

Uloga polimorfizma gena CYP2C19 i određivanja reaktivnosti trombocita na klopido­gre­l u predviđanju kliničkoga ishoda i opravdanosti individualiziranoga antitrombocitnoga liječenja u bolesnika s ak ...

Samardžić, Jure

Doctoral thesis / Disertacija

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:490020>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-21**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)





Središnja medicinska knjižnica

Samardžić, Jure (2014) *Uloga polimorfizma gena CYP2C19 i određivanja reaktivnosti trombocita na klopidogrel u predviđanju kliničkoga ishoda i opravdanosti individualiziranoga antitrombocitnoga liječenja u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom [Role of CYP2C19 polymorphism and determining platelet reactivity on clopidogrel in predicting clinical outcome and justification of individualized approach to antiplatelet treatment of patients with acute coronary syndrome].* Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.

<http://medlib.mef.hr/2133>

University of Zagreb Medical School Repository

<http://medlib.mef.hr/>

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Jure Samardžić

**Uloga polimorfizma gena CYP2C19 i
određivanja reaktivnosti trombocita
na klopidogrel u predviđanju
kliničkoga ishoda i opravdanosti
individualiziranoga antitrombocitnoga
liječenja u bolesnika s akutnim
koronarnim sindromom**

DISERTACIJA



Zagreb, 2014.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Jure Samardžić

**Uloga polimorfizma gena CYP2C19 i
određivanja reaktivnosti trombocita
na klopidogrel u predviđanju
kliničkoga ishoda i opravdanosti
individualiziranoga antitrombocitnoga
liječenja u bolesnika s akutnim
koronarnim sindromom**

DISERTACIJA

Zagreb, 2014.

Doktorska disertacija izrađena je u Klinici za bolesti srca i krvnih žila Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Voditelj rada: akademik Davor Miličić

U prvom redu želim zahvaliti akademiku Davoru Miličiću. Kao mentor, predstojnik Klinike za bolesti srca i krvnih žila i dekan Medicinskog fakulteta uvijek je poticao i podupirao svako znanstveno i stručno usavršavanje. Hvala mu na strpljenju, svim savjetima i pomoći koje mi je pružio u osmišljavanju te tijekom provedbe i izrade ove disertacije.

Također zahvaljujem profesorici Nadi Božini i njenom timu na suradnji i pomoći u genotipizaciji uzoraka.

Zahvaljujem i svima koji su na bilo koji način pomogli u provedbi ove disertacije, naročito kolegama Miroslavu Krpanu i Marijanu Pašaliću.

Posebno želim zahvaliti svojoj obitelji na pruženoj potpori i razumijevanju.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Koronarne arterije i koronarna arterijska bolest	1
1.2. Akutni koronarni sindrom	2
1.2.1. Nestabilna angina pectoris	3
1.2.2. Infarkt miokarda bez elevacije ST-segmenta (NSTEMI)	5
1.2.3. Infarkt miokarda s elevacijom ST-segmenta (STEMI)	6
1.3. Epidemiologija akutnoga koronarnoga sindroma	7
1.3.1. Čimbenici rizika za razvoj akutnoga koronarnoga sindroma	8
1.4. Patofiziologija koronarne bolesti i akutnoga koronarnoga sindroma.	9
1.5. Liječenje akutnoga koronarnoga sindroma	12
1.5.1. Koronarna revaskularizacija	12
1.5.2. Antiishemijski lijekovi	14
1.5.3. Antikoagulantni lijekovi	15
1.5.4. Antiagregacijski lijekovi	15
1.5.4.1. Acetilsalicilna kiselina	17
1.5.4.2. Klopido­gre­l	18
1.5.4.3. Ostali antiagregacijski lijekovi	19
1.6. Oslabljeni učinak klopido­gre­la	22
1.6.1. Varijacija antitrombocitnoga učinka klopido­gre­la	22
1.6.2. Uzroci neadekvatnoga učinka klopido­gre­la	23
1.6.2.1. Farmakogenetika klopido­gre­la	24
1.6.3. Metode mjerenja učinka klopido­gre­la	27
1.6.4. Prilagodba antitrombocitne terapije blokatorom P2Y ₁₂ receptora u bolesnika s visokom ostatnom reaktivnošću trombocita uz klopido­gre­l - pregled dosadašnjih stra­ži­vanja	29
1.6.5. Utjecaj genotipa CYP2C19 i prilagođavanja antitrombocitne terapije na klinički ishod - pregled dosadašnjih istraživanja.....	34

