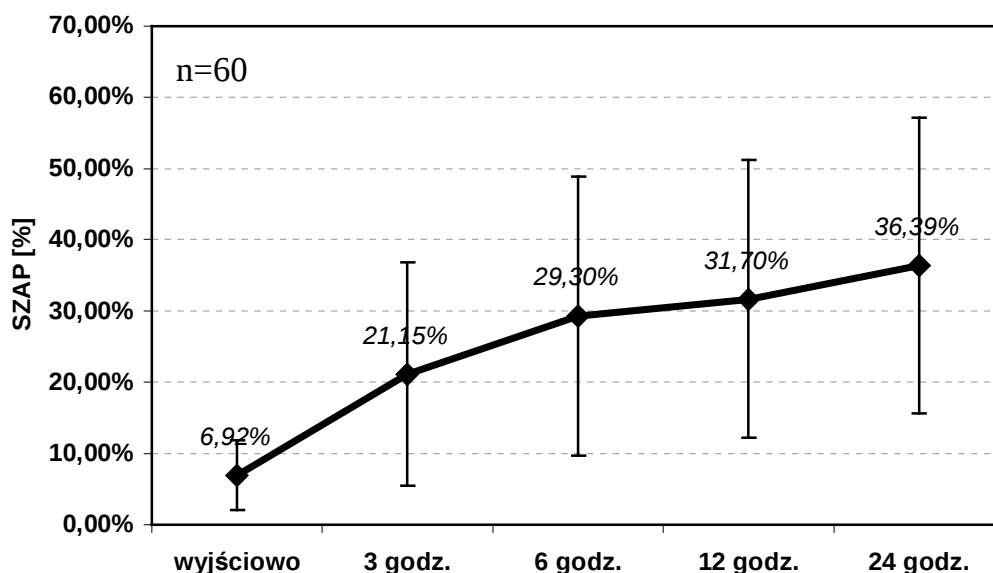
3.5 Analiza statystyczna

Zmienne ciągłe przedstawiono jako średnią $\pm$ odchylenie standardowe, a do ich porównania użyto testów Wilcoxona dla par wiązanych i prób niezależnych. Zmienne skategoryzowane przedstawiono jako liczebności i odsetki pacjentów, a do ich porównania użyto testu dokładnego Fishera. Korelację pomiędzy zmianą stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w poszczególnych punktach czasowych określono wyznaczając współczynnik korelacji porządku rang Spearmana. Użyto testów dwustronnych przy poziomie istotności $p < 0,05$. Analizę statystyczną przeprowadzono przy użyciu pakietu Statistica wersja 6.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

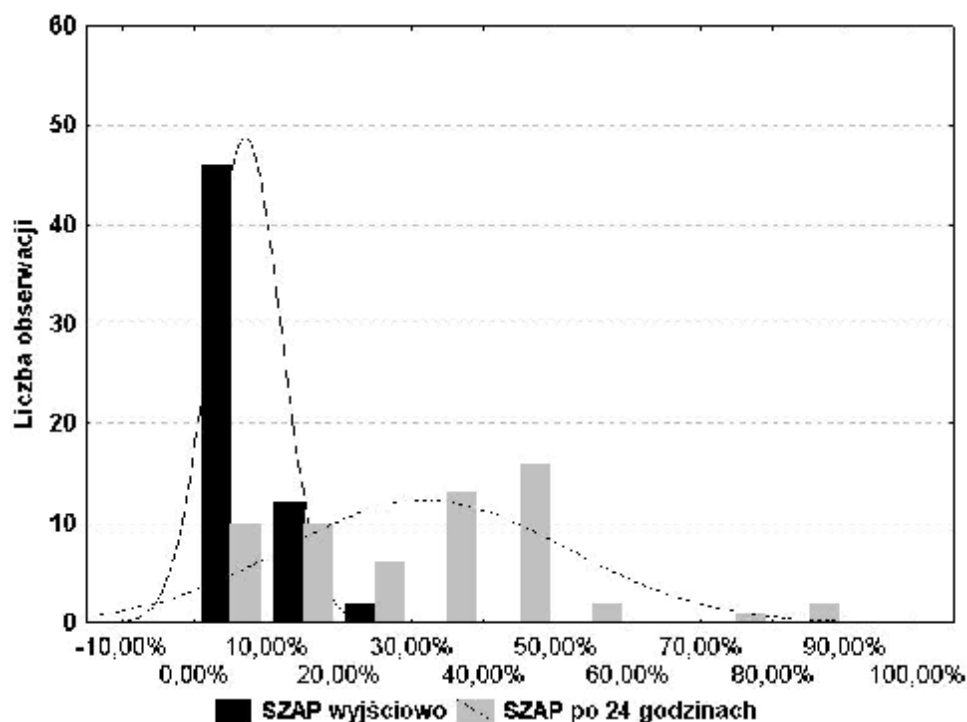
4. Wyniki

4.1 Wpływ kłopidogrelu na stopień zahamowania agregacji płytek krwi

Średni stopień zahamowania agregacji płytek krwi oznaczony w grupie 60 pacjentów przed podaniem wysycającej dawki kłopidogrelu wyniósł $6,92 \pm 4,90\%$. W wyniku podania wysycającej dawki kłopidogrelu doszło do wzrostu stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w czasie. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi oznaczony w 3. godzinie wynosił odpowiednio $21,15 \pm 15,67\%$; w 6. godzinie $29,30 \pm 19,59\%$; w 12. godzinie $31,70 \pm 19,45\%$ i osiągnął wartość maksymalną w 24. godzinie ($36,39 \pm 20,79\%$) – patrz rycina 3. Średnia zmiana stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w 24. godzinie od momentu rozpoczęcia leczenia kłopidogrelem ($\Delta\text{SZAP}_{24 \text{ godz.}}$) wyniosła $29,66 \pm 19,88\%$. Rozkład (histogram) stopnia zahamowania agregacji płytek krwi określonego wyjściowo i w 24. godzinie od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem przedstawia rycina 4.



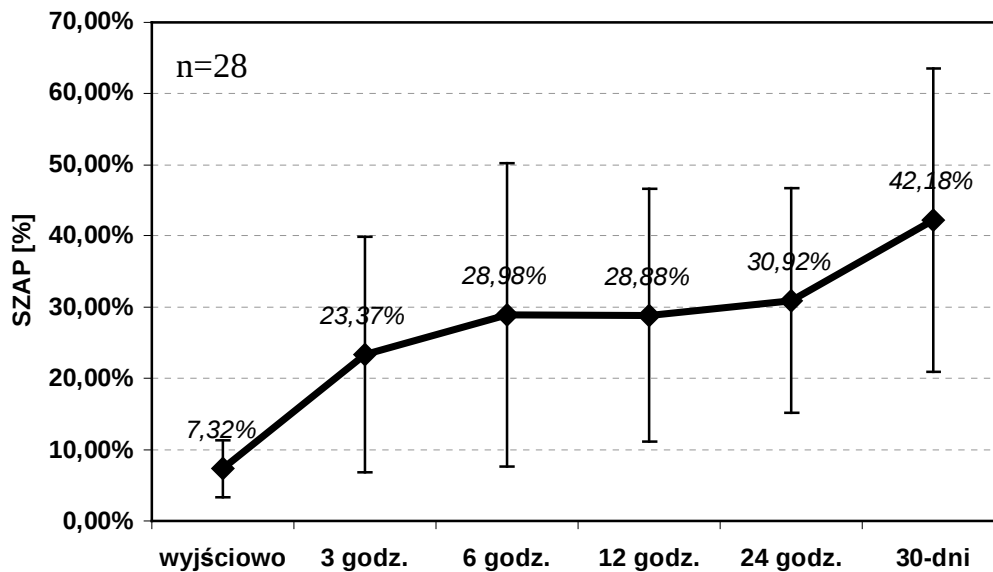
Rycina 3. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) w poszczególnych punktach czasowych (wyjściowo oraz w 3, 6, 12, 24. godzinie od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem)



Rycina 4. Rozkład (histogram) stopnia zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określonego wyjściowo i w 24. godzinie od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem

Stopień zahamowania agregacji płytek krwi w trakcie wizyty 30-dniowej określono w podgrupie 28 (46,67%) pacjentów. Dziewiętnastu pacjentów (31,67%) nie przyjmowało kłopidogrelu w momencie wizyty kontrolnej, natomiast 5 (8,33%) przyjmowało inny lek z grupy tienopirydyn (tiklopidynę). W przypadku pozostałych 8 (13,33%) pacjentów dane dotyczące obserwacji klinicznej uzyskano drogą kontaktu telefonicznego. Średni stopień zahamowania agregacji płytek krwi oznaczony w powyższej grupie 28 pacjentów przed podaniem wysycającej dawki kłopidogrelu wyniósł $7,32 \pm 4,00\%$. Podobnie jak i w całej badanej populacji pacjentów zaobserwowano wzrost stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w kolejnych punktach czasowych od momentu podania dawki wysycającej kłopidogrelu. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi oznaczony w 3. godzinie wynosił odpowiednio $23,37 \pm 16,52\%$; w 6. godzinie $28,98 \pm 21,29\%$; w 12. godzinie $28,88 \pm 17,73\%$; w 24. godzinie $30,92 \pm 15,76\%$ i osiągnął wartość maksymalną w 30. dniu ($42,18 \pm 21,28\%$) – patrz rycina 5. Średnia zmiana stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w 24.

godzinie od momentu rozpoczęcia leczenia kłopidogrelem ($\Delta\text{SZAP}_{24 \text{ godz.}}$) wyniosła $24,02 \pm 15,31\%$ i wzrosła w 30. dniu ($\Delta\text{SZAP}_{30 \text{ dni}}$) do $35,03 \pm 20,66\%$.



Rycina 5. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) w poszczególnych punktach czasowych (wyjściowo oraz w 3, 6, 12, 24. godzinie i 30. dniu od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem - na podstawie danych dla 28 osób z wynikiem dla 30 dni)

4.2 Przebieg kliniczny

Charakterystykę kliniczną badanej populacji i rodzaj stosowanego współistniejącego leczenia farmakologicznego przedstawiają tabele 5. i 6. U wszystkich pacjentów wykonano skuteczny zabieg PCI. W 41 (68,33%) przypadkach implantowano stent wieńcowy, przy czym w 13 (21,67%) przypadkach zabieg dotyczył więcej niż jednego naczynia. W okresie hospitalizacji nie stwierdzono wystąpienia zgonu, czy też potrzeby (ponownej) pilnej rewaskularyzacji mięśnia sercowego. U jednego (1,67%) pacjenta stwierdzono wystąpienie okołozabiegowego zawału mięśnia sercowego definiowanego jak wyżej. U jednego (1,67%) pacjenta wystąpiły spoczynkowe dolegliwości bólowe w klatce piersiowej nie spełniające kryterium zawału serca. W okresie trwania hospitalizacji nie stwierdzono ponadto wystąpienia innych incydentów sercowo-naczyniowych, w tym udaru niedokrwiennego / przejściowego niedokrwienia mózgu. Wystąpienie małych powikłań krwotocznych

(krwiaka w miejscu nakłucia tętnicy udowej) stwierdzono w 7 (11,67%) przypadkach. U żadnego z chorych nie stwierdzono wystąpienia dużych krwawień, w tym krwawień wewnątrzczaszkowych. Nie zaistniała ponadto konieczność przetoczenia krwi lub preparatów krwiopochodnych.

Tabela 5. Charakterystyka demograficzna, czynniki ryzyka choroby niedokrwiennej serca w grupie pacjentów opornych i z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem (patrz tekst) określonej w 24. godzinie od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem

	Łącznie	Pacjenci oporni na leczenie $\Delta\text{SZAP}_{24 \text{ godz.}} \leq 10\%$	Pacjenci z prawidłową odpowiedzią $\Delta\text{SZAP}_{24 \text{ godz.}} > 10\%$	p
N=	60	14 (23,33%)	46 (76,67%)	
Wiek	54,25±8,71 lat	53,12±9,21 lat	54,59±8,82 lat	NS
Płeć męska	46 (76,67%)	10 (71,43%)	36 (78,26%)	NS
Wskaźnik masy ciała	27,03±3,42 kg/m ²	26,48±3,63 kg/m ²	27,20±3,33 kg/m ²	NS
Cukrzyca	8 (13,33%)	2 (14,29%)	6 (13,04%)	NS
Nadciśnienie tętnicze	37 (61,67%)	10 (71,43%)	27 (58,70%)	NS
Palenie tytoniu (do 6 msc.)	16 (26,67%)	4 (28,57%)	12 (26,09%)	NS
Zawał serca w wywiadzie	37 (61,67%)	7 (50,00%)	30 (65,22%)	NS
PCI w wywiadzie	14 (23,33%)	3 (21,43%)	11 (23,91%)	NS
CABG w wywiadzie	2 (3,33%)	0 (0,0%)	2 (4,35%)	NS
Hyperlipidemia	45 (75,00%)	11 (78,57%)	34 (73,91%)	NS
Wywiad rodzinny	27 (45,00%)	6 (42,86%)	21 (45,65%)	NS
LVEF < 30%	5 (8,33%)	1 (7,14%)	4 (8,70%)	NS
Choroba wielonaczyniowa	43 (71,67%)	10 (71,43%)	33 (71,74%)	NS
CCS I+II	27 (45,00%)	6 (42,86%)	21 (45,65%)	NS
CCS III	33 (55,00%)	8 (57,14%)	25 (54,35%)	NS

(CABG - pomostowanie aortalno-wieńcowe, CCS - nasilenie dolegliwości stenokardialnych według *Canadian Cardiovascular Society*, LVEF - frakcja wyrzutowa lewej komory, PCI - przezskórna interwencja wieńcowa, $\Delta\text{SZAP}_{24 \text{ godz.}}$ - zmiana stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w 24. godzinie leczenia)

W okresie od zakończenia hospitalizacji do 30. dnia obserwacji w badanej populacji pacjentów nie stwierdzono wystąpienia zgonu, zawału serca, potrzeby pilnej rewaskularyzacji wieńcowej, spoczynkowych dolegliwości bólowych w klatce piersiowej, czy też udaru niedokrwiennego mózgu / przejściowego niedokrwienia mózgu. U dwóch (3,33%) pacjentów wykonano planowy zabieg PCI w zakresie innego naczynia. W powyższym okresie nie stwierdzono ponadto wystąpienia dużych powikłań krwotocznych. U jednego pacjenta (1,67%) wystąpił epizod krwiotłucia nie wymagający interwencji chirurgicznej. Łączną częstość powikłań niedokrwiennych i krwotocznych w okresie obserwacji 30-dniowej przedstawia tabela 7.

Tabela 6. Współistniejące leczenie farmakologiczne w grupie pacjentów opornych i z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem określonej w 24. godzinie od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem

	Łącznie	Pacjenci oporni na leczenie $\Delta\text{SZAP}_{24 \text{ godz.}} \leq 10\%$	Pacjenci z prawidłową odpowiedzią $\Delta\text{SZAP}_{24 \text{ godz.}} > 10\%$	p
N=	60	14 (23,33%)	46 (76,67%)	
Beta-bloker	45 (75,00%)	11 (78,57%)	34 (73,91%)	NS
Bloker kanałów wapniowych	15 (25,00%)	2 (14,29%)	13 (28,26%)	NS
Inhibitor konwertazy angiotensyny	28 (46,67%)	4 (28,57%)	24 (52,17%)	0,106
Nitraty	39 (65,00%)	10 (71,43%)	29 (63,04%)	NS
Diuretyki	12 (20,00%)	2 (14,29%)	10 (21,74%)	NS
Statyny	60 (100,00%)	14 (100,00%)	46 (100,00%)	NS
w tym atorwastatyna	37 (61,67%)	8 (57,14%)	29 (63,04%)	NS

($\Delta\text{SZAP}_{24 \text{ godz.}}$ - zmiana stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w 24. godzinie leczenia)

4.3 Częstość zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem

W 24 godzinie od podania dawki wysycającej kłopidogrelu oporność na stosowane leczenie kłopidogrelem definiowaną jak wyżej stwierdzono u 14 (23,33%) pacjentów. Wyjściowy stopień zahamowania agregacji płytek krwi (odpowiednio

oporni vs z odpowiedzią prawidłową: $5,63 \pm 3,53\%$ vs $7,31 \pm 5,22\%$; $p=NS$) nie różnił się pomiędzy grupami. Natomiast stopień zahamowania agregacji płytek krwi określony w obu grupach różnił się istotnie w pozostałych punktach czasowych (rycina 6.). Stopień zahamowania agregacji płytek krwi określony w 24. godzinie od podania dawki wysycającej kłopidogrelu dla grupy odpornej na leczenie nie różnił się istotnie od wyjściowego (odpowiednio $SZAP_{wyjściowy}$ vs $SZAP_{24\text{ godz.}}$: $5,63 \pm 3,53\%$ vs $8,78 \pm 2,87\%$; $p=NS$). Natomiast w grupie pacjentów z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem zmiana stopnia zahamowania agregacji płytek krwi była istotna (odpowiednio $SZAP_{wyjściowy}$ vs $SZAP_{24\text{ godz.}}$: $7,31 \pm 5,22\%$ vs $44,79 \pm 15,96\%$; $p<0,00001$).

Tabela 7. Częstość wystąpienia powikłań niedokrwiennych i krwotocznych w okresie obserwacji 30-dniowej

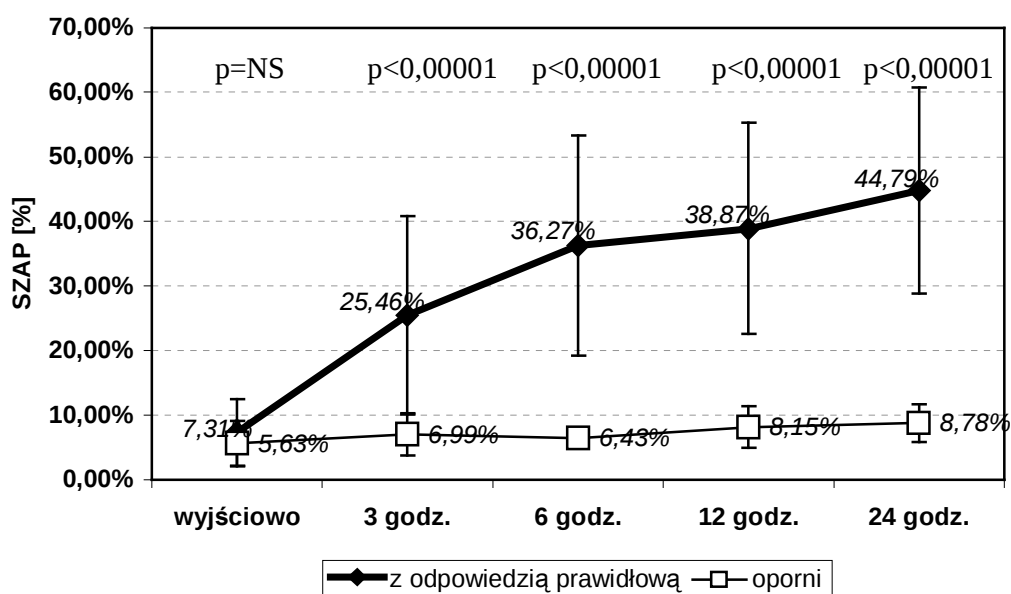
	Łącznie	Pacjenci oporni na leczenie $\Delta SZAP_{24\text{ godz.}}$ $\leq 10\%$	Pacjenci z odpowiedzią prawidłową $\Delta SZAP_{24\text{ godz.}}$ $> 10\%$	p<
N=	60	14 (23,33%)	46 (76,67%)	
Zgon	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	NS
Zawał serca	1 (1,67%)	0 (0,0%)	1 (2,17%)	NS
Pilna rewaskularyzacja mięśnia sercowego	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	NS
Stenokardia spoczynkowa	1 (1,67%)	0 (0,0%)	1 (2,17%)	NS
Udar niedokrwienny / przejściowe niedokrwienie mózgu	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	NS
Duże powikłania krwotoczne	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	NS
Małe powikłania krwotoczne	8 (13,33%)	2 (14,29%)	6 (13,04%)	NS

($\Delta SZAP_{24\text{ godz.}}$ - zmiana stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w 24. godzinie leczenia)

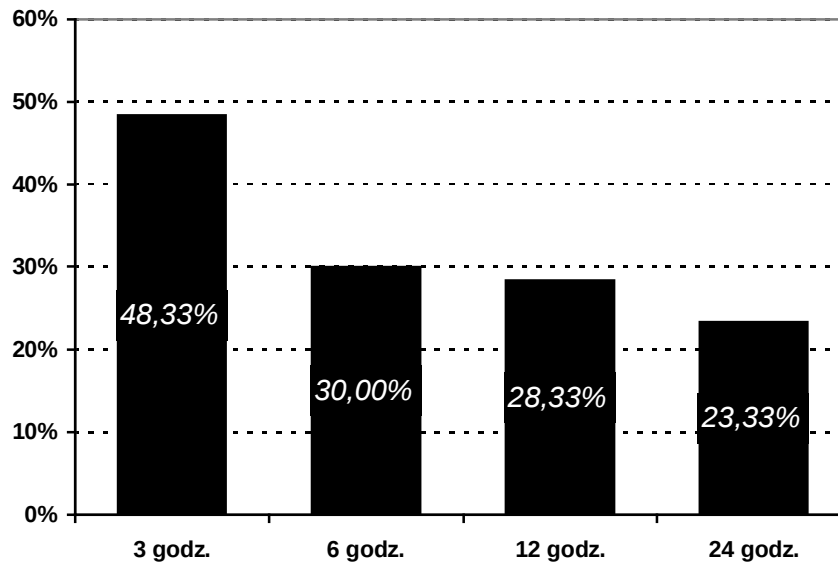
4.4 Wczesna identyfikacja zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem

Odsetek pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem (dawka wysycająca 300 mg) ulegał redukcji w czasie. Wyniósł on odpowiednio 48,33% (29 przypadków) w 3. godzinie, 30,0% (18 przypadków) w 6. godzinie, 28,33% (17 przypadków) w 12. godzinie i 23,33% (14 przypadków) w 24. godzinie po zastosowaniu wysycającej dawki kłopidogrelu – rycina 7. Łącznie 14 (48,28%) pacjentów spośród 29 pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem w 3. godzinie pozostało opornymi w 24. godzinie od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem. Natomiast 14 (77,78%) pacjentów spośród 18 pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem w 6. godzinie było opornymi w 24. godzinie, przy czym czterech (pozostałych) pacjentów nadal wykazywało stosunkowo słabą odpowiedź na leczenie kłopidogrelem w 24. godzinie ($\Delta\text{SZAP}_{24 \text{ godz.}} < 20,0\%$).

Odpowiedź na leczenie kłopidogrelem określona w 3. godzinie ($\Delta\text{SZAP}_3 \text{ godz.}$) stosunkowo dobrze korelowała z odpowiedzią określoną w 24. godzinie ($\Delta\text{SZAP}_{24 \text{ godz.}}$) ($r=0,58$; $r^2=0,33$; $p<0,000001$), przy czym korelacja ta była wyższa pomiędzy odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem określoną w 6. godzinie a $\Delta\text{SZAP}_{24 \text{ godz.}}$ ($r=0,75$; $r^2=0,57$; $p<0,000001$).