1.6.6. Terapijski prozor inhibicije P2Y ₁₂ receptora i potencijal za daljnja istraživanja	36
1.7. Oslabljeni učinak drugih antitrombocitnih lijekova	40
2. CILJEVI I SVRHA ISTRAŽIVANJA	41
3. PRETPOSTAVKE	42
4. BOLESNICI I METODE	43
4.1. Bolesnici	43
4.2. Elektrokardiografija	44
4.3. Koronarografija i perkutana koronarna intervencija	45
4.4. Mjerenje reaktivnosti trombocita	45
4.5. Genotipizacija CYP2C19	47
4.6. Plan kontrolnih posjeta, agregometrijskih mjerenja i prilagođavanja doze klopidogrela	47
4.7. Statističke metode analize podataka	50
5. REZULTATI	51
5.1. Demografski i angiografski podaci o ispitanicima	51
5.2. Reaktivnosti trombocita	54
5.3. Klinički ishodi	63
5.4. Odnos genotipa CYP2C19 s reaktivnosti trombocita i kliničkim ishodima	68
5.5. Čimbenici rizika za pojavnost neželjenih ishemijskih događaja	70
6. RASPRAVA	72
7. ZAKLJUČAK	82
8. SAŽETAK	84
9. SUMMARY	85
10. POPIS LITERATURE	86
11. BIOGRAFIJA	114

Popis kratica

ABCB1	gen za glikoproteinski transporter (engl. <i>ATP-binding cassette protein subfamily B</i>)
ACC	Američko kardiološko društvo (engl. <i>American College of Cardiology</i>)
ACS	akutni koronarni sindrom (engl. <i>acute coronary syndrome</i>)
ADP	adenozin difosfat
AIM	akutni infarkt miokarda
ASK	acetilsalicilna kiselina
BMI	indeks tjelesne težine (engl. <i>body mass index</i>)
BMS	metalni stent (engl. <i>bare metal stent</i>)
CABG	aortokoronarno premoštenje (engl. <i>coronary artery bypass graft</i>)
CAD	koronarna arterijska bolest (engl. <i>coronary artery disease</i>)
cAMP	ciklički adenzin monofosfat
CCS	Kanadsko kardiovaskularno društvo (engl. <i>Canadian Cardiovascular Society</i>)
CK-MB	MB izoenzim kreatin kinaze (engl. <i>creatine kinase myocardial band</i>)
COX-1	ciklooksigenaza-1
cTnI	kardioselektivni troponin I
cTnT	kardioselektivni troponin T
CVI	cerebrovaskularni inzult
CYP	citokrom P450
DAPT	dvojna antitrombocitna terapija (engl. <i>dual antiplatelet therapy</i>)
DES	stent koji otpušta lijek (engl. <i>drug eluting stent</i>)
DM2	šećerna bolest tip 2 (lat. <i>diabetes mellitus II</i>)
DNA	deoksiribonukleinska kiselina
EDMD	Europska baza detaljne smrtnosti (engl. <i>European Detailed Mortality Database</i>)
EKG	elektrokardiogram
ESC	Europsko kardiološko društvo (engl. <i>European Society of Cardiology</i>)
FDA	Agencija za hranu i lijekove (engl. <i>Food And Drug Administration</i>)
GRACE	globalni registar akutnih koronarnih događaja (engl. <i>Global Registry of Acute Coronary Events</i>)
HLP	hiperlipoproteinemija
Htc	hematokrit
HTPR	visoka reaktivnost trombocita uz terapiju (engl. <i>high on-treatment platelet reactivity</i>)
INR	međunarodno ujednačen odnos PV-a (engl. <i>international normalized ratio</i>)
IPP	inhibitor protonske pumpe
ISR	restenoza u stentu (engl. <i>in-stent restenosis</i>)
KVB	kardiovaskularne bolesti
LAD	lijeva silazna koronarna arterija (engl. <i>left anterior descending</i>)
LBBB	blok provođenja lijevom granom (engl. <i>left bundle branch block</i>)
LCx	cirkumfleksna koronarna arterija (engl. <i>left circumflex</i>)
LD	doza zasićenja (engl. <i>loading dose</i>)
LDH	laktat dehidrogenaza

LMCA	lijeva glavna koronarna arterija (engl. <i>left main coronary artery</i>)
LMWH	niskomolekularni heparin (engl. <i>low molecular weight heparin</i>)
LTA	svjetlosna agregometrija (engl. <i>light transmission aggregometry</i>)
LTPR	niska reaktivnost trombocita uz terapiju (engl. <i>low on-treatment platelet reactivity</i>)
LVEF	sistolička funkcija lijeve klijetke (engl. <i>left ventricular ejection fraction</i>)
MACCE	veliki neželjeni kardijalni i cerebrovaskularni događaji (engl. <i>major adverse cardiac and cerebrovascular events</i>)
MACE	veliki neželjeni kardijalni događaji (engl. <i>major adverse cardiac events</i>)
MD	doza održavanja (engl. <i>maintenance dose</i>)
MDR1	gen višestruke otpornosti na lijekove 1 (engl. <i>multidrug resistance gene 1</i>)
MEA	Multiplate [®] agregometrija (engl. <i>Multiplate[®] electrode aggregometry</i>)
ns	nesignifikantno
NSTE-ACS	akutni koronarni sindrom bez ST-elevacije (engl. <i>non-ST-elevation acute coronary syndrome</i>)
NSTEMI	infarkt miokarda bez ST-elevacije (engl. <i>non-ST-elevation myocardial infarction</i>)
P-gp	P-glikoprotein
PAD	periferna arterijska bolest (engl. <i>peripheral artery disease</i>)
PAR-1	proteaza-aktivirani receptor-1
PCI	perkutana koronarna intervencija (engl. <i>percutaneous coronary intervention</i>)
PCR	lančana reakcija polimeraze (engl. <i>polymerase chain reaction</i>)
PFT	testiranje funkcije trombocita (engl. <i>platelet function testing</i>)
POC	uz krevet bolesnika (engl. <i>point of care</i>)
PRI	indeks reaktivnosti trombocita (engl. <i>platelet reactivity index</i>)
PRP	plazma bogata trombocitima (engl. <i>platelet rich plasma</i>)
PRU	jedinica reakcije P2Y ₁₂ (engl. <i>P2Y₁₂ Reaction Units</i>)
RCA	desna koronarna arterija (engl. <i>right coronary artery</i>)
RT	reaktivnost trombocita
SNP	polimorfizam jednog nukleotida (engl. <i>single-nucleotide polymorphism</i>)
ST	tromboza u stentu (engl. <i>stent thrombosis</i>)
STE-ACS	akutni koronarni sindrom sa ST-elevacijom (engl. <i>ST-elevation acute coronary syndrome</i>)
STEMI	infarkt miokarda sa ST-elevacijom (engl. <i>ST-elevation myocardial infarction</i>)
TCT	engl. <i>Transcatheter Cardiovascular Therapeutics</i> (kongres)
TIA	tranzitorna ishemijska ataka
TIMI	engl. <i>Thrombolysis In Myocardial Infarction</i> - sustav stupnjevanja koronarnog protoka
TRAP	trombinu sličan aktivirajući peptid (engl. <i>thrombin-related activating peptide</i>)
TVR	revaskularizacija ciljne lezije (engl. <i>target vessel revascularization</i>)
TXA2	tromboksan A2
UA	nestabilna angina pectoris (engl. <i>unstable angina</i>)
UFH	nefrakcionirani heparin (engl. <i>unfractionated heparin</i>)
URL	gornja referentna vrijednost (engl. <i>upper reference limit</i>)
VASP-P	fosforilacija vazodilatatorom-stimuliranog fosfoproteina (engl. <i>vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation</i>)
vWF	von Willebrandov faktor

Poglavlje 1

UVOD

1.1. Koronarne arterije i koronarna arterijska bolest

Koronarne arterije izlaze iz Valsalvinih sinusa na korijenu aorte i opskrbljuju srčani mišić kisikom i hranjivim tvarima. Lijeva koronarna arterija, poznata i kao LMCA (engl. *left main coronary artery*), izlazi iznad lijevog koronarnog kuspisa te se dijeli na cirkumfleksnu koronarnu arteriju (LCx - engl. *left circumflex*) i lijevu prednju silaznu arteriju (LAD - engl. *left anterior descendens*). Kod nekih bolesnika između LCx i LAD izlazi intermedijarna grana - *ramus intermedius*. Desna koronarna arterija (RCA - engl. *right coronary artery*) izlazi iznad desnog koronarnog kuspisa. Navedene velike koronarne arterije granaju se u svom epikardijalnom i intramiokardijalnom tijeku te ovisno o anatomskim varijacijama opskrbljuju krvlju veći ili manji dio miokarda.

Bolest koronarnih arterija ili koronarna arterijska bolest (CAD - engl. *coronary artery disease*) vrlo je važan klinički entitet i veliki javnozdravstveni problem jer je najučestaliji oblik kardiovaskularnih bolesti (KVB) koje su već nekoliko desetljeća vodeći uzrok smrtnosti u svijetu. Procjenjuje se da je 2011. godine od KVB u svijetu umrlo 17,3 milijuna ljudi što čini oko 30% od ukupnog broja umrlih. Od navedenog broja, procjenjuje se da je oko 7 milijuna ljudi umrlo od nekog oblika CAD, a to je oko 12,5% ukupnog broja umrlih u svijetu (1).

CAD nastaje razvojem aterosklerotskih promjena u stijenci koronarne arterije. Oštećenjem endotela koronarne arterije dolazi do nakupljanja lipida, upalnih stanica, proliferacije stanica glatkog mišićja arterije i vezivnog tkiva te depozita kalcija u intimalnom sloju žile što dovodi do formiranja aterosklerotskog plaka i suženja lumena koronarne arterije. Kako s vremenom suženje napreduje, razvija se i ishemija srčanog mišića. Klinička manifestacija CAD može biti:

- nijema ishemija (engl. *silent ischemia*),
- stabilna angina pektoris,
- nestabilna angina pektoris (UA – engl. *unstable angina*),