Rycina 6. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) w poszczególnych punktach czasowych (wyjściowo oraz w 3, 6, 12, 24. godzinie) w grupie pacjentów opornych i z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem

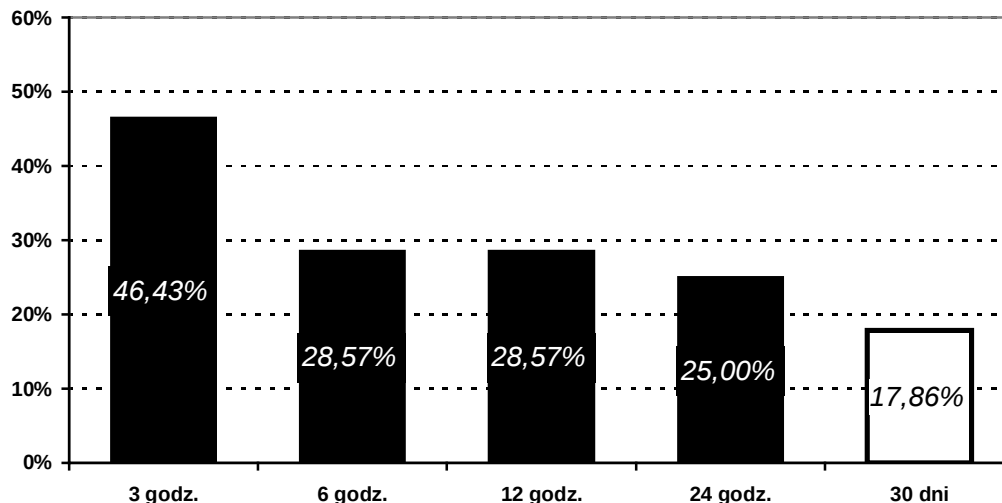


Rycina 7. Odsetek pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem (patrz tekst) w 3, 6, 12, 24. godzinie od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem (n=60)

4.5 Oporność na leczenie kłopidogrelem w terapii przewlekłej

Odsetek chorych opornych na leczenie kłopidogrelem w okresie 24 godzin od podania dawki wysycającej w podgrupie 28 pacjentów (z wynikiem oznaczenia stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w okresie obserwacji 30-dniowej) był zbliżony do obserwowanego w całej populacji pacjentów. Stwierdzano go odpowiednio w 46,43% (13 przypadków) w 3. godzinie, 28,57% (8 przypadków) w 6. i 12. godzinie, oraz 25,00% (7 przypadków) w 24. godzinie po zastosowaniu wysycającej dawki kłopidogrelu (300 mg) – patrz rycina 8. W 30. dniu obserwacji odsetek pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem zmniejszył się do 17,86% (5 przypadków). Dodatkowo dwóch (7,14%) pacjentów nadal wykazywało stosunkowo słabą odpowiedź na leczenie kłopidogrelem w 30. dniu obserwacji ($\Delta\text{SZAP}_{30 \text{ dni}} < 20,0\%$).

Odpowiedź na leczenie kłopidogrelem określona w 3. godzinie ($\Delta\text{SZAP}_3 \text{ godz.}$) stosunkowo dobrze korelowała z odpowiedzią określoną w 30. dniu ($\Delta\text{SZAP}_{30 \text{ dni}}$) ($r=0,74$; $r^2=0,55$; $p=0,000006$), przy czym korelacja ta była wyższa pomiędzy odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem określoną w 6. godzinie a $\Delta\text{SZAP}_{30 \text{ dni}}$ ($r=0,77$; $r^2=0,59$; $p=0,000002$) i 24. godzinie a $\Delta\text{SZAP}_{30 \text{ dni}}$ ($r=0,88$; $r^2=0,77$; $p<0,000001$).



Rycina 8. Odsetek pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem (patrz tekst) w 3, 6, 12, 24. godzinie i 30. dniu od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem (na podstawie danych dla 28 osób z wynikiem dla 30 dni)

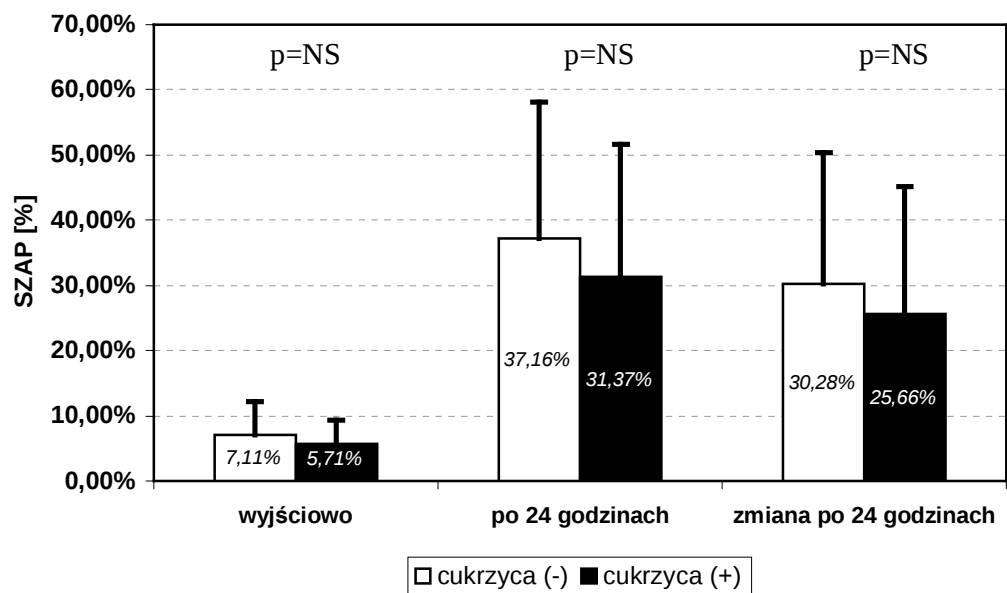
4.6 Charakterystyka kliniczna, a zjawisko oporności na leczenie kłopidogrelem

Grupy pacjentów opornych i z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem w 24. godzinie od rozpoczęcia terapii nie różniły się wiekiem, częstością występowania czynników ryzyka choroby niedokrwiennej serca, czy też nasileniem dolegliwości stenokardialnych (tabela 5.). Średni stopień zahamowania agregacji płytek krwi oraz średnia zmiana stopnia zahamowania agregacji płytek krwi określone w 24 godzinie od momentu podania standardowej dawki wysycającej kłopidogrelu nie różniły się pomiędzy grupą pacjentów z cukrzycą i bez cukrzycy, grupą pacjentów z chorobą wielonaczyniową i jednonaczyniową, oraz grupą pacjentów palących tytoń w okresie ostatnich 6 miesięcy i nie palących tytoniu (odpowiednio cukrzyca vs brak cukrzycy, $SZAP_{24 \text{ godz.}}: 31,37 \pm 20,31\% \text{ vs } 37,16 \pm 20,94\%$; $p=NS$; $\Delta SZAP_{24 \text{ godz.}}: 25,66 \pm 19,56\% \text{ vs } 30,28 \pm 20,04\%$; $p=NS$; odpowiednio choroba wielonaczyniowa vs choroba jednonaczyniowa, $SZAP_{24 \text{ godz.}}: 34,34 \pm 20,17\% \text{ vs } 37,20 \pm 21,20\%$; $p=NS$; $\Delta SZAP_{24 \text{ godz.}}: 28,27 \pm 20,17\% \text{ vs } 30,21 \pm 19,97\%$; $p=NS$; odpowiednio palenie tytoniu vs brak palenia tytoniu, $SZAP_{24 \text{ godz.}}: 34,29 \pm 22,37\% \text{ vs } 37,16 \pm 20,40\%$; $p=NS$; $\Delta SZAP_{24 \text{ godz.}}: 26,74 \pm 19,78\% \text{ vs } 30,73 \pm 20,03\%$; $p=NS$) – ryciny 9, 10, 11. Podobnie

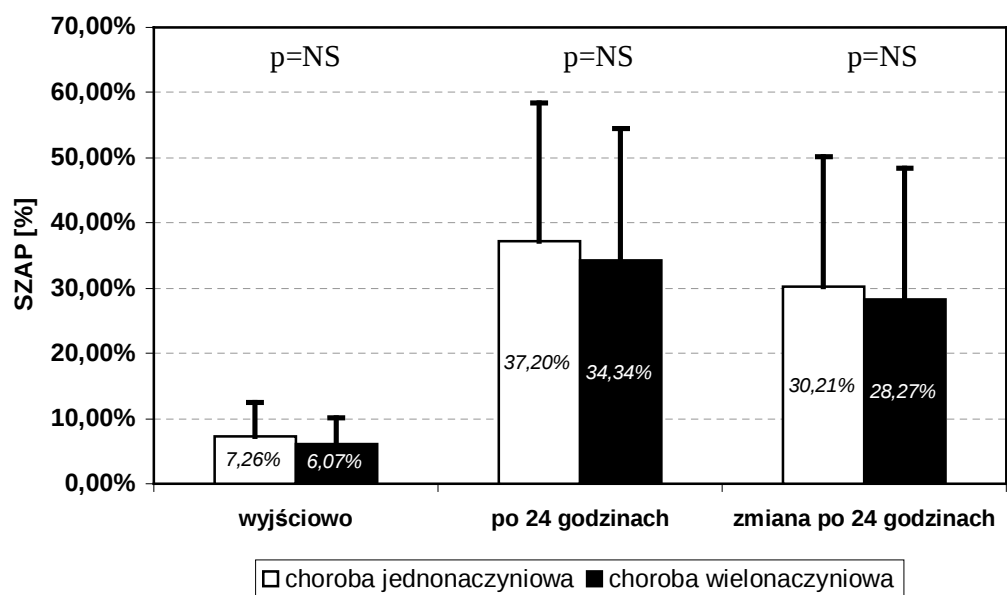
nie wykazano różnic pomiędzy grupą pacjentów z nasileniem dolegliwości stenokardialnych w klasie I i II wg *Canadian Cardiovascular Society* (CCS) i z grupą pacjentów z dolegliwościami w klasie CCS III (odpowiednio CCS I+II vs CCS III, SZAP_{24 godz.}: $36,21 \pm 20,26\%$ vs $36,62 \pm 21,80\%$; p=NS; Δ SZAP_{24 godz.}: $28,95 \pm 19,04\%$ vs $30,53 \pm 21,19\%$; p=NS) – rycina 12.

4.7 Leczenie współlistniejące, a zjawisko oporności na leczenie kłopidogrelem

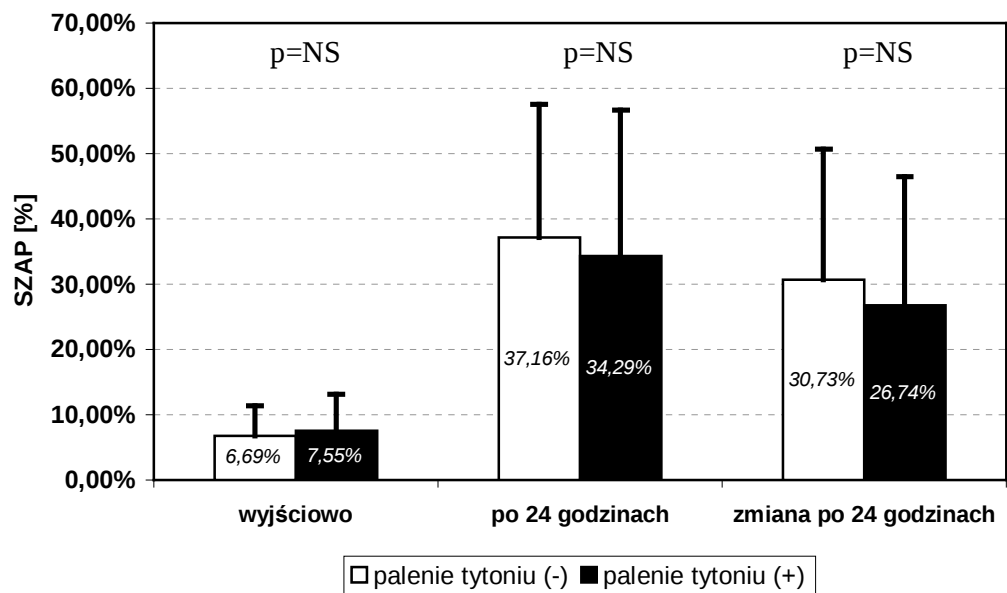
Grupy pacjentów opornych i z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem w 24. godzinie nie różniły się istotnie rodzajem współlistniejącego leczenia farmakologicznego (tabela 6.). W szczególności częstość stosowania atorwastatyny była zbliżona w obu grupach pacjentów. Zaobserwowano jedynie trend (p=0,106) do częstszego stosowania inhibitorów konwertazy angiotensyny w grupie z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem. Średni stopień zahamowania agregacji płytek krwi oraz średnia zmiana stopnia zahamowania agregacji płytek krwi określone w 24. godzinie od momentu rozpoczęcia leczenia kłopidogrelem nie różniły się pomiędzy grupą leczoną atorwastatyną i grupą leczoną innym rodzajem statyn (odpowiednio atorwastatyna vs inna statyna, SZAP_{24 godz.}: $35,33 \pm 19,50\%$ vs $37,05 \pm 21,78\%$; p=NS; Δ SZAP_{24 godz.}: $29,34 \pm 20,15\%$ vs $29,87 \pm 19,98\%$; p=NS) – rycina 13. Podobnie parametry te nie wykazywały różnic pomiędzy grupami pacjentów leczonych i nie leczonych beta-blokerem, czy też leczonych i nie leczonych blokerem kanałów wapniowych (odpowiednio beta-bloker vs brak beta-blokera, SZAP_{24 godz.}: $36,19 \pm 20,81\%$ vs $37,00 \pm 21,43\%$; p=NS; Δ SZAP_{24 godz.}: $29,82 \pm 20,37\%$ vs $29,21 \pm 18,99\%$; p=NS; odpowiednio bloker kanałów wapniowych vs brak blokera kanałów wapniowych, SZAP_{24 godz.}: $41,78 \pm 20,16\%$ vs $34,60 \pm 20,90\%$; p=NS; Δ SZAP_{24 godz.}: $33,91 \pm 18,63\%$ vs $28,25 \pm 20,28\%$; p=NS) – ryciny 14, 15. W przeciwieństwie do tego grupy pacjentów leczonych inhibitorem konwertazy angiotensyny wykazywała silniejszą odpowiedź na stosowane leczenie kłopidogrelem w 24. godzinie od rozpoczęcia terapii w porównaniu do grupy pacjentów nie leczonych inhibitorem konwertazy angiotensyny (odpowiednio inhibitor konwertazy angiotensyny vs brak inhibitora konwertazy angiotensyny, SZAP_{24 godz.}: $42,83 \pm 21,79\%$ vs $30,76 \pm 18,40\%$; p=0,023; Δ SZAP_{24 godz.}: $36,02 \pm 19,27\%$ vs $24,10 \pm 18,98\%$; p=0,011) – rycina 16.



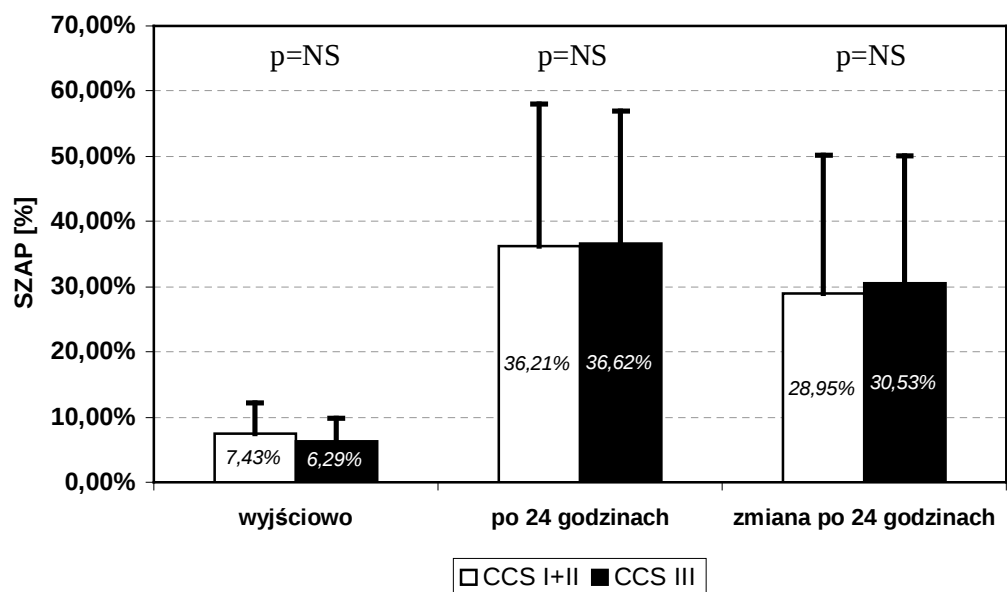
Rycina 9. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów bez cukrzycy i z cukrzycą



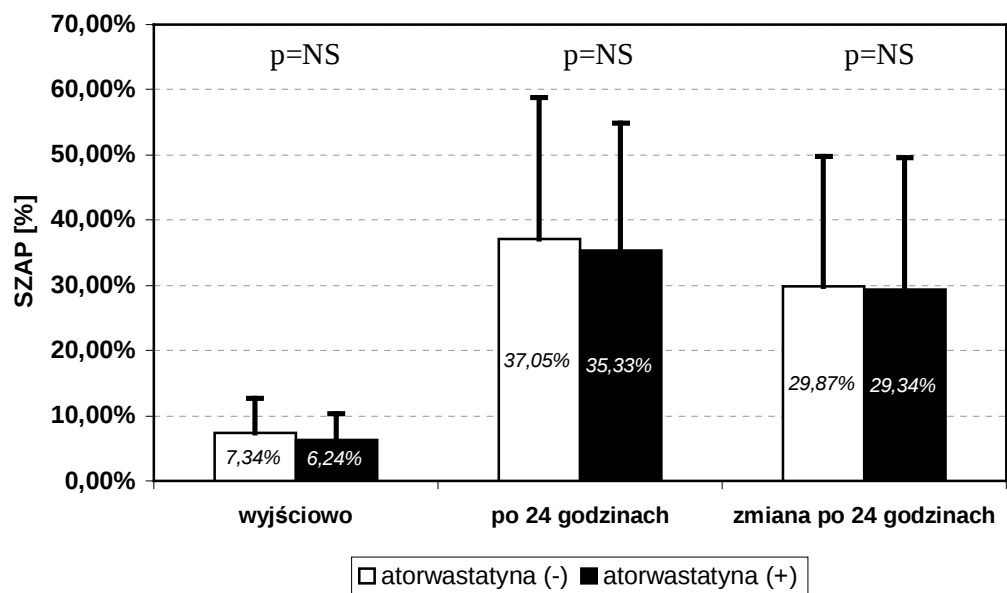
Rycina 10. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów z chorobą jednonaczyniową i wielonaczyniową



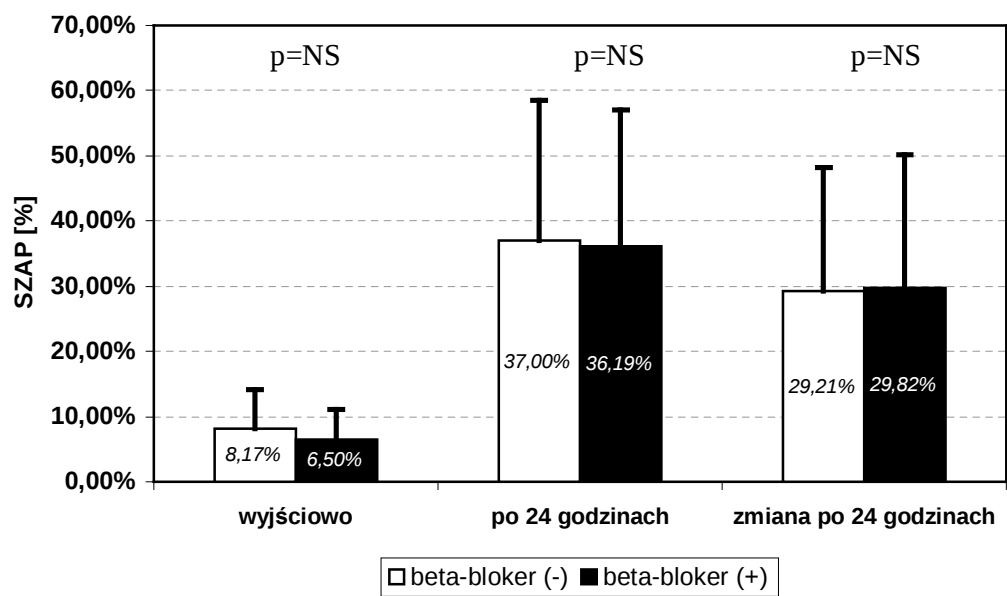
Rycina 11. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów nie palących i palących tytoń



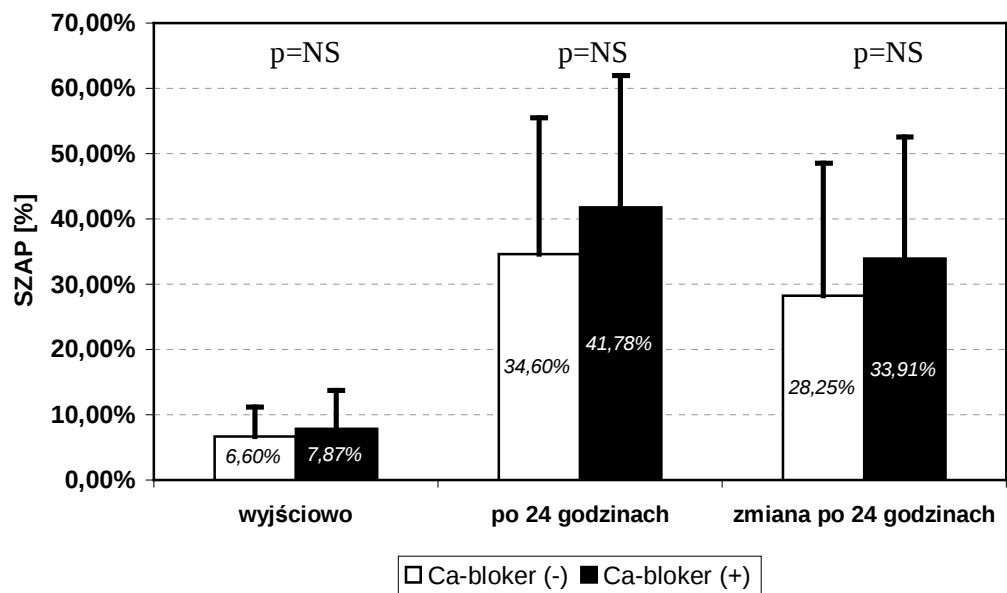
Rycina 12. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów z nasileniem dolegliwości stenokardialnych w klasie I i II wg *Canadian Cardiovascular Society* (CCS) i z grupą pacjentów z dolegliwościami w klasie CCS III



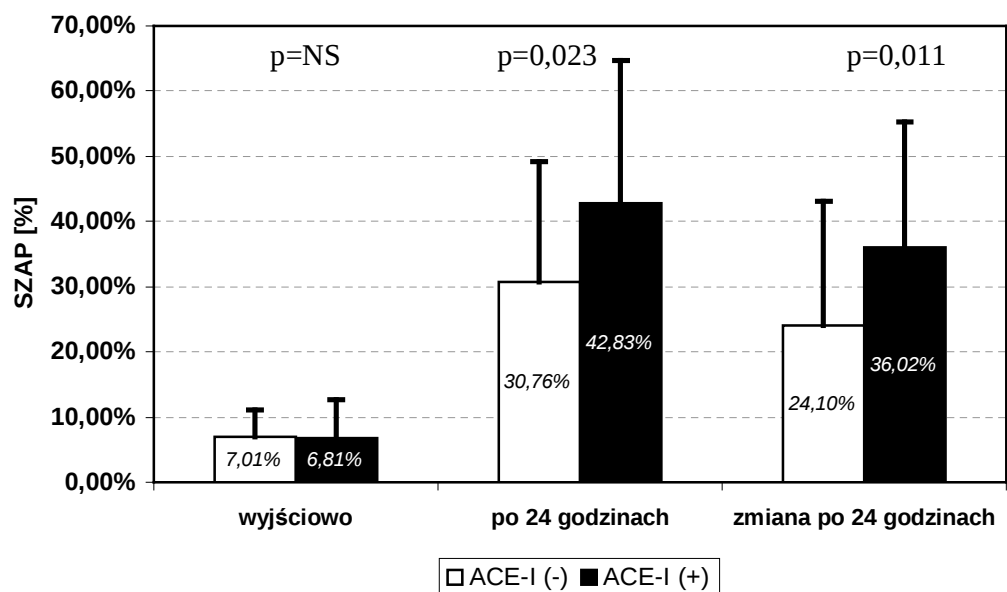
Rycina 13. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów leczonych atorwastatyną i leczonych innym rodzajem statyny



Rycina 14. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów nie leczonych i leczonych beta-blokerem



Rycina 15. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów leczonych i nie leczonych blokerem kanałów wapniowych (Ca-bloker)



Rycina 16. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów nie leczonych i leczonych inhibitorem konwertazy angiotensyny (ACE-I)

4.8 Zjawisko oporności na leczenie kłopidogrelem, a wyniki kliniczne leczenia

W grupie pacjentów opornych na stosowane leczenie kłopidogrelem nie stwierdzono wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych w okresie obserwacji wewnątrzszpitalnej i 30-dniowej. Obserwowana częstość incydentów sercowo-naczyniowych w grupie pacjentów z odpowiedzią prawidłową była niska (zgon, zawał serca, pilna rewaskularyzacja mięśnia sercowego, stenokardia spoczynkowa, udar niedokrwieny / przejściowe niedokrwienie mózgu łącznie wystąpiły w dwóch (4,35%) przypadkach, różnica pomiędzy grupami nieistotna). Podobnie częstość wystąpienia małych powikłań krwotocznych była zbliżona w obu badanych grupach. Zaobserwowano je odpowiednio u dwóch (14,29%) pacjentów opornych na stosowane leczenie kłopidogrelem i sześciu (13,04%) pacjentów z odpowiedzią prawidłową ($p=NS$) – patrz tabela 7.