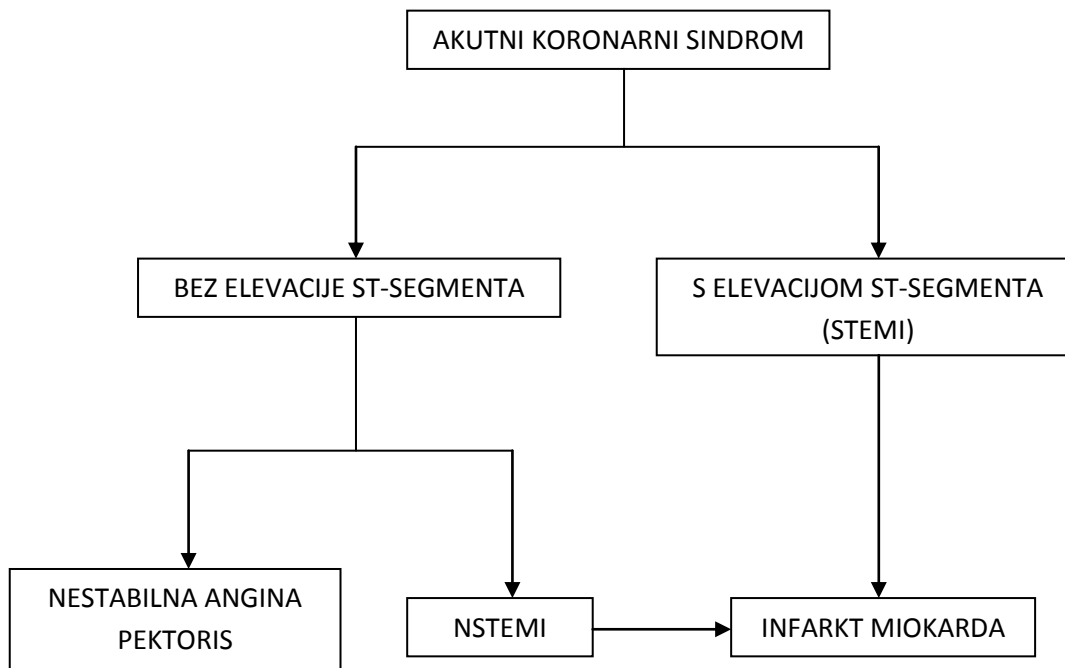
- akutni infarkt miokarda (AIM),
- popuštanje srca,
- nagla srčana smrt.

1.2. Akutni koronarni sindrom

Akutni koronarni sindrom (ACS - engl. *acute coronary syndrome*) predstavlja životno ugrožavajuću manifestaciju CAD koja nastaje naglo, u najvećem broju slučajeva zbog rupture ili erozije vulnerabilnog aterosklerotskog koronarnog plaka, s ili bez konkomitantne vazokonstrikcije, što u konačnici dovodi do iznenadne i kritične redukcije koronarnog protoka i ishemije miokarda. Ruptura plaka precipitira nastanak aterotromboze kroz složeni mehanizam aktivacije i agregacije trombocita međusobno, ali i s izloženim izvanstaničnim matriksom (2, 3). ACS se klinički može manifestirati mnogobrojnim simptomima i znakovima. Najčešći vodeći simptom je intermitentna ili perzistirajuća retrosternalna bol, koja je uglavnom karaktera pritiska te se širi u lijevo rame i ruku. Karakter boli može biti i žarući, probadajući, tupi, razdirući i slično. Bol može biti locirana i u epigastriju, vratu, donjoj čeljusti, desnoj ruci i/ili leđima, a kod nekih bolesnika, osobito onih sa šećernom bolesti, bol može biti i odsutna zbog razvijene neuropatije (nijema ishemija). Od ostalih simptoma i znakova najčešći su dispneja, pojačano znojenje, mučnina, nagon za povraćanje i sinkopa.

ACS čine tri klinička entiteta: nestabilna angina pectoris (UA), infarkt miokarda bez elevacije ST-segmenta (NSTEMI - engl. *non-ST-elevation myocardial infarction*) i infarkt miokarda s elevacijom ST-segmenta (STEMI - engl. *ST-elevation myocardial infarction*). Navedena podjela datira od 2000. godine kada je redefiniran pojam ACS konsenzusom Europskog i Američkog kardiološkog društva (ESC - engl. *European Society of Cardiology*; ACC - *American College of Cardiology*) (4) (Slika 1). Razlikovanje tipova ACS bazira se na kliničkoj slici, promjenama u elektrokardiogramu (EKG-u) te vrijednostima kardioselektivnih enzima u krvi kao znaka nekroze srčanog mišića. Najspecifičniji kardioselektivni enzimi su srčani troponin T (cTnT) i troponin I (cTnI), a ukoliko ih se iz nekog razloga ne može odrediti, mogu se koristiti kao manje specifični markeri i ukupna razina kreatin kinaze s udjelom njezinog MB podtipa (CK-MB - engl. *creatine kinase myocardial band*), laktat dehidrogenaza (LDH) te rjeđe, mioglobin. Važnost podjele ACS velika je jer o točno postavljenoj dijagnozi ovisi daljnja

strategija postupanja s bolesnikom, liječenje, rizik razvoja komplikacija i prognoza kliničkog ishoda (5, 6, 7).



Slika 1. Akutni koronarni sindrom - podjela (prema konsenzusu ESC-a i ACC-a (4) uz dozvolu Elseviera).

1.2.1. Nestabilna angina pektoris

Nestabilna angina pektoris (UA) kliničko je stanje u kojemu dolazi do akutne ishemije srčanog mišića uslijed nesrazmjera u potrebi i dostavi kisika i hranjivih tvari miokardu, a manifestira se kao:

- intermitentna i/ili perzistentna akutna bol u prsima u mirovanju,
- novonastala bol u prsima, tj. dosada nedoživljena ishemija miokarda (lat. *angina pectoris de novo*) klase II-III Kanadskog kardiovaskularnog društva (CCS - engl. *Canadian Cardiovascular Society*),
- akcelerirajuća ili destabilizirajuća klinička slika dotada poznate stabilne CAD (lat. *crescendo angina*),
- postinfarktna angina pektoris (8).

Ishemija miokarda klinički se uglavnom može prepoznati na temelju anamnestičkih podataka i očitavanja EKG-a. Važno obilježje UA je da ishemija miokarda nije dovoljno duga (>20 minuta) da uzrokuje nekrozu miocita te stoga neće dovesti do porasta kardiospecifičnog troponina T i I u krvi po čemu se može razlikovati od NSTEMI. UA i NSTEMI zovemo zajedno NSTEMI-ACS (engl. *non-ST-elevation acute coronary syndrome*) što je uvijek radna dijagnoza u bolesnika s kliničkom slikom ACS kod kojega ne postoji perzistentna elevacija ST-segmenta u najmanje dva susjedna odvoda u 12-kanalnom EKG-u. Dio bolesnika s UA imat će vidljive ishemijske promjene u EKG-u (horizontalna ili silazna depresija ST-segmenta duža od 0,08 sekundi i veća od 0,1 mV u dva susjedna odvoda i/ili simetrični ljevokasti negativni T-valovi) ili poremećaje provođenja i aritmije kao ekvivalent ishemije, dok će dio bolesnika čak imati i neupadan EKG nalaz. Pojavnost NSTEMI-ACS u Europi varira, ali je poznato kako je NSTEMI-ACS učestaliji od STE-ACS (engl. *ST-elevation acute coronary syndrome*), poglavito u srednjoj i istočnoj Europi gdje su i veće stope smrtnosti (5, 9). Trend pojavnosti NSTEMI-ACS u svijetu je u daljnjem porastu, dok se s druge strane bilježi smanjenje incidencije STE-ACS (10). Udio bolesnika s UA u ukupnom broju bolesnika s NSTEMI-ACS je 40-60%. Među bolesnicima s UA udio žena je relativno češći u odnosu na bolesnike s infarktom srčanog mišića (11, 12).

Tromboza je glavni patofiziološki proces u nastanku akutnoga koronarnoga zbivanja pa tako i UA (13, 14). Tromb koji nastaje u UA na mjestu inflamiranoga, nestabilnoga plaka je neokluzivan. Angiografski se u UA može vidjeti vazospazam koronarne arterije i/ili formirani tromb na mjestu disrupcije aterosklerotskoga plaka, a promjene na krvnim žilama mogu varirati od nesignifikantne stenozе do teške i proširene višežilne CAD (15). Preživljenje bolesnika s NSTEMI-ACS je, kratkoročno gledano, bolje nego kod bolesnika sa STE-ACS, no već nakon 6 mjeseci stopa preživljenja je između dvije skupine bolesnika slična (6,16). Do dva puta veća kasna stopa smrtnosti kod bolesnika s NSTEMI-ACS u odnosu na bolesnike sa STE-ACS objašnjava se činjenicom kako su bolesnici s NSTEMI-ACS uglavnom stariji ljudi s više komorbiditeta, naročito sa šećernom bolesti i zatajivanjem bubrega. Također, navedeno može biti i posljedica veće proširenosti CAD u tih bolesnika i perzistentnih trigerirajućih čimbenika za novi akutni koronarni incident (17).

1.2.2. Infarkt miokarda bez elevacije ST-segmenta (NSTEMI)

Akutni infarkt miokarda (AIM) definira se kao smrt miocita koja je posljedica prolongirane ishemije (18). Poznato je da smrt stanica miokarda nastupa nakon najmanje 20 minuta ishemije (19). Klinički je ponekad teško razlikovati NSTEMI od UA. Elektrokardiografski nalaz može imati prolaznu elevaciju ST-segmenta (<20 minuta), različite aritmije, atrioventrikulske i/ili interventrikulske smetnje provođenja, ishemijske ST-T promjene, pa čak i uredan izgled (3). Radna dijagnoza suspektnoga ACS bez perzistentne elevacije ST-segmenta uvijek je NSTEMI-ACS, a ovisno o porastu biljega oštećenja miocita potvrdit će se ili isključiti NSTEMI. Preferirani biomarker za detekciju ozljede miocita je troponin (T ili I) koji je visoko specifičan za tkivo miokarda i ima visoku kliničku osjetljivost (20).