5. Dyskusja

5.1 Wpływ kłopidogrelu na stopień zahamowania agregacji płytek krwi

Powyżej przedstawione wyniki potwierdzają możliwość zastosowania metod szybkiej oceny funkcji płytek krwi (Plateletworks) w monitorowaniu efektów terapii kłopidogrelem u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca. Stwierdzany średni stopień zahamowania agregacji płytek krwi określony w 24. godzinie od zastosowania dawki wysycającej 300 mg kłopidogrelu wyniósł $36,39 \pm 20,79\%$. Wartość ta jest zbliżona do raportowanej w innych badaniach klinicznych z zastosowaniem agregometrii optycznej, czy też innych metod oceny funkcji płytek krwi.^{90, 97, 132, 135} Ponadto, uzyskane tą metodą wyniki wykazują dobrą korelację z wynikami agregometrii optycznej.^{105-108, 163} Wyniki uzyskanych pomiarów należy odnosić jednak do stwierdzanych w przypadku oceny agregacji płytek krwi w odpowiedzi na wysokie (20 μM) stężenie ADP. Obserwowana częstość zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem może być niższa w przypadku zastosowania niższych stężeń agonisty (ADP).¹³³ Ponadto, użycie ADP w bardzo niskim stężeniu (1 μM) pozwala jedynie na ocenę wstępnej, odwracalnej fazy agregacji płytek krwi, która jest w ograniczonym stopniu hamowana w wyniku terapii kłopidogrelem.^{106, 134, 171} Zastosowana metoda wydaje się być ponadto mniej specyficzna w stosunku do kłopidogrelu niż omówione powyżej ocena poziomu fosforylacji VASP i VerifNow P2Y₁₂ Assay. Uzyskane za pomocą Plateletworks wyniki mogą wskazywać na niższy poziom zahamowania agregacji płytek krwi w odpowiedzi na leczenie kłopidogrelem niż w przypadku dwóch powyższych metod. Wynika to z możliwości zależnej od stymulacji ADP agregacji płytek krwi za pośrednictwem receptora P2Y₁ nie hamowanego przez kłopidogrel.¹⁰⁰

5.2 Częstości zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem

Niniejsze opracowanie przemawia za obecnością indywidualnej zmienności odpowiedzi na rutynowo stosowaną dawkę wysycającą kłopidogrelu (300 mg). W powyższym badaniu odsetek pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem w 24.

godzinie od rozpoczęcia terapii wyniósł 23,33%. Potwierdza to obserwację płynącą z innych badań, w których oporność na leczenie kłopidogrelem w zależności od zastosowanych metod diagnostycznych i definicji, oraz wielkości stosowanej dawki wysycającej stwierdzono u 5-44% pacjentów.^{97, 106, 131-133, 136} Do chwili obecnej brak jest standardowej definicji zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem, czy też potwierdzonego w dużych badaniach klinicznych poziomu stopnia zahamowania agregacji płytek krwi pozwalającego na jednoznaczne zróżnicowanie pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem i z odpowiedzią prawidłową.¹⁴⁰ W powyższym opracowaniu użyto najczęściej stosowanej definicji zaproponowanej przez Gurbel'a i wsp.^{90, 97} Z drugiej strony, Serebruany i wsp. wykazali w grupie 544 pacjentów, że odpowiedź na leczenie kłopidogrelem określona przez ocenę agregacji płytek krwi po stymulacji ADP spełnia warunki rozkładu normalnego.¹³⁵ Badacze podzielili pacjentów na pacjentów z odpowiedzią obniżoną (stopień zahamowania agregacji płytek krwi poniżej dwóch odchyłeń standardowych od średniej, 4,2% pacjentów) i z nadmierną odpowiedzią (stopień zahamowania agregacji płytek krwi powyżej dwóch odchyłeń standardowych od średniej, 4,8% pacjentów). Pozostali pacjenci zdefiniowani zostali jako pacjenci z odpowiedzią prawidłową.¹³⁵ Powyższa definicja wydaje się bardziej odnosić do warunków rzeczywistych i patofizjologii procesu krzepnięcia, niż oparta na określonym arbitralnie punkcie odcięcia ze względu na to, iż optymalny poziom zahamowania agregacji płytek krwi, który mógłby pozwolić na zapobiegnięcie wystąpieniu incydentów sercowo-naczyniowych może być różny w przypadku poszczególnych subpopulacji pacjentów, czy też sytuacjach klinicznych.

5.3 Wczesna identyfikacja zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem

Istnieją sugestie, że oporność na leczenie kłopidogrelem w znacznym odsetku przypadków ma charakter stały i utrzymuje się w okresie obserwacji. Oznaczenie stopnia zahamowania agregacji płytek krwi już w 6. godzinie od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem pozwoliło w przypadku 77,78% chorych na identyfikację oporności na leczenie w 24. godzinie, a odpowiedź na leczenie (stopień zahamowania agregacji płytek krwi) określona w 6. godzinie dobrze korelowała z odpowiedzią na leczenie po 24. godzinach. Podobnie w podgrupie pacjentów, u których określono stopień

zahamowania agregacji płytek krwi w 30. dniu od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem stwierdzenie oporności na leczenie kłopidogrelem w 6. godzinie potwierdzono w przypadku 87,5% chorych w 24. godzinie i w 62,5% przypadków w 30. dniu obserwacji. Wykazano ponadto korelację pomiędzy odpowiedzią na leczenie określoną w 6. godzinie z odpowiedzią na leczenie w 30. dniu terapii. Powyższe dane pozostają w zgodności z wcześniejszym doniesieniem Gurbela i wsp. stwierdzającym, że odsetek pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem ulega redukcji w okresie trwania terapii kłopidogrelem.¹⁷² W niniejszym opracowaniu 37% pacjentów wykazywało oporność na leczenie kłopidogrelem w 24. godzinie od podania dawki wysycającej 300 mg kłopidogrelu, spośród nich 66% pozostawało opornymi na leczenie kłopidogrelem w 5. dniu terapii. Obserwowana u części pacjentów z początkową opornością na leczenie kłopidogrelem poprawa odpowiedzi na stosowane leczenie w dłuższym okresie czasu może być związana z indukcją ekspresji CYP3A4, a co za tym idzie przyspieszeniem aktywacji kłopidogrelu.^{163, 173} Gurbel i wsp. wykazali ponadto, że stopień zahamowania agregacji płytek krwi określony w 24. godzinie silnie koreluje ze stopniem zahamowania agregacji płytek krwi w 5. i 30. dniu trwania terapii kłopidogrelem.¹⁷² Tym samym wczesna (w 6. godzinie od rozpoczęcia terapii) identyfikacja grupy pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem przy użyciu metod szybkiej oceny funkcji płytek z krwi pełnej wydaje się być możliwą. Wskazanie grupy chorych opornych na leczenie kłopidogrelem może w przyszłości pozwolić na optymalizację terapii przeciwplatekowej, na przykład poprzez modyfikacje dawki lub też rodzaju stosowanego leczenia przeciwplatekowego co omówiono szerzej poniżej.

5.4 Charakterystyka kliniczna, a zjawisko oporności na leczenie kłopidogrelem

W przedstawionym badaniu nie wykazano istotnych różnic dotyczących charakterystyki klinicznej grupy pacjentów opornych i z prawidłową odpowiedzią na stosowane leczenie kłopidogrelem w okresie 24 godzin od rozpoczęcia terapii. Dane wskazujące na istnienie zależności pomiędzy charakterystyką kliniczną a częstością wystąpienia zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem są jednak do chwili obecnej ograniczone.^{91, 97, 106, 111, 133, 135, 136} Matetzky i wsp. stwierdzili jedynie trend do niższego odsetka pacjentów będących palaczami tytoniu w grupie z najsłabszą odpowiedzią na

stosowane leczenie kłopidogrelem.⁹¹ W badaniu Bliden i wsp. wśród pacjentów z obniżoną odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem częściej stwierdzano obecność cukrzycy (oporni vs z odpowiedzią prawidłową: 64% vs 38%; $p=0,01$).¹¹¹ Ograniczeniem powyższych badań wydaje się głównie niska liczebność badanych populacji pacjentów.^{91, 97, 106, 111, 133, 135, 136}

Jednym z głównych determinantów odpowiedzi na stosowane leczenie kłopidogrelem wydaje się być reaktywność płytek krwi przed rozpoczęciem terapii. Gurbel i wsp. wykazali, że pacjenci z największą aktywnością płytek krwi przed rozpoczęciem terapii kłopidogrelem charakteryzowali się gorszą odpowiedzią na stosowane leczenie, w szczególności w okresie pierwszych 24 godzin.⁹⁷ Zwiększona aktywność płytek krwi może być zależna od wielu czynników. Stwierdza się ją w przebiegu ostrych zespołów wieńcowych, cukrzycy, nadciśnienia tętniczego, u palaczy tytoniu.¹⁷⁴ Przeciwnie, reaktywność płytek krwi może być obniżona w przypadku osób pijących alkohol w umiarkowanych ilościach.¹⁷⁵ Reaktywność płytek krwi koreluje również ze stopniem nasilenia dolegliwości stenokardialnych u pacjentów z chorobą niedokrwinną serca. W badaniu Soffer'a i wsp. zastosowanie dawki wysycającej 450 mg kłopidogrelu co najmniej 3 godziny przed PCI wiązało się z osiągnięciem niższego stopnia zahamowania agregacji płytek krwi u pacjentów z nasilonymi objawami stenokardialnymi (niestabilna dławica piersiowa klasa 2 lub 3 według Braunwalda) w porównaniu do pacjentów z niskim poziomem nasilenia dolegliwości (niestabilna dławica piersiowa klasa 1 według Braunwalda lub stabilna dławica piersiowa).¹⁷⁶ Przedstawione powyżej wyniki nie wskazują na obecność zależności pomiędzy osiągniętym stopniem zahamowania agregacji płytek w odpowiedzi na kłopidogrel a nasileniem dolegliwości stenokardialnych określonych według skali CCS. Innym czynnikiem, który potencjalnie może warunkować osobniczą zmienność działania kłopidogrelu jest wskaźnik masy ciała. Pacjenci otyli (wskaźnik masy ciała $\geq 25 \text{ kg/m}^2$) wykazują zmniejszony efekt przeciwpłytkowy w przypadku zastosowania standardowej dawki kłopidogrelu, co może być częściowo związane ze zjawiskiem insulinooporności w tej grupie chorych.^{126, 177} Lepantalo i wsp. potwierdzili wystąpienie upośledzonej odpowiedzi na leczenie kłopidogrelem w przypadku pacjentów ze stwierdzoną insulinoopornością. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi w odpowiedzi na leczenie kłopidogrelem był niższy w przypadku pacjentów z wysokim poziomem hemoglobiny glikolizowanej (HbA1C) lub peptydu C. U pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem stwierdzano istotnie wyższy osoczowy poziom peptydu C.

Osoczowy poziom peptydu C wykazywał ponadto korelację ze wskaźnikiem masy ciała.¹²⁶ Płytki krwi chorych na cukrzycę charakteryzują się zwiększoną aktywnością i reaktywnością. W efekcie może to prowadzić do zwiększonego ryzyka wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych oraz częstszego stwierdzania zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem wśród pacjentów z cukrzycą.¹⁷⁸

5.5 Oddziaływanie pomiędzy lekami jako przyczyna zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem

Jednym z częściej postulowanych mechanizmów oporności na stosowane leczenie kłopidogrelem może być jego oddziaływanie z innym lekami, w szczególności metabolizowanymi przy udziale układu enzymatycznego CYP450. W analizowanej populacji pacjentów z chorobą niedokrwienną serca grupy pacjentów opornych i z prawidłową odpowiedzią na leczenie standardową dawką wysycającą 300 mg kłopidogrelu w 24. godzinie od jej podania nie różniły się istotnie rodzajem współistniejącego leczenia farmakologicznego, w szczególności częstością stosowania atorwastatyny. Tym samym obserwowana zmienność odpowiedzi na kłopidogrel nie wydaje się być związana bezpośrednio z rodzajem stosowanego leczenia hypolipemizującego. Powyższe obserwacje pozostają w zgodzie z wynikami ostatnich badań oceniających wpływ statyn na efekt przeciwpłytkowy kłopidogrelu, co omówiono wcześniej.^{147, 151-159} Interakcja działania kłopidogrelu i statyn metabolizowanych za pośrednictwem CYP3A4 jest możliwa, a wyniki zakończonych badań nie mogą wykluczyć istotności klinicznej oddziaływania pomiędzy tymi lekami, gdyż może być ona maskowana przez przeciwpłytkowe i przeciwzapalne działanie statyn niezależne od ich bezpośredniego efektu hypolipemizującego. Z klinicznego punktu widzenia leki te powinny być stosowane łącznie u pacjentów z chorobą niedokrwienną serca i wysokim ryzykiem powikłań niedokrwiennych.^{179, 180}

W badanej populacji pacjentów zaobserwowano trend ($p=0,106$) do częstszego stosowania inhibitorów konwertazy angiotensyny w grupie z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem, niż w przypadku pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem. Ponadto grupa pacjentów leczonych inhibitorem konwertazy angiotensyny wykazywała silniejszą odpowiedź na stosowane leczenie kłopidogrelem w 24. godzinie od rozpoczęcia terapii w porównaniu do grupy pacjentów nie leczonych

inhibitorem konwertazy angiotensyny. Obecność istotnej interakcji pomiędzy kłopidogrelem a inhibitorami konwertazy angiotensyny nie została jak do tej pory potwierdzona, a uzyskane wyniki stoją niejako w przeciwieństwie do uzyskanych we wcześniejszych badaniach.^{97, 136} W opracowaniu Gurbel'a i wsp. inhibitory konwertazy angiotensyny były stosowane nieistotnie częściej w grupie pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem (odpowiednio oporni vs z odpowiedzią prawidłową: 81% vs 57%; $p=0,08$).⁹⁷ Podobną zależność obserwował Angiolillo i wsp. (oporni vs z odpowiedzią prawidłową: 43% vs 19%; $p=0,11$).¹³⁶ W przeciwieństwie do tego, oddziaływanie inhibitorów konwertazy angiotensyny i aspiryny jest rozważane jako jeden z mechanizmów oporności na leczenie aspiryną. Aspiryna hamuje powstawanie prostaglandyn, natomiast inhibitory konwertazy angiotensyny zwiększają produkcję prostaglandyn poprzez hamowanie rozpadu bradykininy. Tym samym łączne zastosowanie powyższych leków może wiązać się ze zmniejszeniem zależnej od prostaglandyn redukcji ciśnienia tętniczego związanego z podaniem inhibitorów konwertazy angiotensyny i potencjalnym pogorszeniem czynności nerek w wyniku spadku syntezy prostaglandyn nerkowych prowadzącym do zwiększonej retencji sodu i wody. Dotychczasowe retrospektywne analizy wyników badań sugerowały, że łączne zastosowanie powyższych leków może wiązać się z ograniczeniem wpływu inhibitorów konwertazy angiotensyny na obserwowaną redukcję śmiertelności u pacjentów z niewydolnością krążenia, czy też chorobą niedokrwienną serca. Wyniki nowych badań nie potwierdzają istotności klinicznej oddziaływania pomiędzy tymi lekami. Z drugiej strony, ewentualny niekorzystny wpływ aspiryny może zostać zmniejszony poprzez redukcję stosowanej dawki.¹⁸¹

5.6 Znaczenie kliniczne zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem

Pomimo zastosowania skojarzonego leczenia aspiryną i kłopidogrelem u pewnego odsetka pacjentów dochodzi do wystąpienia incydentów niedokrwiennych, co może być następstwem niedostatecznego zahamowania aktywności receptora P2Y₁₂. Z drugiej strony do chwili obecnej nadal istnieją ograniczone dane dotyczące związku pomiędzy odpowiedzią na stosowane leczenie kłopidogrelem a wystąpieniem incydentów sercowo-naczyniowych w okresie obserwacji krótkoterminowej lub odległej. Dodatkowo, w przypadku niektórych pacjentów zdefiniowanych jako

opornych na leczenie kłopidogrelem wyjściowa aktywność płytek krwi i ich odpowiedź na stymulację ADP może być niska. Z drugiej strony u części pacjentów z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem może utrzymywać się wysoka reaktywność płytek krwi w odpowiedzi na ADP pomimo leczenia. Tym samym ocena ryzyka wystąpienia incydentów niedokrwienych na podstawie pomiaru stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w odpowiedzi na stosowane leczenie może w wielu przypadkach wiązać się z niedoszacowaniem lub przeszacowaniem ryzyka powikłań niedokrwienych.^{182, 183}

W analizowanej populacji pacjentów obserwowana częstość incydentów sercowo-naczyniowych w okresie obserwacji 30-dniowej była niska i nie pozwoliła na wykazanie zależności pomiędzy obecnością zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem a wystąpieniem dużych incydentów wieńcowych zdefiniowanych jak wyżej, w szczególności zgonu, zawał serca, czy też potrzeby pilnej rewaskularyzacji wieńcowej. Tym samym celem potwierdzenia istnienia ewentualnej zależności pomiędzy odpowiedzią na stosowane leczenie kłopidogrelem a ryzykiem wystąpienia powikłań niedokrwienych koniecznym wydaje się przeprowadzenie badań prospektywnych obejmujących znacząco większą populację pacjentów lub też ograniczoną do podgrup chorych o potencjalnie wyższym ryzyku wystąpienia ponownych incydentów sercowo-naczyniowych (chorzy z cukrzycą, chorzy z ostrym zespołem wieńcowym) oraz wydłużenie okresu prowadzonej obserwacji.

Matetzky i wsp. ocenili odpowiedź na leczenie kłopidogrelem u 60 pacjentów podawanych zabiegom pierwotnej PCI z implantacją stentu w STEMI.⁹¹ Pacjenci zostali podzieleni na kwartyle na podstawie zmiany stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w odpowiedzi na ADP po zastosowaniu leczenia kłopidogrelem. Pacjenci z najsłabszą odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem charakteryzowali się 40% ryzykiem wystąpienia dużych zdarzeń sercowo-naczyniowych (zgon, zawał serca, niestabilna dławica piersiowa) w okresie obserwacji 6-miesięcznej (odpowiednio II kwartył – 6,7%, III i IV kwartył – 0,0%; $p=0,007$). Ograniczeniem badania pozostaje niska liczebność badanej populacji i różnice w wyjściowej charakterystyce klinicznej pomiędzy grupami dotyczące wieku i częstości wystąpienia wstrząsu kardiogenego w chwili przyjęcia.⁹¹ W badaniu PREPARE POST-STENTING (ang. *Platelet REactivity in PATients and REcurrent events POST-STENTING*) pacjenci leczeni kłopidogrelem, u których wystąpił incydent sercowo-naczyniowy w okresie 6 miesięcy od zabiegu PCI charakteryzowali się wyższą reaktywnością płytek krwi w odpowiedzi na ADP po

implantacji stentu w porównaniu do pacjentów bez powikłań niedokrwiennych w okresie prowadzonej obserwacji.⁴⁷ Podobnie jak w badaniu Matetzky i wsp. ryzyko wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych było najwyższe (32% w okresie 6 miesięcy) w przypadku pacjentów z najsłabszą odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem. W doniesieniu Bliden'a i wsp. (grupa 100 kolejnych chorych poddawanych planowemu PCI leczonych przewlekłe kłopidogrelem) pacjenci, u których wystąpił incydent sercowo-naczyniowy (zgon, zawał serca, zakrzepica w stencie, udar niedokrwienny mózgu, hospitalizacja z przyczyn sercowych) w okresie 12 miesięcy charakteryzowali się wyższymi wartościami agregacji płytek krwi przed PCI określonych metodą agregometrii optycznej i TEG w porównaniu do pacjentów bez incydentów niedokrwiennych ($p < 0,001$).¹¹¹ Poziom agregacji płytek krwi w odpowiedzi na ADP $\geq 50\%$ określony metodą agregometrii optycznej i $\geq 70\%$ dla metody TEG były niezależnymi czynnikami wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych w okresie prowadzonej obserwacji.¹¹¹ Cuisset i wsp. wykazali w grupie 106 chorych z NSTEMI-ACS poddawanych zabiegowi PCI istotną zależność pomiędzy wysokim poziomem agregacji płytek w odpowiedzi na stymulację ADP a wystąpieniem incydentów sercowo-naczyniowych w okresie obserwacji 30-dniowej [IV kwartyl (pacjenci oporni na leczenie kłopidogrelem) vs I, II, III kwartyli; OR 22,4; 95% CI 4,6-109]. Osłabiona odpowiedź na leczenie aspiryną w powyższej grupie pacjentów wykazywała korelację z częstością stwierdzania oporności na leczenie kłopidogrelem ($p = 0,003$) lecz wykazywała zdecydowanie słabszy związek z ryzykiem wystąpienia zdarzeń niedokrwiennych (OR 5,76; 95% CI 1,54-35,61).¹⁸⁴ W doniesieniu Geisler i wsp. oznaczono poziom zahamowania agregacji płytek krwi u 379 kolejnych pacjentów z chorobą niedokrwienną serca w co najmniej szóstej godzinie od podania wysokiej dawki wysycającej kłopidogrelu (stabilna dławica piersiowa w przypadku 206 pacjentów, ostry zespół wieńcowy w przypadku 173 pacjentów).¹³⁸ Wystąpienie zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem definiowanej jako poziom zahamowania agregacji płytek krwi po zastosowaniu leczenia $< 30\%$ stwierdzono w przypadku 5,8% pacjentów. W odniesieniu do pacjentów z prawidłową odpowiedzią na kłopidogrel, pacjenci oporni na leczenie kłopidogrelem charakteryzowali się podwyższonym ryzykiem dużych incydentów sercowo-naczyniowych w okresie obserwacji 3-miesięcznej (odpowiednio pacjenci oporni vs pacjenci z odpowiedzią prawidłową: 22,7% vs 5,6%; OR 4,9; 95%CI 1,66-14,96; $p = 0,004$). Diagnoza oporności na stosowaną terapię kłopidogrelem, oraz ciężka niewydolność lewej komory serca były

niezależnymi czynnikami wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych w okresie prowadzonej obserwacji klinicznej.¹³⁸ Do chwili obecnej największym badaniem określającym zależność pomiędzy stopniem zahamowanie agregacji płytek krwi w odpowiedzi na leczenie kłopidogrelem a rokowaniem klinicznym jest badanie EXCELSIOR (ang. *Impact of Extent of Clopidogrel Induced Platelet Inhibition During Elective Stent Implantation on Clinical Event Rate*).¹³⁹ Objęło ono 802 kolejnych pacjentów poddawanych planowemu zabiegowi PCI w okresie co najmniej dwóch godzin od otrzymania wysokiej dawki wysycającej kłopidogrelu (600 mg). Obserwowana częstość incydentów sercowo-naczyniowych w okresie obserwacji 30-dniowej była istotnie wyższa w grupie pacjentów z wysoką agregacją płytek krwi w odpowiedzi na ADP przed PCI (I kwartył – 0,5%, II – 0,5%, III – 3,1%, IV – 3,5%; $p=0,034$). Stwierdzenie poziomu agregacji płytek krwi $\geq 15\%$ (mediana) wiązało się z 6,7 krotnym wzrostem ryzyka zdarzeń niedokrwiennych w okresie prowadzonej obserwacji (95% CI 1,52-29,41). Poziom agregacji płytek krwi był ponadto niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych w okresie obserwacji 30-dniowej.¹³⁹

W badaniu CLEAR-PLATELETS (ang. *Clopidogrel Loading With Eptifibatide to Arrest the Reactivity of Platelets*) potwierdzono istotną zależność pomiędzy ryzykiem wystąpienia istotnego okołozabiegowego wzrostu poziomu enzymów nekrotycznych mięśnia sercowego i markerów zapalenia, a stopniem zahamowania agregacji płytek krwi.⁸¹ Podobnie w opracowaniu Lev i wsp. wystąpienie zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem było związane z trendem do podwyższonego ryzyka okołozabiegowego zawału serca po zabiegu PCI (pacjenci oporni na kłopidogrel vs pacjenci z odpowiedzią prawidłową: 32,4% vs 17,3%; $p=0,06$).¹⁸⁵ Cuisset i wsp. wykazali ponadto, że w grupie pacjentów z NSTEMI-ACS poddawanych PCI mających wysoki poziom agregacji płytek krwi w odpowiedzi na ADP określony przed zabiegiem interwencji wieńcowej częściej stwierdza się istotny wzrost troponiny I w okresie 24 godzin (pacjenci z wysoką reaktywnością płytek vs pacjenci z odpowiedzią prawidłową: 43% vs 24%; $p=0,014$).¹⁸⁶ Co istotne, stwierdzenie wzrostu poziomu wskaźników martwicy mięśnia sercowego po PCI może wiązać z podwyższonym ryzykiem wystąpienia zgonu i/lub zawału serca w obserwacji odległej.¹⁸⁷⁻¹⁹⁰

Dane z kilku małych badań sugerują, iż wysoka reaktywność płytek krwi pomimo stosowanego leczenia kłopidogrelem jest czynnikiem ryzyka wystąpienia zakrzepicy w stencie. W badaniu CREST (ang. *Clopidogrel effect on platelet REactivity in patients*

with Stent Thrombosis) wykazano, że pacjenci, u których wystąpiła zakrzepica w stencie (grupa 20 pacjentów) mają niższy stopień zahamowania agregacji płytek krwi, podwyższony poziom aktywności receptora GPIIb/IIIa i wyższy wskaźnik aktywności receptora P2Y₁₂ oznaczony metodą określenia poziomu fosforylacji VASP niż pacjenci, u których nie wystąpiła zakrzepica w stencie po zabiegu PCI (grupa 100 pacjentów).⁹² Podobne obserwacje poczynili Barragan i wsp. stwierdzając w grupie 18 pacjentów z zakrzepicą w stencie wyższą niż w przypadku grupy kontrolnej (pacjenci bez zakrzepicy w stencie) reaktywność receptora P2Y₁₂ mierzoną metodą określenia poziomu fosforylacji VASP.⁹⁴ Może to wskazywać na rolę niedostatecznego zahamowania receptora P2Y₁₂ jako jednego z elementów patofizjologii zjawiska zakrzepicy w stencie. W dalszych badaniach Ajzenberg i wsp. stwierdzili wyższy poziom agregacji płytek krwi stymulowanej siłami ścinającymi przepływu krwi u pacjentów leczonych aspiryną i kłopidogrelem, u których wystąpiła zakrzepica w stencie, niż w przypadku pacjentów leczonych podwójną terapią przeciwplatekową bez zakrzepicy w stencie lub też osób nie leczonych lekami przeciwplatekowymi.⁹³ Podobnie Wenaweser i wsp. stwierdzili podwyższony stopień agregacji płytek krwi po stymulacji ADP u pacjentów z przebytą zakrzepicą w stencie w porównaniu do pacjentów poddawanych PCI bez zakrzepicy w stencie oraz grupy kontrolnej zdrowych ochotników. Obserwowany odsetek chorych opornych na stosowane leczenie kłopidogrelem nie różnił się jednak pomiędzy grupami.¹³⁷

Zgodnie z przedstawionymi powyżej wynikami nie wykazano różnic pomiędzy grupami pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem i pacjentów z odpowiedzią prawidłową w odniesieniu do częstości wystąpienia powikłań krwotocznych. Wydaje się, że chorzy o szczególnie wysokiej odpowiedzi na stosowane leczenie przeciwplatekowe mogą charakteryzować się potencjalnie wyższym ryzykiem krwawień.¹³⁵ Może mieć to znaczenie o tyle, iż wystąpienie dużych powikłań krwotocznych lub też konieczności przetoczenia krwi wiąże się z pogorszeniem rokowania klinicznego pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym i/lub poddawanych zabiegom PCI, w tym także podwyższonym ryzykiem wystąpienia zgonu lub zawału serca w obserwacji długoterminowej.^{191, 192} Do chwili obecnej nie wykazano jednak zależności pomiędzy stopniem zahamowania agregacji płytek krwi a ryzykiem krwawień. W analizie przedstawionej przez Tamberella i wsp. ryzyko wystąpienia krwawień po zabiegu PCI z zastosowaniem inhibitora GPIIb/IIIa nie korelowało ze stopniem osiągniętego efektu przeciwplatekowego, natomiast wykazywało silne

powiązanie z wielkością zastosowanej dawki heparyny niefrakcjonowanej i wynikiem oznaczenia aktywowanego czasu krzepnięcia.^{103, 193}

Wyniki powyższych badań sugerują istotność kliniczną pomiaru stopnia zahamowania agregacji płytek krwi po zastosowaniu leczenia kłopidogrelem, w szczególności w podgrupie pacjentów poddawanych zabiegowi PCI z implantacją stentu. Stosunkowo niska liczebność badanych populacji pacjentów, w wielu przypadkach retrospektywny charakter badań, oraz zastosowanie surogatowych punktów końcowych nie pozwala jednak na jednoznaczne potwierdzenie zależności pomiędzy stopniem zahamowania agregacji płytek krwi a rokowaniem klinicznym, czy też określenie optymalnego poziomu odpowiedzi na leczenie kłopidogrelem, który pozwoliłby na zapobiegnięcie, czy też redukcję ryzyka wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych. Powyższa zależność może zostać potwierdzona w aktualnie toczących się badaniach z zastosowaniem wysokich dawek kłopidogrelu i/lub nowych leków hamujących zależną od ADP agregację płytek krwi.¹⁹⁴ Z drugiej strony wykazanie prostej zależności pomiędzy odpowiedzią na stosowane leczenie przeciwplatekcyjne a wystąpieniem incydentów sercowo-naczyniowych może być utrudnione ze względu na złożoną patofizjologię zdarzeń niedokrwiennych. Paradoksalnie pacjenci o szczególnie wyrażonej odpowiedzi na kłopidogrel mogą rozwijać zakrzepową plamicę małopłytkową (ang. *thrombotic thrombocytopenic purpura*, TTP) w przebiegu której, w związku z powstaniem stanu nadkrzepliwości istnieje podwyższone ryzyko wystąpienia zakrzepicy w stencie po zabiegu PCI.¹⁹⁵ Również wystąpienie samej zakrzepicy w stencie może być bardziej zależne od samej techniki wykonania zabiegu PCI, niż braku optymalnego poziomu zahamowania agregacji płytek krwi. Moussa i wsp. wykazali, że brak optymalnego rozprężenia stentu, brak pokrycia całej blaszki miażdżycowej przez stent, czy też obecność lokalnej dyssekcji po PCI są silnymi czynnikami predysponującymi do wystąpienia podostrej zakrzepicy w stencie.¹⁹⁶ Podobnie zastosowanie stentów pokrywanych lekiem antymitotycznym stosowanym celem redukcji ryzyka wystąpienia nawrotu zwężenia może wiązać się z przetrwałym, podwyższonym ryzykiem wystąpienia zakrzepicy w stencie w związku ze zwiększoną aktywacją płytek krwi indukowaną lekiem antymitotycznym (sirolimus).¹⁶³

5.7 Postępowanie w przypadku oporności na leczenie kłopidogrelem

5.7.1 Wysokie dawki kłopidogrelu

W związku z tym, że coraz liczniejsze badania potwierdzają znaczenie zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem dla osiąganych wyników klinicznych terapii pacjentów z chorobą niedokrwienną serca aktualnie poszukuje się skutecznych metod postępowania w przypadku stwierdzenia tego zjawiska. Najprostszą metodą wydaje się być zwiększenie dawki wysycającej i/lub podtrzymującej kłopidogrelu. Zastosowanie wysokiej dawki wysycającej kłopidogrelu (600 mg) pozwala na osiągnięcie wyższego stopnia zahamowania agregacji płytek krwi, niższej reaktywności płytek krwi na stymulację ADP oraz redukcję częstości wystąpienia zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem w porównaniu do standardowej dawki 300 mg.^{29, 30, 39, 81, 132, 197} W badaniu Gurbel'a i wsp. częstość wystąpienia zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem wyniosła odpowiednio dla dawki 600 mg vs 300 mg: 8% vs 28%; $p < 0,001$ w przypadku zastosowania stymulacji 5 μ M ADP i 8% vs 32%, $p < 0,001$ dla 20 μ M ADP.¹³² W badaniu CLEAR-PLATELETS podanie dawki wysycającej 600 mg bezpośrednio po implantacji stentu wieńcowego pozwalało na osiągnięcie pełniejszego efektu przeciwpłytkowego w 3, 8, 18. i 24. godzinie od rozpoczęcia terapii w porównaniu do dawki 300 mg ($p < 0,001$).⁸¹ W powyższym badaniu uzyskanie wzmocnionego efektu przeciwpłytkowego poprzez podanie dawki 600 mg kłopidogrelu wiązało się z redukcją ryzyka wzrostu enzymów nekrotycznych i markerów procesu zapalnego u pacjentów poddawanych PCI.^{81 198} Podobnie przedstawione wyżej badania ISAR-CHOICE i ALBION potwierdziły możliwość osiągnięcia bardziej wyrażonego efektu przeciwpłytkowego w przypadku wysokich dawek kłopidogrelu (600 mg, 900 mg).^{30, 74} Również zastosowanie ponownej dawki wysycającej kłopidogrelu u pacjentów przyjmujących ten lek w terapii przewlekłej charakteryzuje się osiągnięciem dodatkowego efektu hamowania agregacji płytek krwi.⁸³ Tym samym zastosowanie wysokich dawek kłopidogrelu może być rozważane w przypadku pacjentów z utrzymującą się wysoką reaktywnością płytek krwi w odpowiedzi na ADP mimo wdrożonego leczenia kłopidogrelem. Pomimo, że podanie wysokiej dawki wysycającej kłopidogrelu (600 mg) 4-8 godzin przed planowym zabiegiem PCI w badaniu ARMYDA-2 wiązało się z redukcją ryzyka wystąpienia okołozabiegowego zawału

mięśnia sercowego w porównaniu dawki 300 mg, do chwili obecnej brak jest jednak jednoznacznych danych klinicznych przemawiających za wyższą skutecznością wysokich dawek kłopidogrelu w redukcji powikłań niedokrwiennych w odniesieniu do terapii standardowej.⁷³

Aktualne wytyczne *American College of Cardiology / American Heart Association* dla zabiegów PCI zalecają zwiększenie stosowanej dawki kłopidogrelu w terapii przewlekłej do 150 mg/doba (klasa zaleceń IIb) w przypadku pacjentów, u których wystąpienie zakrzepicy w stencie mogłoby prowadzić do zgonu, a stwierdzany poziom zahamowania agregacji płytek krwi określony w badaniach laboratoryjnych jest niższy niż 50%.¹⁹⁹ Zastosowanie wyższych dawek kłopidogrelu w terapii przewlekłej (150 mg/doba) pozwala na osiągnięcie silniejszego efektu przeciwpłytkowego.^{85, 86} Zakładany w wytycznych poziom hamowania agregacji płytek krwi, który może wiązać się ze zwiększonym ryzykiem powikłań niedokrwiennych został ustalony w oparciu o wyniki badań CLEAR-PLATELETS i CREST.^{81, 92} Powyższe wytyczne nie określają jednak, jaka metoda oceny funkcji płytek krwi ma być zastosowana celem diagnostyki i modyfikacji stosowanego postępowania terapeutycznego.¹⁹⁹

5.7.2 Nowe inhibitory receptora płytkowego P2Y₁₂

Pewne nadzieje wiąże się z wprowadzeniem nowych leków z grupy tienopirydyn. Jednym z nich jest prasugrel (CS-747, LY640315) pozwalający na uzyskanie szybszego i pełniejszego efektu przeciwpłytkowego w porównaniu do kłopidogrelu.²⁰⁰⁻²⁰² Jego zastosowanie u pacjentów poddawanych PCI w badaniu JUMBO-TIMI-26 (ang. *Joint Utilization of Medications to Block Platelets Optimally – TIMI-26*) wiązało się z redukcją wystąpienia ryzyka wystąpienia zakrzepicy w zakresie naczynia poddawanego angioplastyce i trendem do redukcji innych powikłań niedokrwiennych w porównaniu do grupy leczonej kłopidogrelem.²⁰³ Stwierdzana częstość wystąpienia powikłań krwotocznych była zbliżona pomiędzy grupami.²⁰³ Skuteczność i bezpieczeństwo stosowania prasugrelu w porównaniu do kłopidogrelu u pacjentów z ostrymi zespołami wieńcowymi poddawanych PCI oceni prowadzone w chwili obecnej badanie TRITON-TIMI-38 (ang. *Trial to assess Improvement of Therapeutic outcomes by Optimizing platelet inhibition with prasugrel-TIMI-38*). Pomimo, że prasugrel podobnie jak kłopidogrel wymaga przekształcenia w aktywny metabolit wykazuje on silniejszy i bardziej przewidywalny efekt przeciwpłytkowy w porównaniu do kłopidogrelu.^{201, 202}

Również stwierdzany odsetek pacjentów ze słabą odpowiedzią (opornych) na stosowane leczenie przeciwplatek jest niższy w przypadku leczenia prasugrelem, niż kłopidogrelem.²⁰² Co istotne, badanie TRITON-TIMI-38 jest pierwszym badaniem, które może potwierdzić czy zastosowanie leku lub jego określonej dawki pozwalającej na osiągnięcie silniejszego i bardziej stałego efektu przeciwplatekowego w porównaniu do standardowej terapii kłopidogrelem może wiązać się z poprawą osiąganych klinicznych wyników leczenia. Dodatkowych danych dostarczy badanie PRINCIPLE-TIMI-44 (ang. *Prasugrel in Comparison to Clopidogrel for Inhibition of Platelet Activation and Aggregation*). Jego celem jest porównanie skuteczności prasugrelu w odniesieniu do wysokich dawek kłopidogrelu: wysycającej (600 mg) i podtrzymującej (150 mg/doba) u pacjentów poddawanych planowym zabiegom PCI. Ma objąć ono nie tylko ocenę funkcji płytek krwi, ale także określić poziom generacji enzymów nekrotycznych i markerów zapalenia po zabiegach kardiologii interwencyjnej w przypadku obu leków.

Innym lekiem jest preparat AZD6140 będący doustnym, odwracalnym inhibitorem receptora płytkowego P2Y₁₂. W przeciwieństwie do kłopidogrelu nie jest on metabolizowany przy udziale CYP450, a tym samym czynniki genetyczne i środowiskowe wpływające na działanie CYP450 będące potencjalnie jedną z przyczyn wystąpienia zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem nie wykazują oddziaływania na uzyskany efekt przeciwplatekowy AZD6140.²⁰⁴ Jego skuteczność i bezpieczeństwo w porównaniu do kłopidogrelu w leczeniu pacjentów z NSTEMI-ACS oceniono w niedawno zakończonym badaniu DISPERSE 2-TIMI-33 (ang. *Safety, Tolerability and Preliminary Efficacy of AZD6140, the First Oral Reversible ADP Receptor Antagonist, Compared with Clopidogrel in Patients with Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndrome*). Wykazało ono zbliżoną częstość wystąpienia powikłań krwotocznych i niedokrwienych w grupach pacjentów leczonych AZD6140 i kłopidogrelem. W powyższym badaniu obserwowano jedynie trend do redukcji ryzyka wystąpienia zawału serca w okresie prowadzonej obserwacji. W grupie leczonej AZD6140 potwierdzono istnienie zwiększonego ryzyka wystąpienia objawów ubocznych pod postacią duszności, niedociśnienia lub nudności, lecz nie wiążącego się ze wzrostem częstości przerwania leczenia w odniesieniu do kłopidogrelu. Przydatność preparatu AZD6140 dla terapii pacjentów z NSTEMI-ACS leczonych interwencyjnie ma określić toczące się badanie PLATO (ang. *Platelet Inhibition and Patient Outcomes*).

Kolejnym nowym lekiem przeciwplatekowym jest cangrelor (AR-C69931MX) – dożylny, nietienopirydynowy, odwracalny inhibitor receptora płytkowego P2Y₁₂, o krótkim czasie półtrwania (3-5 minut). W związku z tym, iż cangrelor jest lekiem nie wymagającym przemiany do aktywnej formy pozwala na bardzo szybkie osiągnięcie niemal całkowitego zahamowania zależnej od ADP agregacji płytek krwi.²⁰⁵ Możliwość szybkiego i całkowitego odwrócenia działania leku w okresie od 20 do 50 minut może mieć szczególne znaczenie dla pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym wymagających zastosowania leków przeciwplatekowych przed badaniem koronarograficznym, a następnie poddawanych w trybie pilnym zabiegowi pomostowania aortalno-wieńcowego i pozwolić na redukcję ryzyka powikłań krwotocznych związanych z zabiegiem kardiologicznym. Dotychczasowe badania potwierdzają akceptowalny profil bezpieczeństwa zastosowania cangreloru w leczeniu zachowawczym NSTEMI-ACS.^{205, 206} Aktualnie toczą się badania III fazy z zastosowaniem powyższego leku w trakcie zabiegów PCI – CHAMPION-PCI (ang. *Clinical Trial Comparing Cangrelor to Clopidogrel in Subjects Who Require Percutaneous Coronary Intervention*) i CHAMPION-PLATFORM (ang. *Clinical Trial Comparing Treatment With Cangrelor (in Combination With Usual Care) to Usual Care, in Subjects Who Require Percutaneous Coronary Intervention*). Zarówno AZD6140, jak i cangrelor wykazują silniejszy efekt przeciwplatekowy w porównaniu do rutynowo stosowanych dawek kłopidogrelu.^{204, 207} Pomimo to, do chwili obecnej brak jest danych klinicznych dotyczących ewentualnej przewagi klinicznej powyższych leków nad kłopidogrelem, czy też następstw zastosowania innych inhibitorów receptora płytkowego P2Y₁₂ w przypadku stwierdzenia zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem.

5.7.3 Cilostazol

Kolejnym lekiem, który może mieć potencjalnie znaczenie dla terapii przeciwplatekowej pacjentów poddawanych PCI, również w przypadku wystąpienia zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem jest cilostazol – inhibitor fosfodiesterazy III stosowany rutynowo w leczeniu choroby niedokrwiennej serca. W dotychczasowych badaniach dołączenie cilostazolu do leczenia aspiryną lub kłopidogrelem nie wiązało się z istotnym wzrostem ryzyka powikłań krwotocznych, co może przemawiać za bezpieczeństwem proponowanej terapii.²⁰⁸ W badaniu Lee i wsp. łączne zastosowanie

aspiryny i cilostazolu było równie skuteczne jak kombinacja aspiryny i kłopidogrelu w zapobieganiu incydentom niedokrwiennym po planowym zabiegu PCI (częstość zakrzepicy w stencie, zgonu, zawału serca i potrzeby ponownej rewaskularyzacji łącznie w okresie 30 dni, aspiryna + cilostazol vs aspiryna + kłopidogrel: 2,6% vs 2,0%; $p=0,61$).²⁰⁹ Podobnie w grupie 705 pacjentów poddanych skutecznej implantacji stentu stalowego dołączenie do terapii aspiryną i kłopidogrelem cilostazolu wiązało się z 36% redukcją ryzyka wystąpienia restenozy w zakresie naczynia poddawanego PCI w okresie obserwacji 6-miesięcznej. Korzyść ta była szczególnie wyrażona w podgrupach pacjentów z podwyższonym ryzykiem wystąpienia nawrotu zwężenia – z cukrzycą, ze zmianami na długich odcinkach naczyń, ze zmianami w zakresie naczyń o małej średnicy.²¹⁰ Nie obserwowano różnic w częstości wystąpienia krwawień, konieczności ponownej hospitalizacji, ponownej interwencji wieńcowej, zawału serca lub zgonu w badanych grupach pacjentów.²¹⁰ W innym badaniu dołączenie cilostazolu do terapii aspiryną i kłopidogrelem w okresie po PCI wiązało się z istotną redukcją ryzyka wystąpienia zakrzepicy w stencie w okresie 30 dni w porównaniu do placebo. Obserwowano ponadto trend do zmniejszenia częstości zakrzepicy w stencie, zgonu, zawału serca i potrzeby ponownej rewaskularyzacji łącznie w okresie 30 dni ($p=0,086$).²¹¹ W chwili obecnej konieczne są dalsze badania celem określenia przydatności dołączenia cilostazolu do podwójnej terapii przeciwplatekowej w przypadku stwierdzenia wystąpienia zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem.