Osim povišene razine troponina u krvi, za postavljanje dijagnoze AIM mora biti zadovoljen i jedan od sljedećih kriterija:

- prisutni simptomi ishemije,
- novonastale ST-T promjene ili novi blok provođenja lijevom granom u EKG-u (LBBB - engl. *left bundle branch block*),
- pojava aritmija ili novonastale atrioventrikulske i/ili interventrikulske smetnje provođenja,
- razvoj patološkog Q-zupca u EKG-u kao znak ožiljka, to jest, električki neaktivnog tkiva miokarda,
- slikovnom metodom dokazan novi ispad vijabiliteta miokarda ili novonastali regionalni poremećaj kontraktiliteta,
- vidljiv intrakoronarni tromb na koronarnoj angiografiji ili kliničkoj obdukciji.

Osim navedenoga, postoje i određene situacije u kojima se ne primjenjuju spomenuti kriteriji za postavljanje dijagnoze. Primjerice, kada je smrt bolesnika nastupila prije uzimanja uzoraka za određivanje razine kardiospecifičnih enzima, a ukoliko su ostali elementi AIM bili prisutni. Posebni se kriteriji upotrebljavaju u dijagnosticiranju AIM periproceduralno uz perkutanu koronarnu intervenciju (PCI - engl. *percutaneous coronary intervention*) te perioperativno nakon aortokoronarnoga premoštenja (CABG - engl. *coronary artery bypass graft*). Periproceduralni AIM prilikom PCI indikativan je kada nalazimo porast cTnT pet puta iznad gornje normalne vrijednosti (URL - engl.

upper reference limit) ili ako je zabilježen porast cTnT veći za 20% od ranije zabilježenog povišenog cTnT u stabilnoj fazi ili opadanju nakon AIM (tzv. „rep troponina“). Povišenje cTnT deset puta veće od URL upućuje na perioperativni AIM nakon CABG (21). Angiografski se kod NSTEMI najčešće nalazi značajna stenoza jedne ili više koronarnih arterija u podlozi koje se nalazi neokluzivni, tzv. „bijeli“ tromb s mnogo trombocita (22, 23).

1.2.3. Infarkt miokarda s elevacijom ST-segmenta (STEMI)

AIM koji prati pojava perzistentne elevacije ST-segmenta (>20 minuta) u najmanje dva dodirna kanala u EKG-u skraćeno zovemo STEMI. Kod STEMI najčešće je riječ o akutnoj okluziji koronarnoga protoka koji uzrokuje transmuralni infarkt miokarda. Značajna elevacija ST-spojnice za muškarce mlađe od 40 godina je 0,25 mV, a za muškarce starije od 40 godina iznad 0,2 mV. Za žene je granica značajnosti 0,15 mV u prekordijalnim odvodima V2 i V3 i/ili 0,1 mV u drugim EKG odvodima, naravno pod uvjetom da nije prisutan LBBB ili rad ventrikulske elektrode srčanog predvodnika koji utječu na izgled ST-spojnice i T-vala i mogu maskirati elevaciju ST-spojnice (18). Na konkomitantnu zahvaćenost desne klijetke transmuralnim infarktom posumnjat ćemo kod bolesnika s AIM inferiorne stijenke lijeve klijetke, osobito ako se klinički prezentiraju s bradikardijom i/ili hipotenzijom. Snimajući EKG sa simetrično postavljenim prekordijalnim elektrodama na desnom prsištu kod bolesnika s infarktom miokarda desne klijetke bit će vidljiva elevacija ST-segmenta u odvodima V3R i/ili V4R (24). U vrlo ranoj fazi STEMI mogu se u EKG-u vidjeti hiperakutni povišeni T-valovi bez elevacije ST-segmenta. Vodeći klinički simptom kod bolesnika sa STEMI je kontinuirana bol u prsima koja ne popušta na primjenu nitrata. Klinička prezentacija može biti i atipična pa tako vodeći simptom i/ili znak može biti mučnina, povraćanje, nedostatak zraka, palpitacije i/ili sinkopa (25). Atipičnu kliničku prezentaciju češće imaju stariji bolesnici, žene i bolesnici sa šećernom bolesti (26). STEMI se dijagnosticira na temelju kliničke slike i izgleda EKG-a (18). Budući da rad elektrostimulatora srca ili LBBB mogu prikriti ST-elevaciju u EKG-u, tada bolesnike, ukoliko imaju kliničku sliku AIM, treba tretirati kao da imaju STEMI dok se ne dokaže drugačije. Važnost ranoga prepoznavanja STEMI ključna je jer vrijeme proteklo od početka bolova do ponovnog uspostavljanja koronarnoga protoka značajno utječe na klinički ishod (27). Unutarbolnički mortalitet bolesnika sa STEMI varira u Europi od 6-14%, a osim o vremenu početka liječenja ovisi i o više drugih čimbenika poput dobi

bolesnika, ranijem koronarnom incidentu, konkomitantnoj šećernoj bolesti, zatajivanju bubrežne funkcije, sistoličkoj funkciji lijeve klijetke (LVEF – *engl. left ventricular ejection fraction*), Killip klasi pri prezentaciji i modalitetu liječenja (28). Klasifikacija po Killipu je sistem procjene rizika unutarbolničkog mortaliteta bolesnika s AIM. Stupnjuje se rimskim brojkama (I-IV), a bolesnici u nižoj Killip klasi imaju bolju prognozu:

- Killip I - bolesnici bez znakova popuštanja srca,
- Killip II - auskultacijski prisutne krepitacije na plućima, naglašene vratne vene ili čujan S3 ton na prekordiju,
- Killip III - plućni edem,
- Killip IV - kardiogeni šok (29).

1.3. Epidemiologija akutnoga koronarnoga sindroma

Udio smrtnosti od KVB u ukupnoj smrtnosti značajno varira među europskim zemljama. U Hrvatskoj je 2009. godine mortalitet od KVB bio ispod 50% (2001. godine iznosio je 52,7%, a 2009. godine 49,6%), dok je, usporedbe radi, u Francuskoj iznosio tek 27,5% (podatak za 2009. godinu), u Sloveniji 39,6% (podatak za 2009. godinu), a u Bugarskoj 64% (podatak za 2008. godinu). Unatoč trendu smanjenja smrtnosti od KVB zadnjih godina, osobito ishemijske bolesti srca, u Europi KVB predstavljaju i dalje vodeći uzrok rane smrtnosti (1, 30). Procijenjuje se da je 2011. godine od KVB u svijetu umrlo oko 17 milijuna ljudi što čini 30% ukupnog broja umrlih. Od navedenog broja, procijenjuje se da je oko 7 milijuna ljudi umrlo od ishemijske bolesti srca, a najviše od AIM (oko 12,5%). Svaki šesti muškarac i svaka sedma žena u Europi umiru od infarkta miokarda (1). CAD je najučestaliji oblik aterosklerotske KVB. Kod zdravih osoba mlađih od 65 godina, godišnja incidencija svih oblika CAD je kod muškaraca 12 na 1000 osoba, a kod žena 5 na 1000 osoba. Kod muškaraca starijih od 65 godina incidencija CAD raste na 27%, dok kod žena raste na 16%. Muškarac star 40 godina ima rizik od 49%, a žena iste dobi rizik od 32% da u životu razvije CAD. Incidencija ACS u dobi od 65-94 godina veća je dva puta kod muškaraca i tri puta kod žena u odnosu na muškarce i žene starosne dobi od 35-64 godine (31).

Prema podacima *European Detailed Mortality Database* (EDMD) u Republici Hrvatskoj je 2011. godine umrlo 3 480 ljudi od AIM, što je činilo 6,82% ukupnog broja umrlih ljudi

te godine, a 7 117 ljudi (13,94% ukupno umrlih) umrlo je od posljedica kronične ishemijske bolesti srca (32). Incidencija STEMI se od 1997. do 2005. godine u svijetu smanjila s otprilike 121 na 77 slučajeva na 100 000 stanovnika godišnje, dok se incidencija NSTEMI blago povećala s otprilike 126 na 132 slučajeva na 100 000 stanovnika godišnje (33).

1.3.1. Čimbenici rizika za razvoj akutnoga koronarnoga sindroma

Čimbenici rizika za nastanak ACS, ali i same aterosklerotske CAD i KVB općenito mogu biti nepromjenjivi i promjenjivi (Tablica 1). Na nepromjenjive čimbenike rizika za razvoj ACS ne možemo preventivno djelovati, a među njih ubrajamo dob, muški spol, genetsko naslijeđe i prijašnji kardiovaskularni incident. Promjenjivi čimbenici rizika predstavljaju dodatni ili aditivni rizik na koji možemo preventivno djelovati (Slika 2). Mnogo je objavljenih studija koje su istraživale nastanak i razvoj CAD. Prva veća studija koja je prepoznala rizične čimbenike za nastanak CAD poznata je Framinghamska studija nastala sredinom 20. stoljeća koja je pratila više od 5 000 zdravih ispitanika te otkrila značajnu povezanost povišene vrijednosti ukupnoga kolesterola, povišenoga sistemskoga arterijskoga tlaka, pretilosti i abnormalnosti u EKG-u s nastankom CAD (34). Bolesnici iz Framinghamske studije ostali su u daljnjem praćenju, kao i njihovi potomci iz čega je i kasnije proizašlo mnogo korisnih epidemioloških podataka o čimbenicima rizika za razvoj CAD. Općenito je prihvaćen stav kako je podatak o preboljelom infarktu miokarda ili smrti od CAD užeg člana obitelji (muški član <50 godina, ženski član <60 godina) značajan anamnestički podatak koji predstavlja nezavisni nepromjenjivi čimbenik rizika za razvoj CAD od 15-100%. To je pokazano u Framinghamskoj, ali i u više drugih studija (35-38). ONTARGET i TRANSCEND studije s preko 31 000 ispitanika pokazale su tijekom praćenja od 4,5 godine kako muškarci imaju oko 20% veći rizik od žena za razvoj kardiovaskularnog događaja, uključujući i AIM (39). Rezultati multicentrične studije INTERHEART objavljene 2004. godine, u koju je uključeno preko 15 000 bolesnika, pokazali su kako su arterijska hipertenzija, pušenje, šećerna bolest, dislipidemija, abdominalna pretilost, psihosocijalni status, loša prehrana, konzumacija alkohola i fizička neaktivnost kao promjenjivi čimbenici rizika nosili 90% dodanog rizika za razvoj KVB u muškaraca, te 94% dodatnog rizika za razvoj KVB u žena (35).