5.7.4 Dożylny inhibitory receptora płytkowego GPIIb/IIIa

Dodanie do terapii aspiryną i kłopidogrelem inhibitora GPIIb/IIIa wiąże się z osiągnięciem pełniejszego efektu przeciwplatekowego niż w przypadku leczenia samą aspiryną i kłopidogrelem.⁷⁹⁻⁸¹ Co istotne, zastosowanie inhibitora GPIIb/IIIa (eptifibatyd) w trakcie planowego PCI u pacjentów leczonych uprzednio kombinacją aspiryny i tienopirydyny (97% pacjentów tiklopidyna lub kłopidogrel podane w dniu zabiegu w dawce wysycającej) wiązało się w badaniu ESPRIT (ang. *Enhanced Suppression of the Platelet IIb/IIIa Receptor with Integrilin Therapy*) z istotną redukcją ryzyka wystąpienia zgonu, zawału serca i konieczności ponownej pilnej interwencji wieńcowej rozpatrywanych łącznie w okresie obserwacji 30-dniowej.²¹² Podobnie w badaniu CLEAR-PLATELETS podanie eptifibatydu pozwalało na osiągnięcie pełniejszego efektu przeciwplatekowego zarówno w odniesieniu do dawki wysycającej

klopidogrelu 300, jak i 600 mg oraz wiązało się z redukcją ryzyka wzrostu enzymów nekrotycznych i markerów procesu zapalnego u pacjentów poddawanych PCI.^{81 198} Dodanie inhibitora GPIIb/IIIa (tirofiban) do terapii aspiryną i klopidogrelem (dawka wysycająca 300 mg) zainicjowanej co najmniej 24 godziny przed planowym PCI redukowało również częstość wystąpienia istotnego wzrostu osoczkowego poziomu troponiny T w okresie do 12 godzin od PCI.²¹³ Wydaje się to być o tyle istotnym, że stwierdzenie nawet małego stopnia wzrostu poziomu troponiny, lub też CK-MB po PCI wiązało się we wcześniejszych badaniach klinicznych z podwyższonym ryzykiem zgonu lub wystąpienia zawału serca w obserwacji krótkoterminowej i odległej.¹⁸⁷⁻¹⁹⁰ Korzyść z dołączenia do terapii aspiryną i klopidogrelem inhibitora GPIIb/IIIa (abciximab) potwierdzają również wyniki omówionego powyżej badania ISAR-REACT 2. Podanie abciximabu wiązało się w nim z istotną redukcją częstości wystąpienia zgonu, zawału serca lub potrzeby pilnej rewaskularyzacji poszerzanego naczynia w okresie obserwacji 30-dniowej w grupie pacjentów z NSTEMI-ACS poddawanych PCI (abciximab vs placebo: 8.9% vs 11.9%; RR 0,75; p=0,03), przy czym korzyść ta była w zasadzie zarezerwowana jedynie dla grupy pacjentów z dodatnim wyjściowym wynikiem oznaczenia troponin (abciximab vs placebo: 13,1% vs 18,3%; RR 0,71; p=0,02).⁸² Aktualnie prowadzone badanie RESISTOR (ang. *Research Evaluation to Study Individuals Who Show Thromboxane or P2Y12 Receptor Resistance*) ma na celu określenie wpływu dodatkowego podania inhibitora GPIIb/IIIa (eptifibatyd) u pacjentów poddawanych planowemu PCI ze stwierdzoną opornością na stosowane leczenie aspiryną i/lub klopidogrelem na ryzyko wystąpienia okołozabiegowego wzrostu poziomu enzymów nekrotycznych mięśnia sercowego.

5.8 Oporność na inne leki przeciwplatekcyjne

5.8.1 Oporność na leczenie aspiryną

Działanie przeciwplatekcyjne aspiryny jest wynikiem jej hamującego działania na COX-1 i tym samym hamowanie powstawania TXA₂ i innych prostaglandyn. Liczne badania kliniczne potwierdziły wysoką skuteczność aspiryny w prewencji wtórnej i w prewencji pierwotnej w grupie pacjentów wysokiego ryzyka wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych. W meta-analizie 287 badań (>200 000 pacjentów) przewlekłe

zastosowanie aspiryny wiązało się z 25% redukcją ryzyka wystąpienia zgonu, zawału serca i udaru niedokrwinnego łącznie, z 34% redukcją ryzyka zawału serca niezakończonego zgonem, z 25% redukcją ryzyka udaru niedokrwinnego mózgu i 18% redukcją ryzyka zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych.⁴ Zgodnie z aktualnymi wytycznymi aspiryna pozostaje lekiem przeciwplatecznym pierwszego rzutu.^{56, 199, 214} Jednak pomimo jej zastosowania u około 55 - 60% leczonych pacjentów może wystąpić incydent sercowo-naczyniowy.²¹⁵⁻²¹⁷ Może to sugerować, podobnie jak w przypadku leczenia kłopidogrelem istnienia zróżnicowania odpowiedzi na stosowane leczenie. Oprócz różnic w częstości zdarzeń klinicznych, liczne badania potwierdziły obecność dużej zmienności w zakresie parametrów określających stopień agregacji płytek krwi, aktywacji płytek krwi, czy też czasu krwawienia u pacjentów leczonych aspiryną.²¹⁵⁻²¹⁹ Do chwili obecnej brak jest jednoznacznej definicji zjawiska oporności na leczenie aspiryną. Może być ono odnoszone do braku zdolności aspiryny do zapobiegnięcia wystąpieniu incydentu sercowo-naczyniowego, wydłużenia czasu krzepnięcia, hamowania syntezy TXA₂ lub hamowania agregacji płytek krwi.^{220, 221} Zjawisko oporności na aspirynę stwierdza się w przypadku 5 – 60% pacjentów w zależności od rodzaju zastosowanej definicji i metody laboratoryjnej.^{222, 223}

Wystąpienie zjawiska oporności na aspirynę może wiązać się z pogorszeniem rokowania odległego leczonych pacjentów. Grottemeyer i wsp. w grupie 180 pacjentów z udarem niedokrwinnym mózgu stwierdzili 10-krotny wzrost ryzyka wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych w okresie obserwacji 2-letniej w przypadku wystąpienia zjawiska oporności na leczenie aspiryną (pacjenci oporni vs pacjenci z odpowiedzią prawidłową: 40% vs 4,4%; $p < 0,0001$).²¹⁵ Mueller i wsp. wykazali, że pacjenci poddawani zabiegowi angioplastyki balonowej w zakresie tętnic obwodowych oporni na aspirynę charakteryzują się podwyższonym ryzykiem (wzrost ryzyka o 87%; $p = 0,0093$) wystąpienia ponownej okluzji naczynia w okresie obserwacji 18-miesięcznej.⁹⁶ W subanalizie badania HOPE (ang. *Heart Outcomes Prevention Evaluation*) Eikelboom i wsp. potwierdzili zależność pomiędzy wystąpieniem zjawiska oporności na leczenie aspiryną określonego metodą pomiaru poziomu 11-dehydro-TXB₂ w moczu a częstością zdarzeń sercowo-naczyniowych w okresie obserwacji 5-letniej.²²⁴ Oporność na leczenie aspiryną była związana z 1,8-krotnym wzrostem ryzyka (95% CI 1,2-2,7; $p = 0,009$) wystąpienia zgonu, zawału serca i udaru niedokrwinnego mózgu łącznie, 2-krotnym wzrostem ryzyka zawału serca (95% CI 1,2-3,4; $p = 0,006$) i 3,5-krotnym wzrostem ryzyka zgonu (95% CI 1,7-7,4; $p < 0,001$) w okresie prowadzonej

obserwacji.²²⁴ Podobnie w badaniu Gum'a i wsp. w grupie 326 pacjentów ze stabilną dławicą piersiową leczonych aspiryną w dawce 325 mg/doba wystąpienie zjawiska oporności na leczenie aspiryną [hazard względny (ang. *hazard ratio*, HR) 4,14; 95% CI 1,42-12,06; p=0,009], liczba płytek krwi, wiek oraz niewydolność krążenia były niezależnymi czynnikami ryzyka wystąpienia incydentu sercowo-naczyniowego w okresie obserwacji 2-letniej (średnio 679 ± 185 dni).²²⁵ W badaniu Andersena i wsp. w grupie 129 pacjentów po przebytym zawałe serca obserwowany był trend do częstszego występowania incydentów sercowo-naczyniowych w grupie pacjentów opornych na leczenie aspiryną (36% vs 24%; p=0,28).¹²² W populacji 151 pacjentów z chorobą niedokrwienną serca poddawanych planowemu zabiegowi PCI Chen i wsp. oporność na leczenie aspiryną stwierdził w przypadku 19,2% chorych. Pomimo zastosowania aktualnie rekomendowanych dawek kłopidogrelu i heparyny pacjenci oporni na leczenie aspiryną mieli 2,9 razy większe ryzyko wystąpienia zawału serca w okresie okołozabiegowym, niż pacjenci z odpowiedzią prawidłową.¹⁰⁴ W powyższej grupie pacjentów ponadto częściej stwierdzano wystąpienie upośledzenia przepływu w zakresie tętnicy poddawanej PCI.²²⁶ Powyższa grupa badaczy wykazała w grupie 422 pacjentów z chorobą niedokrwienną serca, że oporność na aspirynę (HR 2,71; 95% CI 1,39-5,28; p=0,004), cukrzyca, przebyty zawał serca oraz niski poziom hemoglobiny są niezależnymi czynnikami wystąpienia zgonu, ostrego zespołu wieńcowego lub udaru mózgu w okresie obserwacji trwającej 379 ± 200 dni.²²³

Wyniki przedstawionych badań wydają się potwierdzać znaczenie kliniczne zjawiska oporności na leczenie aspiryną. Aktualnie toczące się badania mają pozwolić na określenie optymalnej strategii terapeutycznej w przypadku jego wystąpienia.

5.8.2 Oporność na leczenie inhibitorami GPIIb/IIIa

Inhibitory GPIIb/IIIa blokując łączenie się fibrynogenu z receptorem płytkowym GPIIb/IIIa hamują końcowy etap agregacji płytek krwi. Ich zastosowanie w leczeniu ostrych zespołów wieńcowych wiąże się z redukcją wystąpienia powikłań niedokrwiennych, w szczególności w grupie pacjentów poddawanych zabiegom interwencyjnym.⁵⁶ Do najczęściej stosowanych inhibitorów GPIIb/IIIa należą abciximab, eptifibatyd i tirofiban. Do chwili obecnej termin oporności na leczenie inhibitorami GPIIb/IIIa nie jest szeroko stosowany w literaturze. Z drugiej strony Steinhubl i wsp. wykazali dużą zmienność odpowiedzi na stosowane leczenie

abciximabem w grupie 500 pacjentów poddawanych planowemu zabiegowi PCI.¹⁰³ Co istotne, pacjenci którzy nie osiągnęli $\geq 95\%$ stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w 10 minucie od rozpoczęcia terapii charakteryzowali się podwyższonym ryzykiem wystąpienia zgonu, zawału serca lub konieczności ponownej rewaskularyzacji w okresie obserwacji 30-dniowej (14,4% vs 6,4%; $p=0,006$). Podobnie pacjenci ze stopniem zahamowania agregacji płytek krwi $<70\%$ w ósmej godzinie od podania leku mieli wyższe ryzyko incydentów sercowo-naczyniowych w okresie prowadzonej obserwacji. Osiągnięty stopień zahamowania agregacji płytek krwi był niezależnym czynnikiem wystąpienia powikłań niedokrwiennych po PCI.¹⁰³

Jednym z postulowanych mechanizmów zmienności odpowiedzi na stosowane leczenie inhibitorem GPIIb/IIIa jest polimorfizm $P1^{A1/A2}$ receptora GPIIb/IIIa.²²⁷ Przykładowo, polimorfizm $P1^{A2}$ może być związany z uzyskaniem słabszej odpowiedzi na leczenie abciximabem.²²⁷ Potwierdzają to również wyniki z badania OPUS-TIMI-16 (ang. *Orbofiban in Patients with Unstable coronary Syndromes-TIMI-16*) z zastosowaniem orbofibanu (doustny inhibitor GPIIb/IIIa), w którym wykazano zależność pomiędzy polimorfizmem $P1^A$ a ryzykiem wystąpienia powikłań krwotocznych.²²⁸ Orbofiban zwiększał ryzyko krwawień proporcjonalnie do zastosowanej dawki w przypadku braku $P1^{A2}$ i nie miał wpływu na częstość krwawienia w przypadku obecności $P1^{A2}$. Pacjenci z $P1^{A2}$ leczeni orbofibanem charakteryzowali się ponadto podwyższonym ryzykiem wystąpienia zgonu, zawału serca, nawrotu niedokrwienia wymagającego hospitalizacji, konieczności pilnej rewaskularyzacji lub udaru niedokrwienego mózgu łącznie lub samego zawału serca. Nie obserwowano związku pomiędzy obecnością $P1^{A2}$ a rokowaniem w przypadku grupy leczonej placebo.²²⁸ Nie wiadomo, czy powyższe wyniki uzyskane dla doustnych inhibitorów GPIIb/IIIa mają bezpośrednie przełożenie w kontekście krótkotrwałego (kilkanaście godzin) zastosowania dożylnych inhibitorów GPIIb/IIIa.

Do chwili obecnej, podobnie jak w przypadku zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem brak jest zaleceń dotyczących modyfikacji stosowanej dawki, czy też rodzaju stosowanego leczenia przeciwplatekowego w przypadku stwierdzenia słabej odpowiedzi terapeutycznej na inhibitor GPIIb/IIIa.

5.8.3 Oporność na inne leki przeciwplatekowe, a oporność na kłopidogrel

Stwierdzana częstość wystąpienia zjawiska oporności na kłopidogrel i aspirynę może sięgać nawet 40% leczonych pacjentów. Tym samym wydaje się, że w pewnej grupie chorych istnieje duże prawdopodobieństwo współistnienia oporności na oba wyżej wymienione leki. W grupie 150 pacjentów poddawanych planowemu zabiegowi PCI Lev i wsp. oporność na leczenie aspiryną stwierdzili w 12,7% przypadków, natomiast oporność na leczenie kłopidogrelem u 24% chorych. Co istotne, prawie połowa (47,4%) pacjentów opornych na leczenie aspiryną była oporna na leczenie kłopidogrelem. Pacjenci oporni na aspirynę uzyskiwali ponadto mniejszy stopień zahamowania agregacji płytek krwi w odpowiedzi na kłopidogrel w porównaniu do pacjentów z prawidłową odpowiedzią na aspirynę. Tym samym 7,5% pacjentów wykazywała zgodnie z zastosowanymi definicjami oporność na oba leki przeciwplatekcyjne.¹⁸⁵ Zbliżoną częstość jednoczesnej oporności na aspirynę i kłopidogrel raportowała ta sama grupa autorów w przypadku grupy 100 pacjentów kierowanych do chirurgicznych zabiegów sercowo-naczyniowych (oporność na aspirynę – 13%, oporność na kłopidogrel – 34%, oporność na oba leki – 8%). Uzyskanie niskiej odpowiedzi na leczenie aspiryną wiązało się z osłabionym efektem przeciwplatekowym kłopidogrelu.¹¹² Powyższa grupa pacjentów może być szczególnie narażona na wystąpienie incydentów sercowo-naczyniowych w okresie obserwacji odległej.

5.9 Znane ograniczenia badania

Głównym ograniczeniem przedstawionego badania pozostaje stosunkowo niska liczebność badanych grup pacjentów, która nie pozwoliła na wykazanie istnienia ewentualnych różnic dotyczących charakterystyki klinicznej, czy też rokowania odległego pacjentów opornych i z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem. Pewne znaczenie dla określenia wpływu zjawiska oporności na stosowane leczenie kłopidogrelem na wystąpienie incydentów sercowo-naczyniowych w obserwacji odległej mogłoby mieć rozszerzenie analizy o wykluczenie współistnienia oporności na inne leki przeciwplatekcyjne (aspiryny), oraz przeprowadzenie analizy wyników angiograficznych zabiegów PCI. Również uzyskane wyniki oznaczenia stopnia zahamowania agregacji płytek krwi mogły być zaburzone przez czynniki związane z samą techniką pobrania krwi, jej transportem i analizą laboratoryjną. Celem

minimalizacji ryzyka zafałszowania uzyskanych wyników pomiaru stosowano wystandaryzowany sposób pobrania materiału i wykonania oznaczeń. Wszystkie pomiary zostały wykonane przed zabiegiem PCI celem eliminacji wpływu podania heparyny, inhibitorów GPIIb/IIIa, oraz możliwej wtórnej aktywacji płytek krwi w następstwie implantacji stentu na uzyskany wynik pomiaru. Zastosowana przez nas metoda oznaczenia stopnia zahamowania agregacji płytek krwi (Plateletworks) nie była korelowana z innymi metodami jego określenia w materiale własnym. W badaniach innych autorów uzyskane tą metodą wyniki dobrze korelowały z wynikami uzyskanymi przy użyciu agregometrii optycznej w osoczu bogatopłytkowym.¹⁰⁵⁻¹⁰⁸ Poczynione przez nas obserwację dotyczące zjawiska indywidualnej zmienności odpowiedzi na leczenie kłopidogrelem są ponadto zgodne z wynikami innych badań z użyciem agregometrii optycznej w osoczu bogatopłytkowym, jak i innych metod szybkiej oceny funkcji płytek krwi z użyciem krwi pełnej. Ograniczeniem analizy zależności odpowiedzi na kłopidogrel w terapii przewlekłej jest uzyskanie wyniku stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w odpowiedzi na kłopidogrel niespełna u 46,7% badanych pacjentów, oraz brak kontroli rzeczywistego przyjmowania leku przez pacjenta w okresie od zakończenia hospitalizacji do momentu wizyty kontrolnej.

6. Wnioski

1. Zjawisko oporności na leczenie kłopidogrelem u chorych ze stabilną dusznicą bolesną jest częste i nie koreluje z wyjściowym stopniem zahamowania agregacji płytek krwi.
2. Wczesna identyfikacja chorych z opornością na leczenie kłopidogrelem może pozwolić na określenie przewidywanych następstw terapii oraz modyfikację stosowanego leczenia przeciwplatekowego.
3. U chorych ze stabilną dusznicą bolesną brak jest istotnego związku pomiędzy cechami demograficznymi oraz zastosowanym leczeniem a opornością na leczenie kłopidogrelem.
4. Wczesna identyfikacja chorych z opornością na leczenie kłopidogrelem przy użyciu metod szybkiej oceny funkcji płytek z krwi pełnej jest możliwa i może być prowadzona w codziennej praktyce lekarskiej.
5. Postępowanie takie powinno być rozważane szczególnie u chorych z ostrym zespołem wieńcowym i / lub poddawanych zabiegom przezskórnej interwencji wieńcowej z implantacją stentu powlekanego lekiem antymitotycznym.

7. Streszczenia

7.1 Streszczenie w języku polskim

Wstęp

Pomimo wysokiej skuteczności kombinacji aspiryny i kłopidogrelu w zapobieganiu incydentom sercowo-naczyniowym u części pacjentów stwierdza się wystąpienie nagłych zgonów sercowych, zawałów serca, udarów mózgu, czy też innych incydentów niedokrwienych. Może to sugerować obecność słabszej odpowiedzi, czy też braku odpowiedzi na stosowane leczenie farmakologiczne w pewnej grupie pacjentów, co potwierdzają obserwacje oparte na pomiarach laboratoryjnych odpowiedzi płytek krwi na stosowane leczenie kłopidogrelem. U części pacjentów efekt zahamowania zależnej od adenozynodifosforanu agregacji płytek krwi jest szczególnie słabo wyrażony pomimo zastosowania rutynowo zalecanych dawek kłopidogrelu (tak zwana oporność na leczenie kłopidogrelem). Co istotne, pacjenci nie osiągający odpowiedniego stopnia zahamowania agregacji płytek krwi przed zabiegiem przezskórnej interwencji wieńcowej mogą charakteryzować się potencjalnie wyższym ryzykiem wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych.

Cele badania

1. określenie częstości występowania zjawiska oporności na leczenie kłopidogrelem u pacjentów z chorobą niedokrwinną serca przy zastosowaniu metod szybkiej oceny funkcji płytek krwi,
2. określenie możliwości wczesnej identyfikacji pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem przy zastosowaniu metod szybkiej oceny funkcji płytek krwi,
3. określenie ewentualnych różnic w zakresie charakterystyki klinicznej i współistniejącego leczenia farmakologicznego pomiędzy grupą pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem i pacjentów z odpowiedzią prawidłową.

Metodyka

Do badania włączono 60 kolejnych pacjentów ze stabilną dusznicą bolesną zakwalifikowanych do planowego zabiegu koronarografii / PCI leczonych co najmniej przez okres 7 ostatnich dni aspiryną w dawce 75-100 mg/doba. Kryteriami wyłączenia z badania było stosowanie tienopirydyn i/lub inhibitora GPIIb/IIIa i/lub leków fibrynolitycznych w okresie ostatnich 30 dni, przebyty ostry incydent wieńcowy w okresie ostatnich 30 dni, przeciwwskazania do zastosowania kłopidogrelu, zwiększone ryzyko powikłań krwotocznych, ciężka niewydolność nerek, ciężka niewydolność wątroby, ciąża, udział w innym badaniu klinicznym z użyciem leków lub środków farmaceutycznych.

Wszyscy pacjenci otrzymali kłopidogrel w standardowej dawce wysycającej (300 mg), a następnie w dawce 75 mg/doba. Zabieg koronarografii i ewentualnej PCI wykonywano w czasie dłuższym niż 24 godziny od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem. Oceniono wystąpienie incydentów sercowo-naczyniowych i krwotocznych w okresie hospitalizacji i obserwacji 30-dniowej. U wszystkich pacjentów określono ponadto rodzaj stosowanego współistniejącego leczenia farmakologicznego.

Oceny stopnia zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) przy użyciu systemu testów Plateletworks Aggregation Kits (Helena Laboratories, Beaumont, TX, USA) dokonano wyjściowo, oraz w 3, 6, 12, 24. godzinie od podania wysycającej standardowej dawki kłopidogrelu, oraz w trakcie kontrolnej wizyty 30-dniowej. Odpowiedź na stosowane leczenie kłopidogrelem [zmianę stopnia zahamowania agregacji płytek krwi (Δ SZAP)] zdefiniowano jako absolutną różnicę pomiędzy stopniem zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określoną w poszczególnych punktach czasowych od momentu rozpoczęcia leczenia kłopidogrelem, a SZAP określonym wyjściowo. Za oporność na stosowane leczenie kłopidogrelem przyjęto Δ SZAP $\leq 10\%$, natomiast za prawidłową odpowiedź na stosowane leczenie kłopidogrelem Δ SZAP $> 10\%$.

Wyniki

Średni SZAP oznaczony w grupie 60 pacjentów przed podaniem wysycającej dawki kłopidogrelu wyniósł $6,92 \pm 4,90\%$. W wyniku podania wysycającej dawki kłopidogrelu doszło do wzrostu SZAP – SZAP w 24. godzinie $36,39 \pm 20,79\%$. SZAP

w trakcie wizyty 30-dniowej określono w podgrupie 28 (46,67%) pacjentów. Średni SZAP w powyższej grupie pacjentów przed podaniem wysycającej dawki kłopidogrelu wyniósł $7,32 \pm 4,00\%$, w 24. godzinie $30,92 \pm 15,76\%$ i osiągnął wartość maksymalną w 30. dniu ($42,18 \pm 21,28\%$).

W 24. godzinie od podania dawki wysycającej kłopidogrelu oporność na stosowane leczenie kłopidogrelem stwierdzono u 14 (23,33%) pacjentów. Wyjściowy SZAP nie różnił się pomiędzy grupami, natomiast SZAP określony w obu grupach różnił się istotnie w pozostałych punktach czasowych. SZAP określony w 24. godzinie od podania dawki wysycającej kłopidogrelu dla grupy odpornej na leczenie nie różnił się istotnie od wyjściowego (odpowiednio $SZAP_{wyjściowy}$ vs $SZAP_{24 \text{ godz.}}$: $5,63 \pm 3,53\%$ vs $8,78 \pm 2,87\%$; $p=NS$). Natomiast w grupie pacjentów z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem zmiana SZAP była istotna (odpowiednio $SZAP_{wyjściowy}$ vs $SZAP_{24 \text{ godz.}}$: $7,31 \pm 5,22\%$ vs $44,79 \pm 15,96\%$; $p<0,00001$).

Odsetek pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem (dawka wysycająca 300 mg) ulegał redukcji w czasie. Wyniósł on odpowiednio 48,33% (29 przypadków) w 3. godzinie, 30,0% (18 przypadków) w 6. godzinie, 28,33% (17 przypadków) w 12. godzinie i 23,33% (14 przypadków) w 24. godzinie po zastosowaniu wysycającej dawki kłopidogrelu. Odpowiedź na leczenie kłopidogrelem określona w 6. godzinie ($\Delta SZAP_6 \text{ godz.}$) dobrze korelowała z odpowiedzią określoną w 24. godzinie ($\Delta SZAP_{24 \text{ godz.}}$) ($r=0,75$; $r^2=0,57$; $p<0,000001$). Wyniki osiągnięte w podgrupie 28 pacjentów (z wynikiem oznaczenia stopnia zahamowania agregacji płytek krwi w okresie obserwacji 30-dniowej) był zbliżony do obserwowanego w całej populacji pacjentów.

Grupy pacjentów opornych i z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem w 24. godzinie od rozpoczęcia terapii nie różniły się istotnie charakterystyką kliniczną i rodzajem współistniejącego leczenia farmakologicznego. Zaobserwowano jedynie trend ($p=0,106$) do częstszego stosowania inhibitorów konwertazy angiotensyny w grupie z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem.

W grupie pacjentów opornych na stosowane leczenie kłopidogrelem nie stwierdzono wystąpienia powikłań sercowo-naczyniowych w okresie obserwacji wewnątrzszpitalnej i 30-dniowej. Obserwowana częstość incydentów sercowo-naczyniowych w grupie pacjentów z odpowiedzią prawidłową była niska (łącznie 4,35%). Podobnie częstość wystąpienia małych powikłań krwotocznych była zbliżona w obu badanych grupach.

Wnioski

1. Zjawisko oporności na leczenie kłopidogrelem u chorych ze stabilną dusznicą bolesną jest częste i nie koreluje z wyjściowym stopniem zahamowania agregacji płytek krwi.
2. Wczesna identyfikacja chorych z opornością na leczenie kłopidogrelem może pozwolić na określenie przewidywanych następstw terapii oraz modyfikację stosowanego leczenia przeciwplatekowego.
3. U chorych ze stabilną dusznicą bolesną brak jest istotnego związku pomiędzy cechami demograficznymi oraz zastosowanym leczeniem a opornością na leczenie kłopidogrelem.
4. Wczesna identyfikacja chorych z opornością na leczenie kłopidogrelem przy użyciu metod szybkiej oceny funkcji płytek z krwi pełnej jest możliwa i może być prowadzona w codziennej praktyce lekarskiej.
5. Postępowanie takie powinno być rozważane szczególnie u chorych z ostrym zespołem wieńcowym i / lub poddawanych zabiegom przezskórnej interwencji wieńcowej z implantacją stentu powlekanego lekiem antymitotycznym (?).

7.2 Streszczenie w języku angielskim

Introduction

Despite high efficacy of combined aspirin and clopidogrel treatment in prevention of cardiovascular events, sudden cardiac death, myocardial infarction, ischaemic stroke and other ischaemic complication may occur in some patients. It might suggest a presence of weak response or lack of response to clopidogrel treatment in the selected group of patients, as it was confirmed by laboratory measurements of platelet response to treatment with clopidogrel. In some patients inhibitory effect of adenosine diphosphate induced platelet aggregation is especially weakly expressed despite the recommended dose of clopidogrel use (the so-called resistance to clopidogrel). Patients who did not achieve optimal platelet aggregation inhibition before percutaneous coronary intervention (PCI) might have been at higher risk of cardiovascular events.

Aims of the study

1. assessment of resistance to clopidogrel phenomenon frequency in patients with coronary artery disease by rapid platelet function assay method,
2. assessment of early identification of patients resistant to clopidogrel treatment by rapid platelet function assay method,
3. assessment of possible differences in demographic and clinical characteristics, and concomitant pharmacological treatment between the group of patients resistant to clopidogrel and patients with normal response to treatment.

Methods

A total of 60 consecutive patients with stable coronary artery disease admitted for elective angiography and PCI if necessary, treated with aspirin (75 to 100 mg daily for at least 7 days) entered the study. Exclusion criteria were: usage of thienopyridines and/or GPIIb/IIIa inhibitors and/or fibrinolytic agents within the last 30 days, acute coronary syndrome in the past 30 days, contraindications to clopidogrel, increased risk

of bleeding, severe renal insufficiency, severe hepatic insufficiency, pregnancy or participation in another trial.

All patients were treated with standard clopidogrel loading dose of 300 mg followed by 75 mg per day. Angiography and PCI were performed after more than 24 hours from the initiation of clopidogrel treatment. Occurrence of cardiovascular and bleeding events was assessed during hospital stay and at 30-day follow-up. In all patients concomitant medications usage was assessed.

Platelet aggregation inhibition (PAI) was assessed by Plateletworks Aggregation Kits (Helena Laboratories, Beaumont, TX, USA) at baseline and at 3, 6, 12, 24 hours after clopidogrel loading dose administration, and during 30-day follow-up visit. Response to treatment with clopidogrel (Δ PAI) was defined as absolute difference between PAI assessed in consecutive time points and PAI assessed at baseline. No-response to treatment with clopidogrel was defined Δ PAI $\leq$ 10% and normal response to treatment with clopidogrel as Δ PAI $>$ 10%.

Results

Average PAI assessed in a group of 60 patients before clopidogrel administration was $6.92 \pm 4.90\%$. After clopidogrel administration an increase of PAI was observed – after 24 hours PAI was $36.39 \pm 20.79\%$. During 30-day follow-up visit PAI was assessed in a subgroup of 28 (46.67%) patients. The average PAI in this group of patients before clopidogrel administration was $7.32 \pm 4.00\%$, at 24 hours $30.92 \pm 15.76\%$ and achieved maximal value at 30 days ($42.18 \pm 21.28\%$).

At 24 hours after clopidogrel loading dose administration the resistance to clopidogrel treatment in 14 (23.33%) patients was observed. At baseline PAI did not reveal any difference in between the studied groups. PAI assessed in both groups differed in consecutive time points. PAI at 24 hours after administration of clopidogrel loading dose in patients resistant to the treatment, showed no difference in comparison to baseline (as follows PAI_{baseline} vs PAI_{24 hours}: $5.63 \pm 3.53\%$ vs $8.78 \pm 2.87\%$; $p=NS$). On the other hand, in patients with normal response to clopidogrel, PAI change was significant (as follows PAI_{baseline} vs SZAP_{24 hours}: $7.31 \pm 5.22\%$ vs $44.79 \pm 15.96\%$; $p<0.00001$).

Frequency of patients resistant to clopidogrel (loading dose of 300 mg) decreased over time. It was in 48.33% (29 cases) at 3 hours, 30.0% (18 cases) at 6 hours, 28.33%

(17 cases) at 12 hours and 23.33% (14 cases) at 24 hours after administration of clopidogrel loading dose. Response to clopidogrel assessed at 6 hours ($\Delta PAI_{6 \text{ hours}}$) correlated well with response to clopidogrel at 24 hours ($\Delta SZAP_{24 \text{ hours}}$) ($r=0.75$; $r^2=0.57$; $p<0.000001$). Results achieved in a subgroup of 28 patients (with PAI assessed during 30-day follow-up visit) were similar to the observed ones in the entire patient population.

There was no significant difference in demographic and clinical characteristics, and concomitant pharmacological treatment between group of patients resistant to clopidogrel at 24 hours and patients with normal response to treatment. A trend ($p=0.106$) toward higher angiotensin converting enzyme inhibitors usage in group of patients with normal response to clopidogrel was observed.

In the group of patients resistant to clopidogrel, there were no cardiovascular events during hospital stay and 30-day follow-up period. Frequency of cardiovascular events in a group of patients with normal response was 4.35% and showed no difference in between the groups. Frequency of bleeding events was similar in both groups.

Conclusions

1. Resistance to clopidogrel phenomenon in patients with stable coronary artery disease is frequent and did not show correlation with baseline platelet aggregation inhibition.
2. Early identification of patients resistant to clopidogrel may allow to predict treatment effects and to modify the used antiplatelet therapy..
3. In patients with stable coronary artery disease there is no significant correlation between resistance to clopidogrel phenomenon and demographic characteristics, as well as concomitant pharmacological treatment.
4. Early identification of patients resistant to clopidogrel by rapid platelet function assay method (Plateletworks) is possible and may be used in everyday clinical practice.
5. This strategy should be considered particularly in patient with acute coronary syndrome and / or patients undergoing percutaneous coronary intervention with drug eluting stent implantation (?).

8. Załączniki

8.1 Spis rycin

Rycina 1. Schemat badania.....	37
Rycina 2. Schemat przedstawiający zasadę oznaczenia stopnia zahamowania agregacji krwi (SZAP) przy pomocy systemu Plateletworks ($SZAP = 100\ 000 / 260\ 000 * 100\% = 38,46\%$)	41
Rycina 3. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) w poszczególnych punktach czasowych (wyjściowo oraz w 3, 6, 12, 24. godzinie od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem).....	43
Rycina 4. Rozkład (histogram) stopnia zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określonego wyjściowo i w 24. godzinie od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem ..	44
Rycina 5. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) w poszczególnych punktach czasowych (wyjściowo oraz w 3, 6, 12, 24. godzinie i 30. dniu od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem - na podstawie danych dla 28 osób z wynikiem dla 30 dni).....	45
Rycina 6. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) w poszczególnych punktach czasowych (wyjściowo oraz w 3, 6, 12, 24. godzinie) w grupie pacjentów opornych i z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem	49
Rycina 7. Odsetek pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem (patrz tekst) w 3, 6, 12, 24. godzinie od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem (n=60).....	50
Rycina 8. Odsetek pacjentów opornych na leczenie kłopidogrelem (patrz tekst) w 3, 6, 12, 24. godzinie i 30. dniu od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem (na podstawie danych dla 28 osób z wynikiem dla 30 dni).....	51
Rycina 9. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów bez cukrzycy i z cukrzycą	53
Rycina 10. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów z chorobą jednonaczyniową i wielonaczyniową	53
Rycina 11. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów nie palących i palących tytoń.....	54

Rycina 12. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów z nasileniem dolegliwości stenokardialnych w klasie I i II wg Canadian Cardiovascular Society (CCS) i z grupą pacjentów z dolegliwościami w klasie CCS III	54
Rycina 13. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów leczonych atorwastatyną i leczonych innym rodzajem statyny	55
Rycina 14. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów nie leczonych i leczonych beta-blokerem	55
Rycina 15. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów leczonych i nie leczonych blokerem kanałów wapniowych (Ca-bloker).....	56
Rycina 16. Stopień zahamowania agregacji płytek krwi (SZAP) określony wyjściowo i w 24. godzinie w grupie pacjentów nie leczonych i leczonych inhibitorem konwertazy angiotensyny (ACE-I)	56

8.2 Spis tabel

Tabela 1. Zalecenia dotyczące stosowania kłopidogrelu u pacjentów poddawanych PCI (na podstawie wytycznych Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego dla zabiegów PCI) ⁵⁶	22
Tabela 2. Metody laboratoryjne przydatne dla oceny efektu przeciwplatekowego kłopidogrelu	26
Tabela 3. Potencjalne czynniki warunkujące wystąpienie oporności na leczenie kłopidogrelem	28
Tabela 4. Rozkład czasowy procedur badania	38
Tabela 5. Charakterystyka demograficzna, czynniki ryzyka choroby niedokrwiennej serca w grupie pacjentów opornych i z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem (patrz tekst) określonej w 24. godzinie od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem	46
Tabela 6. Współistniejące leczenie farmakologiczne w grupie pacjentów opornych i z prawidłową odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem określonej w 24. godzinie od rozpoczęcia terapii kłopidogrelem	47
Tabela 7. Częstość wystąpienia powikłań niedokrwiniowych i krwotocznych w okresie obserwacji 30-dniowej	48

9. Piśmiennictwo

1. Viles-Gonzalez JF, Anand SX, Valdiviezo C, Zafar MU, Hutter R, Sanz J, Rius T, Poon M, Fuster V, Badimon JJ. Update in atherothrombotic disease. *Mt Sinai J Med* 2004;**71**:197-208.
2. Bradberry JC. Peripheral arterial disease: pathophysiology, risk factors, and role of antithrombotic therapy. *J Am Pharm Assoc (Wash DC)* 2004;**44**:S37-S44.
3. Badimon L, Badimon JJ, Vilahur G, Segales E, Llorente V. Pathogenesis of the acute coronary syndromes and therapeutic implications. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002;**32**:225-231.
4. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ* 2002;**324**:71-86.
5. Gawaz M, Langer H, May AE. Platelets in inflammation and atherogenesis. *J Clin Invest* 2005;**115**:3378-3384.
6. Ruggeri ZM. Mechanisms initiating platelet thrombus formation. *Thromb Haemost* 1997;**78**:611-616.
7. Ruggeri ZM. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med* 2002;**8**:1227-1234.
8. Gawaz M. Role of platelets in coronary thrombosis and reperfusion of ischemic myocardium. *Cardiovasc Res* 2004;**61**:498-511.
9. Andrews RK, Berndt MC. Platelet physiology and thrombosis. *Thromb Res* 2004;**114**:447-453.
10. Andrews RK, Gardiner EE, Shen Y, Berndt MC. Platelet interactions in thrombosis. *IUBMB Life* 2004;**56**:13-18.
11. Kunapuli SP, Ding Z, Dorsam RT, Kim S, Murugappan S, Quinton TM. ADP receptors--targets for developing antithrombotic agents. *Curr Pharm Des* 2003;**9**:2303-2316.
12. Hechler B, Cattaneo M, Gachet C. The P2 receptors in platelet function. *Semin Thromb Hemost* 2005;**31**:150-161.
13. Savi P, Beauverger P, Labouret C, Delfaud M, Salel V, Kaghad M, Herbert JM. Role of P2Y1 purinoceptor in ADP-induced platelet activation. *FEBS Lett* 1998;**422**:291-295.
14. Leon C, Vial C, Gachet C, Ohlmann P, Hechler B, Cazenave JP, Lecchi A, Cattaneo M. The P2Y1 receptor is normal in a patient presenting a severe deficiency of ADP-induced platelet aggregation. *Thromb Haemost* 1999;**81**:775-781.
15. Geiger J, Brich J, Honig-Liedl P, Eigenthaler M, Schanzenbacher P, Herbert JM, Walter U. Specific impairment of human platelet P2Y(AC) ADP receptor-mediated signaling by the antiplatelet drug clopidogrel. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;**19**:2007-2011.
16. Lova P, Paganini S, Sinigaglia F, Balduini C, Torti M. A Gi-dependent pathway is required for activation of the small GTPase Rap1B in human platelets. *J Biol Chem* 2002;**277**:12009-12015.
17. Trumel C, Payrastre B, Plantavid M, Hechler B, Viala C, Presek P, Martinson EA, Cazenave JP, Chap H, Gachet C. A key role of adenosine diphosphate in the irreversible platelet aggregation induced by the PAR1-activating peptide through the late activation of phosphoinositide 3-kinase. *Blood* 1999;**94**:4156-4165.

18. Storey RF, Judge HM, Wilcox RG, Heptinstall S. Inhibition of ADP-induced P-selectin expression and platelet-leukocyte conjugate formation by clopidogrel and the P2Y₁₂ receptor antagonist AR-C69931MX but not aspirin. *Thromb Haemost* 2002;**88**:488-494.
19. Dangelmaier C, Jin J, Smith JB, Kunapuli SP. Potentiation of thromboxane A₂-induced platelet secretion by G_i signaling through the phosphoinositide-3 kinase pathway. *Thromb Haemost* 2001;**85**:341-348.
20. Andre P, Delaney SM, LaRocca T, Vincent D, Deguzman F, Jurek M, Koller B, Phillips DR, Conley PB. P2Y₁₂ regulates platelet adhesion/activation, thrombus growth, and thrombus stability in injured arteries. *J Clin Invest* 2003;**112**:398-406.
21. Cattaneo M. ADP receptors: inhibitory strategies for antiplatelet therapy. *Drug News Perspect* 2006;**19**:253-259.
22. Gachet C. ADP receptors of platelets and their inhibition. *Thromb Haemost* 2001;**86**:222-232.
23. Kunapuli SP, Dorsam RT, Kim S, Quinton TM. Platelet purinergic receptors. *Curr Opin Pharmacol* 2003;**3**:175-180.
24. Leon C, Ravanat C, Freund M, Cazenave JP, Gachet C. Differential involvement of the P2Y₁ and P2Y₁₂ receptors in platelet procoagulant activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;**23**:1941-1947.
25. Leon C, Alex M, Klocke A, Morgenstern E, Moosbauer C, Eckly A, Spannagl M, Gachet C, Engelmann B. Platelet ADP receptors contribute to the initiation of intravascular coagulation. *Blood* 2004;**103**:594-600.
26. Mahaut-Smith MP, Tolhurst G, Evans RJ. Emerging roles for P2X₁ receptors in platelet activation. *Platelets* 2004;**15**:131-144.
27. Clarke TA, Waskell LA. The metabolism of clopidogrel is catalyzed by human cytochrome P450 3A and is inhibited by atorvastatin. *Drug Metab Dispos* 2003;**31**:53-59.
28. Pereillo JM, Maftouh M, Andrieu A, Uzabiaga MF, Fedeli O, Savi P, Pascal M, Herbert JM, Maffrand JP, Picard C. Structure and stereochemistry of the active metabolite of clopidogrel. *Drug Metab Dispos* 2002;**30**:1288-1295.
29. Taubert D, Kastrati A, Harlfinger S, Gorchakova O, Lazar A, von Beckerath N, Schomig A, Schomig E. Pharmacokinetics of clopidogrel after administration of a high loading dose. *Thromb Haemost* 2004;**92**:311-316.
30. von Beckerath N, Taubert D, Pogatsa-Murray G, Schomig E, Kastrati A, Schomig A. Absorption, metabolization, and antiplatelet effects of 300-, 600-, and 900-mg loading doses of clopidogrel: results of the ISAR-CHOICE (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose Between 3 High Oral Doses for Immediate Clopidogrel Effect) Trial. *Circulation* 2005;**112**:2946-2950.
31. Caplain H, Donat F, Gaud C, Necciari J. Pharmacokinetics of clopidogrel. *Semin Thromb Hemost* 1999;**25 Suppl 2**:25-28.
32. Savi P, Pereillo JM, Uzabiaga MF, Combalbert J, Picard C, Maffrand JP, Pascal M, Herbert JM. Identification and biological activity of the active metabolite of clopidogrel. *Thromb Haemost* 2000;**84**:891-896.

33. Ding Z, Kim S, Dorsam RT, Jin J, Kunapuli SP. Inactivation of the human P2Y₁₂ receptor by thiol reagents requires interaction with both extracellular cysteine residues, Cys17 and Cys270. *Blood* 2003;**101**:3908-3914.
34. Savi P, Laplace MC, Maffrand JP, Herbert JM. Binding of [3H]-2-methylthio ADP to rat platelets--effect of clopidogrel and ticlopidine. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;**269**:772-777.
35. Schroeder WS, Ghobrial L, Gandhi PJ. Possible mechanisms of drug-induced aspirin and clopidogrel resistance. *J Thromb Thrombolysis* 2006;**22**:139-150.
36. Thebault JJ, Kieffer G, Lowe GD, Nimmo WS, Cariou R. Repeated-dose pharmacodynamics of clopidogrel in healthy subjects. *Semin Thromb Hemost* 1999;**25 Suppl 2**:9-14.
37. Thebault JJ, Kieffer G, Cariou R. Single-dose pharmacodynamics of clopidogrel. *Semin Thromb Hemost* 1999;**25 Suppl 2**:3-8.
38. Savcic M, Hauert J, Bachmann F, Wyld PJ, Geudelin B, Cariou R. Clopidogrel loading dose regimens: kinetic profile of pharmacodynamic response in healthy subjects. *Semin Thromb Hemost* 1999;**25 Suppl 2**:15-19.
39. Muller I, Seyfarth M, Rudiger S, Wolf B, Pogatsa-Murray G, Schomig A, Gawaz M. Effect of a high loading dose of clopidogrel on platelet function in patients undergoing coronary stent placement. *Heart* 2001;**85**:92-93.
40. Kandzari DE, Berger PB, Kastrati A, Steinhubl SR, Mehilli J, Dotzer F, Ten Berg JM, Neumann FJ, Bollwein H, Dirschinger J, Schomig A. Influence of treatment duration with a 600-mg dose of clopidogrel before percutaneous coronary revascularization. *J Am Coll Cardiol* 2004;**44**:2133-2136.
41. Quinn MJ, Bhatt DL, Zidar F, Vivekananthan D, Chew DP, Ellis SG, Plow E, Topol EJ. Effect of clopidogrel pretreatment on inflammatory marker expression in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2004;**93**:679-684.
42. Vivekananthan DP, Bhatt DL, Chew DP, Zidar FJ, Chan AW, Moliterno DJ, Ellis SG, Topol EJ. Effect of clopidogrel pretreatment on periprocedural rise in C-reactive protein after percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2004;**94**:358-360.
43. Hermann A, Rauch BH, Braun M, Schror K, Weber AA. Platelet CD40 ligand (CD40L)--subcellular localization, regulation of expression, and inhibition by clopidogrel. *Platelets* 2001;**12**:74-82.
44. Xiao Z, Theroux P. Clopidogrel inhibits platelet-leukocyte interactions and thrombin receptor agonist peptide-induced platelet activation in patients with an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2004;**43**:1982-1988.
45. van der Meijden PE, Feijge MA, Giesen PL, Huijberts M, van Raak LP, Heemskerk JW. Platelet P2Y₁₂ receptors enhance signalling towards procoagulant activity and thrombin generation. A study with healthy subjects and patients at thrombotic risk. *Thromb Haemost* 2005;**93**:1128-1136.
46. Di Nisio M, Bijsterveld NR, Meijers JC, Levi M, Buller HR, Peters RJ. Effects of clopidogrel on the rebound hypercoagulable state after heparin discontinuation in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 2005;**46**:1582-1583.

47. Gurbel PA, Bliden KP, Guyer K, Cho PW, Zaman KA, Kreutz RP, Bassi AK, Tantry US. Platelet reactivity in patients and recurrent events post-stenting: results of the PREPARE POST-STENTING Study. *J Am Coll Cardiol* 2005;**46**:1820-1826.
48. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet* 1996;**348**:1329-1339.
49. Bhatt DL, Marso SP, Hirsch AT, Ringleb PA, Hacke W, Topol EJ. Amplified benefit of clopidogrel versus aspirin in patients with diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2002;**90**:625-628.
50. Bhatt DL, Chew DP, Hirsch AT, Ringleb PA, Hacke W, Topol EJ. Superiority of clopidogrel versus aspirin in patients with prior cardiac surgery. *Circulation* 2001;**103**:363-368.
51. Bhatt DL, Fox KA, Hacke W, Berger PB, Black HR, Boden WE, Cacoub P, Cohen EA, Creager MA, Easton JD, Flather MD, Haffner SM, Hamm CW, Hankey GJ, Johnston SC, Mak KH, Mas JL, Montalescot G, Pearson TA, Steg PG, Steinhubl SR, Weber MA, Brennan DM, Fabry-Ribaud L, Booth J, Topol EJ. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med* 2006;**354**:1706-1717.
52. Steinhubl SR, Berger PB, Mann JTI, Fry ET, DeLago A, Wilmer C, Topol EJ. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002;**288**:2411-2420.
53. Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2001;**345**:494-502.
54. Budaj A, Yusuf S, Mehta SR, Fox KA, Tognoni G, Zhao F, Chrolavicius S, Hunt D, Keltai M, Franzosi MG. Benefit of clopidogrel in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation in various risk groups. *Circulation* 2002;**106**:1622-1626.
55. Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK, Malmberg K, Rupprecht H, Zhao F, Chrolavicius S, Copland I, Fox KA. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *Lancet* 2001;**358**:527-533.
56. Silber S, Albertsson P, Fernandez-Aviles F, Camici PG, Colombo A, Hamm C, Jorgensen E, Marco J, Nordrehaug JE, Ruzyllo W, Urban P, Stone GW, Wijns W. Guidelines for percutaneous coronary interventions. The Task Force for Percutaneous Coronary Interventions of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005;**26**:804-847.
57. Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, Lopez-Sendon JL, Montalescot G, Theroux P, Claeys MJ, Cools F, Hill KA, Skene AM, McCabe CH, Braunwald E. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2005;**352**:1179-1189.
58. Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, Lopez-Sendon JL, Montalescot G, Theroux P, Lewis BS, Murphy SA, McCabe CH, Braunwald E. Effect of clopidogrel pretreatment before percutaneous coronary intervention in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with fibrinolytics: the PCI-CLARITY study. *JAMA* 2005;**294**:1224-1232.

59. Chen ZM, Jiang LX, Chen YP, Xie JX, Pan HC, Peto R, Collins R, Liu LS. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2005;**366**:1607-1621.
60. Hall P, Nakamura S, Maiello L, Itoh A, Blengino S, Martini G, Ferraro M, Colombo A. A randomized comparison of combined ticlopidine and aspirin therapy versus aspirin therapy alone after successful intravascular ultrasound-guided stent implantation. *Circulation* 1996;**93**:215-222.
61. Schomig A, Neumann FJ, Kastrati A, Schuhlen H, Blasini R, Hadamitzky M, Walter H, Zitzmann-Roth EM, Richardt G, Alt E, Schmitt C, Ulm K. A randomized comparison of antiplatelet and anticoagulant therapy after the placement of coronary-artery stents. *N Engl J Med* 1996;**334**:1084-1089.
62. Leon MB, Baim DS, Popma JJ, Gordon PC, Cutlip DE, Ho KK, Giambartolomei A, Diver DJ, Lasorda DM, Williams DO, Pocock SJ, Kuntz RE. A clinical trial comparing three antithrombotic-drug regimens after coronary-artery stenting. Stent Anticoagulation Restenosis Study Investigators. *N Engl J Med* 1998;**339**:1665-1671.
63. Bertrand ME, Legrand V, Boland J, Fleck E, Bonnier J, Emmanuelson H, Vrolix M, Missault L, Chierchia S, Casaccia M, Niccoli L, Oto A, White C, Webb-Peploe M, Van Belle E, McFadden EP. Randomized multicenter comparison of conventional anticoagulation versus antiplatelet therapy in unplanned and elective coronary stenting. The full anticoagulation versus aspirin and ticlopidine (fantastic) study. *Circulation* 1998;**98**:1597-1603.
64. Urban P, Macaya C, Rupprecht HJ, Kiemeneij F, Emanuelsson H, Fontanelli A, Pieper M, Wesseling T, Sagnard L. Randomized evaluation of anticoagulation versus antiplatelet therapy after coronary stent implantation in high-risk patients: the multicenter aspirin and ticlopidine trial after intracoronary stenting (MATTIS). *Circulation* 1998;**98**:2126-2132.
65. Bertrand ME, Rupprecht HJ, Urban P, Gershlick AH. Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting : the clopidogrel aspirin stent international cooperative study (CLASSICS). *Circulation* 2000;**102**:624-629.
66. Taniuchi M, Kurz HI, Lasala JM. Randomized comparison of ticlopidine and clopidogrel after intracoronary stent implantation in a broad patient population. *Circulation* 2001;**104**:539-543.
67. Muller C, Buttner HJ, Petersen J, Roskamm H. A randomized comparison of clopidogrel and aspirin versus ticlopidine and aspirin after the placement of coronary-artery stents. *Circulation* 2000;**101**:590-593.
68. Calver AL, Blows LJ, Harmer S, Dawkins KD, Gray HH, Morgan JH, Simpson IA. Clopidogrel for prevention of major cardiac events after coronary stent implantation: 30-day and 6-month results in patients with smaller stents. *Am Heart J* 2000;**140**:483-491.
69. Moussa I, Oetgen M, Roubin G, Colombo A, Wang X, Iyer S, Maida R, Collins M, Kreps E, Moses JW. Effectiveness of clopidogrel and aspirin versus ticlopidine and aspirin in preventing stent thrombosis after coronary stent implantation. *Circulation* 1999;**99**:2364-2366.

70. Bhatt DL, Bertrand ME, Berger PB, L'Allier PL, Moussa I, Moses JW, Dangas G, Taniuchi M, Lasala JM, Holmes DR, Ellis SG, Topol EJ. Meta-analysis of randomized and registry comparisons of ticlopidine with clopidogrel after stenting. *J Am Coll Cardiol* 2002;**39**:9-14.
71. Berger PB, Bell MR, Rihal CS, Ting H, Barsness G, Garratt K, Bellot V, Mathew V, Melby S, Hammes L, Grill D, Holmes DR, Jr. Clopidogrel versus ticlopidine after intracoronary stent placement. *J Am Coll Cardiol* 1999;**34**:1891-1894.
72. Mishkel GJ, Aguirre FV, Ligon RW, Rocha-Singh KJ, Lucore CL. Clopidogrel as adjunctive antiplatelet therapy during coronary stenting. *J Am Coll Cardiol* 1999;**34**:1884-1890.
73. Patti G, Colonna G, Pasceri V, Pepe LL, Montinaro A, Di Sciascio G. Randomized trial of high loading dose of clopidogrel for reduction of periprocedural myocardial infarction in patients undergoing coronary intervention: results from the ARMYDA-2 (Antiplatelet therapy for Reduction of MYocardial Damage during Angioplasty) study. *Circulation* 2005;**111**:2099-2106.
74. Montalescot G, Sideris G, Meuleman C, Bal dit Sollier C, Lellouche N, Steg PG, Slama M, Milleron O, Collet JP, Henry P, Beygui F, Drouet L. A randomized comparison of high clopidogrel loading doses in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: the ALBION (Assessment of the Best Loading Dose of Clopidogrel to Blunt Platelet Activation, Inflammation and Ongoing Necrosis) trial. *J Am Coll Cardiol* 2006;**48**:931-938.
75. Kastrati A, Mehilli J, Schuhlen H, Dirschinger J, Dotzer F, Ten Berg JM, Neumann FJ, Bollwein H, Volmer C, Gawaz M, Berger PB, Schomig A. A clinical trial of abciximab in elective percutaneous coronary intervention after pretreatment with clopidogrel. *N Engl J Med* 2004;**350**:232-238.
76. Mehilli J, Kastrati A, Schuhlen H, Dibra A, Dotzer F, von Beckerath N, Bollwein H, Pache J, Dirschinger J, Berger PP, Schomig A. Randomized clinical trial of abciximab in diabetic patients undergoing elective percutaneous coronary interventions after treatment with a high loading dose of clopidogrel. *Circulation* 2004;**110**:3627-3635.
77. Hausleiter J, Kastrati A, Mehilli J, Schuhlen H, Pache J, Dotzer F, Glatthor C, Siebert S, Dirschinger J, Schomig A. A randomized trial comparing phosphorylcholine-coated stenting with balloon angioplasty as well as abciximab with placebo for restenosis reduction in small coronary arteries. *J Intern Med* 2004;**256**:388-397.
78. Gawaz M, Seyfarth M, Muller I, Rudiger S, Pogatsa-Murray G, Wolf B, Schomig A. Comparison of effects of clopidogrel versus ticlopidine on platelet function in patients undergoing coronary stent placement. *Am J Cardiol* 2001;**87**:332-6, A9.
79. Dalby M, Montalescot G, Bal dit Sollier C, Vicaut E, Soulat T, Collet JP, Choussat R, Gallois V, Drobinski G, Drouet L, Thomas D. Eptifibatide provides additional platelet inhibition in non-ST-elevation myocardial infarction patients already treated with aspirin and clopidogrel. Results of the platelet activity extinction in non-Q-wave myocardial infarction with aspirin, clopidogrel, and eptifibatide (PEACE) study. *J Am Coll Cardiol* 2004;**43**:162-168.
80. Dudek D, Dziewierz A, Legutko J, Rzeszutko L, Bartus S, Rakowski T, Mielecki W, Dubiel JS. Additional effect of eptifibatide on platelet aggregation inhibition in patients with high-risk non-

- ST-elevation acute coronary syndromes pretreated with aspirin and clopidogrel. *Eur Heart J* 2005;**25** (Abstract Supplement):297 (P1728).
81. Gurbel PA, Bliden KP, Zaman KA, Yoho JA, Hayes KM, Tantry US. Clopidogrel loading with eptifibatide to arrest the reactivity of platelets: results of the Clopidogrel Loading With Eptifibatide to Arrest the Reactivity of Platelets (CLEAR PLATELETS) study. *Circulation* 2005;**111**:1153-1159.
 82. Kastrati A, Mehilli J, Neumann FJ, Dotzer F, Ten Berg J, Bollwein H, Graf I, Ibrahim M, Pache J, Seyfarth M, Schuhlen H, Dirschinger J, Berger PB, Schomig A. Abciximab in patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention after clopidogrel pretreatment: the ISAR-REACT 2 randomized trial. *JAMA* 2006;**295**:1531-1538.
 83. Kastrati A, von Beckerath N, Joost A, Pogatsa-Murray G, Gorchakova O, Schomig A. Loading with 600 mg clopidogrel in patients with coronary artery disease with and without chronic clopidogrel therapy. *Circulation* 2004;**110**:1916-1919.
 84. Moliterno DJ, Steinhubl SR. Clopidogrel for percutaneous coronary revascularization: time for more pretreatment, retreatment, or both? *JAMA* 2005;**294**:1271-1273.
 85. von Beckerath N., Kastrati A, Wiecek A, Pogatsa-Murray G, Sibbing D, Graf I, Schomig A. A double-blind, randomized study on platelet aggregation in patients treated with a daily dose of 150 or 75 mg of clopidogrel for 30 days. *Eur Heart J* 2007.
 86. Angiolillo DJ, Shoemaker SB, Desai B, Yuan H, Charlton RK, Bernardo E, Zenni MM, Guzman LA, Bass TA, Costa MA. Randomized comparison of a high clopidogrel maintenance dose in patients with diabetes mellitus and coronary artery disease: results of the Optimizing Antiplatelet Therapy in Diabetes Mellitus (OPTIMUS) study. *Circulation* 2007;**115**:708-716.
 87. Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. *Nature* 1962;**194**:927-929.
 88. O'Brien JR. Platelet function tests and thrombosis. *Adv Exp Med Biol* 1972;**34**:43-54.
 89. Michelson AD. Platelet function testing in cardiovascular diseases. *Circulation* 2004;**110**:e489-e493.
 90. Gurbel PA, Bliden KP. A new method of representing drug-induced platelet inhibition: better description of time course, response variability, non-response, and heightened activity. *Platelets* 2003;**14**:481-483.
 91. Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, Shechter M, Bienart R, Goldenberg I, Novikov I, Pres H, Savion N, Varon D, Hod H. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;**109**:3171-3175.
 92. Gurbel PA, Bliden KP, Samara W, Yoho JA, Hayes K, Fissaha MZ, Tantry US. Clopidogrel effect on platelet reactivity in patients with stent thrombosis: results of the CREST Study. *J Am Coll Cardiol* 2005;**46**:1827-1832.
 93. Ajzenberg N, Aubry P, Huisse MG, Cachier A, El Amara W, Feldman LJ, Himbert D, Baruch D, Guillin MC, Steg PG. Enhanced shear-induced platelet aggregation in patients who experience subacute stent thrombosis: a case-control study. *J Am Coll Cardiol* 2005;**45**:1753-1756.

94. Barragan P, Bouvier JL, Roquebert PO, Macaluso G, Commeau P, Comet B, Lafont A, Camoin L, Walter U, Eigenthaler M. Resistance to thienopyridines: clinical detection of coronary stent thrombosis by monitoring of vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation. *Catheter Cardiovasc Interv* 2003;**59**:295-302.
95. Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2003;**41**:961-965.
96. Mueller MR, Salat A, Stangl P, Murabito M, Pulaki S, Boehm D, Koppensteiner R, Ergun E, Mittlboeck M, Schreiner W, Losert U, Wolner E. Variable platelet response to low-dose ASA and the risk of limb deterioration in patients submitted to peripheral arterial angioplasty. *Thromb Haemost* 1997;**78**:1003-1007.
97. Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation* 2003;**107**:2908-2913.
98. Almsherqi ZA, McLachan C, Deng Y. Interpretation of clopidogrel resistance. *Kardiol Pol* 2005;**63**:447-448.
99. Schwarz UR, Geiger J, Walter U, Eigenthaler M. Flow cytometry analysis of intracellular VASP phosphorylation for the assessment of activating and inhibitory signal transduction pathways in human platelets--definition and detection of ticlopidine/clopidogrel effects. *Thromb Haemost* 1999;**82**:1145-1152.
100. Aleil B, Ravanat C, Cazenave JP, Rochoux G, Heitz A, Gachet C. Flow cytometric analysis of intraplatelet VASP phosphorylation for the detection of clopidogrel resistance in patients with ischemic cardiovascular diseases. *J Thromb Haemost* 2005;**3**:85-92.
101. VAN Werkum JW, VAN DER Stelt CA, Seesing TH, Hackeng CM, Ten Berg JM. A head-to-head comparison between the VerifyNow P2Y12 assay and light transmittance aggregometry for monitoring the individual platelet response to clopidogrel in patients undergoing elective percutaneous coronary intervention. *J Thromb Haemost* 2006;**4**:2516-2518.
102. Malinin A, Pokov A, Swaim L, Kotob M, Serebruany V. Validation of a VerifyNow-P2Y12 cartridge for monitoring platelet inhibition with clopidogrel. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2006;**28**:315-322.
103. Steinhubl SR, Talley JD, Braden GA, Tcheng JE, Casterella PJ, Moliterno DJ, Navetta FI, Berger PB, Popma JJ, Dangas G, Gallo R, Sane DC, Saucedo JF, Jia G, Lincoff AM, Theroux P, Holmes DR, Teirstein PS, Kereiakes DJ. Point-of-care measured platelet inhibition correlates with a reduced risk of an adverse cardiac event after percutaneous coronary intervention: results of the GOLD (AU-Assessing Ultegra) multicenter study. *Circulation* 2001;**103**:2572-2578.
104. Chen WH, Lee PY, Ng W, Tse HF, Lau CP. Aspirin resistance is associated with a high incidence of myonecrosis after non-urgent percutaneous coronary intervention despite clopidogrel pretreatment. *J Am Coll Cardiol* 2004;**43**:1122-1126.
105. Craft RM, Chavez JJ, Snider CC, Muenchen RA, Carroll RC. Comparison of modified Thrombelastograph and Plateletworks whole blood assays to optical platelet aggregation for

- monitoring reversal of clopidogrel inhibition in elective surgery patients. *J Lab Clin Med* 2005;**145**:309-315.
106. Mobley JE, Bresee SJ, Wortham DC, Craft RM, Snider CC, Carroll RC. Frequency of nonresponse antiplatelet activity of clopidogrel during pretreatment for cardiac catheterization. *Am J Cardiol* 2004;**93**:456-458.
 107. Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haas NF, Taite BB, Szalony JA, Page JD, Feigen LP, Lansky DM, Salyers AK. Assessment of platelet function assays. *Am Heart J* 1998;**135**:S170-S178.
 108. Dziewierz A, Dudek D, Heba G, Rakowski T, Mielecki W, Dubiel JS. Inter-individual variability in response to clopidogrel in patients with coronary artery disease. *Kardiol Pol* 2005;**62**:108-117.
 109. Craft RM, Chavez JJ, Bresee SJ, Wortham DC, Cohen E, Carroll RC. A novel modification of the Thrombelastograph assay, isolating platelet function, correlates with optical platelet aggregation. *J Lab Clin Med* 2004;**143**:301-309.
 110. Tantry US, Bliden KP, Gurbel PA. Overestimation of platelet aspirin resistance detection by thrombelastograph platelet mapping and validation by conventional aggregometry using arachidonic acid stimulation. *J Am Coll Cardiol* 2005;**46**:1705-1709.
 111. Bliden KP, DiChiara J, Tantry US, Bassi AK, Chaganti SK, Gurbel PA. Increased risk in patients with high platelet aggregation receiving chronic clopidogrel therapy undergoing percutaneous coronary intervention: is the current antiplatelet therapy adequate? *J Am Coll Cardiol* 2007;**49**:657-666.
 112. Lev EI, Ramchandani M, Garg R, Wojciechowski Z, Builes A, Vaduganathan M, Tripathy U, Kleiman NS. Response to aspirin and clopidogrel in patients scheduled to undergo cardiovascular surgery. *J Thromb Thrombolysis* 2007.
 113. Varon D, Lashevski I, Brenner B, Beyar R, Lanir N, Tamarin I, Savion N. Cone and plate(let) analyzer: monitoring glycoprotein IIb/IIIa antagonists and von Willebrand disease replacement therapy by testing platelet deposition under flow conditions. *Am Heart J* 1998;**135**:S187-S193.
 114. Osende JJ, Fuster V, Lev EI, Shimbo D, Rauch U, Marmur JD, Richard M, Varon D, Badimon JJ. Testing platelet activation with a shear-dependent platelet function test versus aggregation-based tests: relevance for monitoring long-term glycoprotein IIb/IIIa inhibition. *Circulation* 2001;**103**:1488-1491.
 115. Shenkman B, Schneiderman J, Tamarin I, Kotev-Emeth S, Savion N, Varon D. Testing the effect of GPIIb-IIIa antagonist in patients undergoing carotid stenting: correlation between standard aggregometry, flow cytometry and the cone and plate(let) analyzer (CPA) methods. *Thromb Res* 2001;**102**:311-317.
 116. Carcao MD, Blanchette VS, Stephens D, He L, Wakefield CD, Butchart S, Christie DJ, Rand ML. Assessment of thrombocytopenic disorders using the Platelet Function Analyzer (PFA-100). *Br J Haematol* 2002;**117**:961-964.
 117. Jilma B. Platelet function analyzer (PFA-100): a tool to quantify congenital or acquired platelet dysfunction. *J Lab Clin Med* 2001;**138**:152-163.

118. Cattaneo M, Federici AB, Lecchi A, Agati B, Lombardi R, Stabile F, Bucciarelli P. Evaluation of the PFA-100 system in the diagnosis and therapeutic monitoring of patients with von Willebrand disease. *Thromb Haemost* 1999;**82**:35-39.
119. Huczek Z, Filipiak KJ, Kochman J, Horszczaruk GJ, Piatkowski R, Grabowski M, Karpinski G, Wilczynska J, Opolski G. [Patient with stable ischaemic heart disease and essential thrombocythemia in Invasive Cardiology Laboratory -- role of the automated systems for estimation of platelet aggregation]. *Kardiol Pol* 2004;**61**:370-373.
120. Haubelt H, Anders C, Vogt A, Hoerd P, Seyfert UT, Hellstern P. Variables influencing Platelet Function Analyzer-100 closure times in healthy individuals. *Br J Haematol* 2005;**130**:759-767.
121. Frossard M, Fuchs I, Leitner JM, Hsieh K, Vlcek M, Losert H, Domanovits H, Schreiber W, Laggner AN, Jilma B. Platelet function predicts myocardial damage in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;**110**:1392-1397.
122. Andersen K, Hurlen M, Arnesen H, Seljeflot I. Aspirin non-responsiveness as measured by PFA-100 in patients with coronary artery disease. *Thromb Res* 2002;**108**:37-42.
123. Jilma B, Fuchs I. Detecting aspirin resistance with the platelet function analyzer (PFA-100). *Am J Cardiol* 2001;**88**:1348-1349.
124. Coma-Canella I, Velasco A, Castano S. Prevalence of aspirin resistance measured by PFA-100. *Int J Cardiol* 2005;**101**:71-76.
125. Golanski J, Pluta J, Baraniak J, Watala C. Limited usefulness of the PFA-100 for the monitoring of ADP receptor antagonists--in vitro experience. *Clin Chem Lab Med* 2004;**42**:25-29.
126. Lepantalo A, Virtanen KS, Heikkila J, Wartiovaara U, Lassila R. Limited early antiplatelet effect of 300 mg clopidogrel in patients with aspirin therapy undergoing percutaneous coronary interventions. *Eur Heart J* 2004;**25**:476-483.
127. Hayward CP, Harrison P, Cattaneo M, Ortel TL, Rao AK. Platelet function analyzer (PFA)-100 closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function. *J Thromb Haemost* 2006;**4**:312-319.
128. Madan M, Berkowitz SD, Christie DJ, Smit AC, Sigmon KN, Tchong JE. Determination of platelet aggregation inhibition during percutaneous coronary intervention with the platelet function analyzer PFA-100. *Am Heart J* 2002;**144**:151-158.
129. Madan M, Berkowitz SD, Christie DJ, Jennings LK, Smit AC, Sigmon KN, Glazer S, Tchong JE. Rapid assessment of glycoprotein IIb/IIIa blockade with the platelet function analyzer (PFA-100) during percutaneous coronary intervention. *Am Heart J* 2001;**141**:226-233.
130. Toth O, Calatzis A, Penz S, Losonczy H, Siess W. Multiple electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood. *Thromb Haemost* 2006;**96**:781-788.
131. Gurbel PA, Cummings CC, Bell CR, Alford AB, Meister AF, Serebruany VL. Onset and extent of platelet inhibition by clopidogrel loading in patients undergoing elective coronary stenting: the Plavix Reduction Of New Thrombus Occurrence (PRONTO) trial. *Am Heart J* 2003;**145**:239-247.

132. Gurbel PA, Bliden KP, Hayes KM, Yoho JA, Herzog WR, Tantry US. The relation of dosing to clopidogrel responsiveness and the incidence of high post-treatment platelet aggregation in patients undergoing coronary stenting. *J Am Coll Cardiol* 2005;**45**:1392-1396.
133. Muller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schonig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost* 2003;**89**:783-787.
134. Jaremo P, Lindahl TL, Fransson SG, Richter A. Individual variations of platelet inhibition after loading doses of clopidogrel. *J Intern Med* 2002;**252**:233-238.
135. Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB, Malinin AI, Bhatt DL, Topol EJ. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. *J Am Coll Cardiol* 2005;**45**:246-251.
136. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Barrera-Ramirez C, Sabate M, Hernandez R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Banuelos C, Costa MA, Bass TA, Macaya C. Identification of low responders to a 300-mg clopidogrel loading dose in patients undergoing coronary stenting. *Thromb Res* 2005;**115**:101-108.
137. Wenaweser P, Hess O. Stent thrombosis is associated with an impaired response to antiplatelet therapy. *J Am Coll Cardiol* 2005;**46**:CS5-CS6.
138. Geisler T, Langer H, Wydymus M, Gohring K, Zurn C, Bigalke B, Stellos K, May AE, Gawaz M. Low response to clopidogrel is associated with cardiovascular outcome after coronary stent implantation. *Eur Heart J* 2006;**27**:2420-2425.
139. Hochholzer W, Trenk D, Bestehorn HP, Fischer B, Valina CM, Ferenc M, Gick M, Caputo A, Buttner HJ, Neumann FJ. Impact of the degree of peri-interventional platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective coronary stent placement. *J Am Coll Cardiol* 2006;**48**:1742-1750.
140. Nguyen TA, Diodati JG, Pharand C. Resistance to clopidogrel: a review of the evidence. *J Am Coll Cardiol* 2005;**45**:1157-1164.
141. Nguyen T, Frishman WH, Nawarskas J, Lerner RG. Variability of response to clopidogrel: possible mechanisms and clinical implications. *Cardiol Rev* 2006;**14**:136-142.
142. Wiviott SD, Antman EM. Clopidogrel resistance: a new chapter in a fast-moving story. *Circulation* 2004;**109**:3064-3067.
143. Spertus JA, Kettelkamp R, Vance C, Decker C, Jones PG, Rumsfeld JS, Messenger JC, Khanal S, Peterson ED, Bach RG, Krumholz HM, Cohen DJ. Prevalence, predictors, and outcomes of premature discontinuation of thienopyridine therapy after drug-eluting stent placement: results from the PREMIER registry. *Circulation* 2006;**113**:2803-2809.
144. Iakovou I, Schmidt T, Bonizzoni E, Ge L, Sangiorgi GM, Stankovic G, Airolidi F, Chieffo A, Montorfano M, Carlino M, Michev I, Corvaja N, Briguori C, Gerckens U, Grube E, Colombo A. Incidence, predictors, and outcome of thrombosis after successful implantation of drug-eluting stents. *JAMA* 2005;**293**:2126-2130.
145. Kaluza GL, Joseph J, Lee JR, Raizner ME, Raizner AE. Catastrophic outcomes of noncardiac surgery soon after coronary stenting. *J Am Coll Cardiol* 2000;**35**:1288-1294.

146. Sharma AK, Ajani AE, Hamwi SM, Maniar P, Lakhani SV, Waksman R, Lindsay J. Major noncardiac surgery following coronary stenting: when is it safe to operate? *Catheter Cardiovasc Interv* 2004;**63**:141-145.
147. Lau WC, Waskell LA, Watkins PB, Neer CJ, Horowitz K, Hopp AS, Tait AR, Carville DG, Guyer KE, Bates ER. Atorvastatin reduces the ability of clopidogrel to inhibit platelet aggregation: a new drug-drug interaction. *Circulation* 2003;**107**:32-37.
148. Transon C, Leemann T, Dayer P. In vitro comparative inhibition profiles of major human drug metabolising cytochrome P450 isozymes (CYP2C9, CYP2D6 and CYP3A4) by HMG-CoA reductase inhibitors. *Eur J Clin Pharmacol* 1996;**50**:209-215.
149. Williams D, Feely J. Pharmacokinetic-pharmacodynamic drug interactions with HMG-CoA reductase inhibitors. *Clin Pharmacokinet* 2002;**41**:343-370.
150. Jacobsen W, Kuhn B, Soldner A, Kirchner G, Sewing KF, Kollman PA, Benet LZ, Christians U. Lactonization is the critical first step in the disposition of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitor atorvastatin. *Drug Metab Dispos* 2000;**28**:1369-1378.
151. Neubauer H, Gunesdogan B, Hanefeld C, Spiecker M, Mugge A. Lipophilic statins interfere with the inhibitory effects of clopidogrel on platelet function--a flow cytometry study. *Eur Heart J* 2003;**24**:1744-1749.
152. Serebruany VL, Malinin AI, Callahan KP, Gurbel PA, Steinhubl SR. Statins do not affect platelet inhibition with clopidogrel during coronary stenting. *Atherosclerosis* 2001;**159**:239-241.
153. Saw J, Steinhubl SR, Berger PB, Kereiakes DJ, Serebruany VL, Brennan D, Topol EJ. Lack of adverse clopidogrel-atorvastatin clinical interaction from secondary analysis of a randomized, placebo-controlled clopidogrel trial. *Circulation* 2003;**108**:921-924.
154. Wienbergen H, Gitt AK, Schiele R, Juenger C, Heer T, Meisenzahl C, Limbourg P, Bossaller C, Senges J. Comparison of clinical benefits of clopidogrel therapy in patients with acute coronary syndromes taking atorvastatin versus other statin therapies. *Am J Cardiol* 2003;**92**:285-288.
155. Muller I, Besta F, Schulz C, Li Z, Massberg S, Gawaz M. Effects of statins on platelet inhibition by a high loading dose of clopidogrel. *Circulation* 2003;**108**:2195-2197.
156. Gorchakova O, von Beckerath N, Gawaz M, Mocz A, Joost A, Schomig A, Kastrati A. Antiplatelet effects of a 600 mg loading dose of clopidogrel are not attenuated in patients receiving atorvastatin or simvastatin for at least 4 weeks prior to coronary artery stenting. *Eur Heart J* 2004;**25**:1898-1902.
157. Mitsios JV, Papathanasiou AI, Rodis FI, Elisaf M, Goudevenos JA, Tselepis AD. Atorvastatin does not affect the antiplatelet potency of clopidogrel when it is administered concomitantly for 5 weeks in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2004;**109**:1335-1338.
158. Mitsios JV, Papathanasiou AI, Elisaf M, Goudevenos JA, Tselepis AD. The inhibitory potency of clopidogrel on ADP-induced platelet activation is not attenuated when it is co-administered with atorvastatin (20 mg/day) for 5 weeks in patients with acute coronary syndromes. *Platelets* 2005;**16**:287-292.
159. Serebruany VL, Midei MG, Malinin AI, Oshrine BR, Lowry DR, Sane DC, Tanguay JF, Steinhubl SR, Berger PB, O'Connor CM, Hennekens CH. Absence of interaction between

- atorvastatin or other statins and clopidogrel: results from the interaction study. *Arch Intern Med* 2004;**164**:2051-2057.
160. Conley PB, Delaney SM. Scientific and therapeutic insights into the role of the platelet P2Y₁₂ receptor in thrombosis. *Curr Opin Hematol* 2003;**10**:333-338.
 161. Fontana P, Dupont A, Gandrille S, Bachelot-Loza C, Reny JL, Aiach M, Gaussem P. Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation is associated with P2Y₁₂ gene sequence variations in healthy subjects. *Circulation* 2003;**108**:989-995.
 162. Fontana P, Gaussem P, Aiach M, Fiessinger JN, Emmerich J, Reny JL. P2Y₁₂ H2 haplotype is associated with peripheral arterial disease: a case-control study. *Circulation* 2003;**108**:2971-2973.
 163. Lau WC, Gurbel PA, Watkins PB, Neer CJ, Hopp AS, Carville DG, Guyer KE, Tait AR, Bates ER. Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of clopidogrel resistance. *Circulation* 2004;**109**:166-171.
 164. Lamba JK, Lin YS, Schuetz EG, Thummel KE. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Adv Drug Deliv Rev* 2002;**54**:1271-1294.
 165. Wojnowski L. Genetics of the variable expression of CYP3A in humans. *Ther Drug Monit* 2004;**26**:192-199.
 166. Xie HG, Wood AJ, Kim RB, Stein CM, Wilkinson GR. Genetic variability in CYP3A5 and its possible consequences. *Pharmacogenomics* 2004;**5**:243-272.
 167. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Cavallari U, Trabetti E, Sabate M, Hernandez R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Banuelos C, Costa MA, Bass TA, Pignatti PF, Macaya C. Contribution of gene sequence variations of the hepatic cytochrome P450 3A4 enzyme to variability in individual responsiveness to clopidogrel. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;**26**:1895-1900.
 168. Suh JW, Koo BK, Zhang SY, Park KW, Cho JY, Jang IJ, Lee DS, Sohn DW, Lee MM, Kim HS. Increased risk of atherothrombotic events associated with cytochrome P450 3A5 polymorphism in patients taking clopidogrel. *CMAJ* 2006;**174**:1715-1722.
 169. Lim E, Cornelissen J, Routledge T, Kirtland S, Charman SC, Bellm S, Munday H, Khan O, Masood I, Large S. Clopidogrel did not inhibit platelet function early after coronary bypass surgery: A prospective randomized trial. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;**128**:432-435.
 170. Gurbel PA, Tantry US. Drug insight: Clopidogrel nonresponsiveness. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;**3**:387-395.
 171. Rand ML, Leung R, Packham MA. Platelet function assays. *Transfus Apher Sci* 2003;**28**:307-317.
 172. Gurbel PA, Bliden KP. Durability of platelet inhibition by clopidogrel. *Am J Cardiol* 2003;**91**:1123-1125.
 173. Seyfarth HJ, Kokschi M, Roethig G, Rother T, Neugebauer A, Klein N, Pfeiffer D. Effect of 300- and 450-mg clopidogrel loading doses on membrane and soluble P-selectin in patients undergoing coronary stent implantation. *Am Heart J* 2002;**143**:118-123.

174. O'Donnell CJ, Larson MG, Feng D, Sutherland PA, Lindpaintner K, Myers RH, D'Agostino RA, Levy D, Tofler GH. Genetic and environmental contributions to platelet aggregation: the Framingham heart study. *Circulation* 2001;**103**:3051-3056.
175. Serebruany VL, Lowry DR, Fuzailov SY, Levine DJ, O'Connor CM, Gurbel PA. Moderate alcohol consumption is associated with decreased platelet activity in patients presenting with acute myocardial infarction. *J Thromb Thrombolysis* 2000;**9**:229-234.
176. Soffer D, Moussa I, Harjai KJ, Boura JA, Dixon SR, Grines CL, O'Neill WW, Roubin GS, Moses JW. Impact of angina class on inhibition of platelet aggregation following clopidogrel loading in patients undergoing coronary intervention: do we need more aggressive dosing regimens in unstable angina? *Catheter Cardiovasc Interv* 2003;**59**:21-25.
177. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Barrera RC, Sabate M, Fernandez C, Hernandez-Antolin R, Escaned J, Alfonso F, Macaya C. Platelet aggregation according to body mass index in patients undergoing coronary stenting: should clopidogrel loading-dose be weight adjusted? *J Invasive Cardiol* 2004;**16**:169-174.
178. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Sabate M, Jimenez-Quevedo P, Hernandez R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Banuelos C, Costa MA, Bass TA, Macaya C. Platelet function profiles in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease on combined aspirin and clopidogrel treatment. *Diabetes* 2005;**54**:2430-2435.
179. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, Joyal SV, Hill KA, Pfeffer MA, Skene AM. Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2004;**350**:1495-1504.
180. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002;**360**:7-22.
181. Bates ER, Mukherjee D, Lau WC. Drug-drug interactions involving antiplatelet agents. *Eur Heart J* 2003;**24**:1707-1709.
182. Samara WM, Bliden KP, Tantry US, Gurbel PA. The difference between clopidogrel responsiveness and posttreatment platelet reactivity. *Thromb Res* 2005;**115**:89-94.
183. 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**:597-598.
184. Cuisset T, Frere C, Quilici J, Barbou F, Morange PE, Hovasse T, Bonnet JL, Alessi MC. High post-treatment platelet reactivity identified low-responders to dual antiplatelet therapy at increased risk of recurrent cardiovascular events after stenting for acute coronary syndrome. *J Thromb Haemost* 2006;**4**:542-549.
185. Lev EI, Patel RT, Maresh KJ, Guthikonda S, Granada J, DeLao T, Bray PF, Kleiman NS. Aspirin and clopidogrel drug response in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the role of dual drug resistance. *J Am Coll Cardiol* 2006;**47**:27-33.
186. Cuisset T, Frere C, Quilici J, Morange PE, Nait-Saidi L, Mielot C, Bali L, Lambert M, Alessi MC, Bonnet JL. High post-treatment platelet reactivity is associated with a high incidence of

- myonecrosis after stenting for non-ST elevation acute coronary syndromes. *Thromb Haemost* 2007;**97**:282-287.
187. Brener SJ, Lytle BW, Schneider JP, Ellis SG, Topol EJ. Association between CK-MB elevation after percutaneous or surgical revascularization and three-year mortality. *J Am Coll Cardiol* 2002;**40**:1961-1967.
 188. Brener SJ, Ellis SG, Schneider J, Topol EJ. Frequency and long-term impact of myonecrosis after coronary stenting. *Eur Heart J* 2002;**23**:869-876.
 189. Kong TQ, Davidson CJ, Meyers SN, Tauke JT, Parker MA, Bonow RO. Prognostic implication of creatine kinase elevation following elective coronary artery interventions. *JAMA* 1997;**277**:461-466.
 190. Simoons ML, van den Brand M, Lincoff M, Harrington R, van der Wieken R, Vahanian A, Rutsch W, Kootstra J, Boersma E, Califf RM, Topol E. Minimal myocardial damage during coronary intervention is associated with impaired outcome. *Eur Heart J* 1999;**20**:1112-1119.
 191. Kinnaird TD, Stabile E, Mintz GS, Lee CW, Canos DA, Gevorkian N, Pinnow EE, Kent KM, Pichard AD, Satler LF, Weissman NJ, Lindsay J, Fuchs S. Incidence, predictors, and prognostic implications of bleeding and blood transfusion following percutaneous coronary interventions. *Am J Cardiol* 2003;**92**:930-935.
 192. Rao SV, O'Grady K, Pieper KS, Granger CB, Newby LK, Van de Werf F, Mahaffey KW, Califf RM, Harrington RA. Impact of bleeding severity on clinical outcomes among patients with acute coronary syndromes. *Am J Cardiol* 2005;**96**:1200-1206.
 193. Tamberella MR, Bhatt DL, Chew DP, Kereiakes DJ, Topol EJ, Steinhubl SR. Relation of platelet inactivation with intravenous glycoprotein IIb/IIIa antagonists to major bleeding (from the GOLD study). *Am J Cardiol* 2002;**89**:1429-1431.
 194. O'Donoghue M, Wiviott SD. Clopidogrel response variability and future therapies: clopidogrel: does one size fit all? *Circulation* 2006;**114**:e600-e606.
 195. von Mach MA, Eich A, Weilemann LS, Munzel T. Subacute coronary stent thrombosis in a patient developing clopidogrel associated thrombotic thrombocytopenic purpura. *Heart* 2005;**91**:e14.
 196. Moussa I, Di Mario C, Reimers B, Akiyama T, Tobis J, Colombo A. Subacute stent thrombosis in the era of intravascular ultrasound-guided coronary stenting without anticoagulation: frequency, predictors and clinical outcome. *J Am Coll Cardiol* 1997;**29**:6-12.
 197. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Sabate M, Banuelos C, Hernandez-Antolin R, Escaned J, Moreno R, Alfonso F, Macaya C. High clopidogrel loading dose during coronary stenting: effects on drug response and interindividual variability. *Eur Heart J* 2004;**25**:1903-1910.
 198. Gurbel PA, Bliden KP, Tantry US. Effect of clopidogrel with and without eptifibatide on tumor necrosis factor- α and C-reactive protein release after elective stenting: results from the CLEAR PLATELETS 1b study. *J Am Coll Cardiol* 2006;**48**:2186-2191.
 199. Smith SC, Jr., Feldman TE, Hirshfeld JW, Jr., Jacobs AK, Kern MJ, King SB, III, Morrison DA, O'Neill WW, Schaff HV, Whitlow PL, Williams DO, Antman EM, Smith SC, Jr., Adams CD,

- Anderson JL, Faxon DP, Fuster V, Halperin JL, Hiratzka LF, Hunt SA, Jacobs AK, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Riegel B. ACC/AHA/SCAI 2005 Guideline Update for Percutaneous Coronary Intervention-Summary Article: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/SCAI Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention). *J Am Coll Cardiol* 2006;**47**:216-235.
200. Brandt JT, Payne CD, Wiviott SD, Weerakkody G, Farid NA, Small DS, Jakubowski JA, Naganuma H, Winters KJ. A comparison of prasugrel and clopidogrel loading doses on platelet function: magnitude of platelet inhibition is related to active metabolite formation. *Am Heart J* 2007;**153**:66-16.
 201. Niitsu Y, Jakubowski JA, Sugidachi A, Asai F. Pharmacology of CS-747 (prasugrel, LY640315), a novel, potent antiplatelet agent with in vivo P2Y₁₂ receptor antagonist activity. *Semin Thromb Hemost* 2005;**31**:184-194.
 202. Jernberg T, Payne CD, Winters KJ, Darstein C, Brandt JT, Jakubowski JA, Naganuma H, Siegbahn A, Wallentin L. Prasugrel achieves greater inhibition of platelet aggregation and a lower rate of non-responders compared with clopidogrel in aspirin-treated patients with stable coronary artery disease. *Eur Heart J* 2006;**27**:1166-1173.
 203. Wiviott SD, Antman EM, Winters KJ, Weerakkody G, Murphy SA, Behounek BD, Carney RJ, Lazzam C, McKay RG, McCabe CH, Braunwald E. Randomized comparison of prasugrel (CS-747, LY640315), a novel thienopyridine P2Y₁₂ antagonist, with clopidogrel in percutaneous coronary intervention: results of the Joint Utilization of Medications to Block Platelets Optimally (JUMBO)-TIMI 26 trial. *Circulation* 2005;**111**:3366-3373.
 204. Husted S, Emanuelsson H, Heptinstall S, Sandset PM, Wickens M, Peters G. Pharmacodynamics, pharmacokinetics, and safety of the oral reversible P2Y₁₂ antagonist AZD6140 with aspirin in patients with atherosclerosis: a double-blind comparison to clopidogrel with aspirin. *Eur Heart J* 2006;**27**:1038-1047.
 205. Storey RF, Wilcox RG, Heptinstall S. Comparison of the pharmacodynamic effects of the platelet ADP receptor antagonists clopidogrel and AR-C69931MX in patients with ischaemic heart disease. *Platelets* 2002;**13**:407-413.
 206. Jacobsson F, Swahn E, Wallentin L, Ellborg M. Safety profile and tolerability of intravenous AR-C69931MX, a new antiplatelet drug, in unstable angina pectoris and non-Q-wave myocardial infarction. *Clin Ther* 2002;**24**:752-765.
 207. Greenbaum AB, Grines CL, Bittl JA, Becker RC, Kereiakes DJ, Gilchrist IC, Clegg J, Stankowski JE, Grogan DR, Harrington RA, Emanuelsson H, Weaver WD. Initial experience with an intravenous P2Y₁₂ platelet receptor antagonist in patients undergoing percutaneous coronary intervention: results from a 2-part, phase II, multicenter, randomized, placebo- and active-controlled trial. *Am Heart J* 2006;**151**:689.
 208. Comerota AJ. Effect on platelet function of cilostazol, clopidogrel, and aspirin, each alone or in combination. *Atheroscler Suppl* 2005;**6**:13-19.

209. Lee SW, Park SW, Hong MK, Lee CW, Kim YH, Park JH, Kang SJ, Han KH, Kim JJ, Park SJ. Comparison of cilostazol and clopidogrel after successful coronary stenting. *Am J Cardiol* 2005;**95**:859-862.
210. Douglas JS, Jr., Holmes DR, Jr., Kereiakes DJ, Grines CL, Block E, Ghazzal ZM, Morris DC, Liberman H, Parker K, Jurkowitz C, Murrah N, Foster J, Hyde P, Mancini GB, Weintraub WS. Coronary stent restenosis in patients treated with cilostazol. *Circulation* 2005;**112**:2826-2832.
211. Lee SW, Park SW, Hong MK, Kim YH, Lee BK, Song JM, Han KH, Lee CW, Kang DH, Song JK, Kim JJ, Park SJ. Triple versus dual antiplatelet therapy after coronary stenting: impact on stent thrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2005;**46**:1833-1837.
212. Novel dosing regimen of eptifibatide in planned coronary stent implantation (ESPRIT): a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2000;**356**:2037-2044.
213. Bonz AW, Lengenfelder B, Strotmann J, Held S, Turschner O, Harre K, Wacker C, Waller C, Kochsiek N, Meesmann M, Neyses L, Schanzenbacher P, Ertl G, Voelker W. Effect of additional temporary glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibition on troponin release in elective percutaneous coronary interventions after pretreatment with aspirin and clopidogrel (TOPSTAR trial). *J Am Coll Cardiol* 2002;**40**:662-668.
214. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, Jones RH, Kereiakes D, Kupersmith J, Levin TN, Pepine CJ, Schaeffer JW, Smith EE, III, Steward DE, Theroux P, Gibbons RJ, Alpert JS, Faxon DP, Fuster V, Gregoratos G, Hiratzka LF, Jacobs AK, Smith SC, Jr. ACC/AHA guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction--2002: summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *Circulation* 2002;**106**:1893-1900.
215. Grottemeyer KH, Scharafinski HW, Husstedt IW. Two-year follow-up of aspirin responder and aspirin non responder. A pilot-study including 180 post-stroke patients. *Thromb Res* 1993;**71**:397-403.
216. Helgason CM, Bolin KM, Hoff JA, Winkler SR, Mangat A, Tortorice KL, Brace LD. Development of aspirin resistance in persons with previous ischemic stroke. *Stroke* 1994;**25**:2331-2336.
217. Pappas JM, Westengard JC, Bull BS. Population variability in the effect of aspirin on platelet function. Implications for clinical trials and therapy. *Arch Pathol Lab Med* 1994;**118**:801-804.
218. Buchanan MR, Brister SJ. Individual variation in the effects of ASA on platelet function: implications for the use of ASA clinically. *Can J Cardiol* 1995;**11**:221-227.
219. Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, Gurm H, Welsh PA, Brooks L, Sapp SK, Topol EJ. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2001;**88**:230-235.
220. Patrono C, Collier B, Dalen JE, Fuster V, Gent M, Harker LA, Hirsh J, Roth G. Platelet-active drugs: the relationships among dose, effectiveness, and side effects. *Chest* 1998;**114**:470S-488S.

221. Weber AA, Przytulski B, Schanz A, Hohlfeld T, Schror K. Towards a definition of aspirin resistance: a typological approach. *Platelets* 2002;**13**:37-40.
222. Wang TH, Bhatt DL, Topol EJ. Aspirin and clopidogrel resistance: an emerging clinical entity. *Eur Heart J* 2006;**27**:647-654.
223. Cheng X, Chen WH, Simon DI. Aspirin resistance or variable response or both? *Am J Cardiol* 2006;**98**:11N-17N.
224. Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation* 2002;**105**:1650-1655.
225. Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2003;**41**:961-965.
226. Chen WH, Lee PY, Ng W, Kwok JY, Cheng X, Lee SW, Tse HF, Lau CP. Relation of aspirin resistance to coronary flow reserve in patients undergoing elective percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2005;**96**:760-763.
227. Wheeler GL, Braden GA, Bray PF, Marciniak SJ, Mascelli MA, Sane DC. Reduced inhibition by abciximab in platelets with the PLA2 polymorphism. *Am Heart J* 2002;**143**:76-82.
228. O'Connor FF, Shields DC, Fitzgerald A, Cannon CP, Braunwald E, Fitzgerald DJ. Genetic variation in glycoprotein IIb/IIIa (GPIIb/IIIa) as a determinant of the responses to an oral GPIIb/IIIa antagonist in patients with unstable coronary syndromes. *Blood* 2001;**98**:3256-3260.