Tablica 1. Čimbenici rizika za razvoj akutnoga koronarnoga sindroma.

Promjenjivi čimbenici rizika	Nepromjenjivi čimbenici rizika
Arterijska hipertenzija	Dob (m>45 god., ž>55 god.)
Dislipidemija	Muški spol
Pretilost	Genetsko naslijeđe
Šećerna bolest	Raniji kardiovaskularni događaj
Stres	
Pušenje	
Tjelesna neaktivnost	
Alkohol	

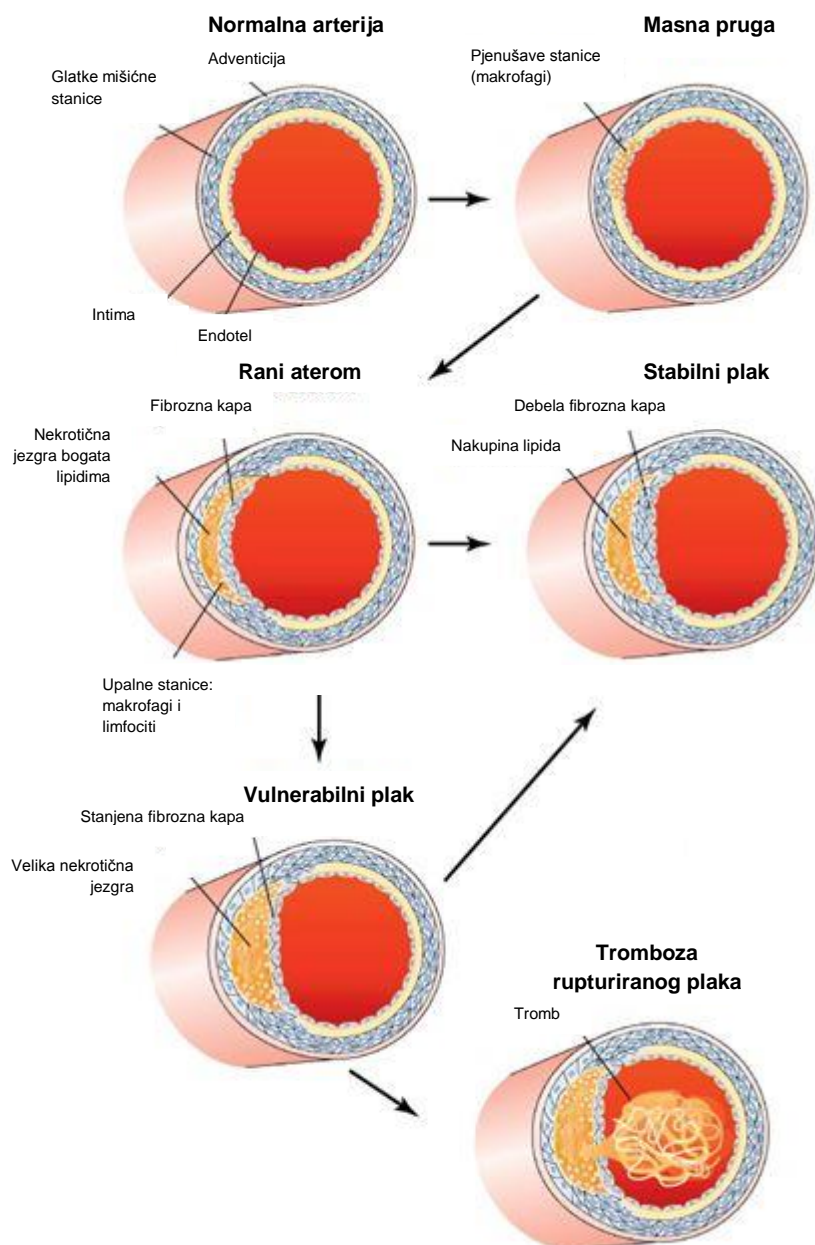
1.4. Patofiziologija koronarne bolesti i akutnoga koronarnoga sindroma

ACS najčešće nastaje na podlozi aterosklerotske bolesti koronarnih arterija. Ateroskleroza je dinamičan proces koji nastaje uslijed endotelne disfunkcije (Slika 2.). U prvoj fazi razvoja ateroskleroze dolazi do fokalnoga zadebljanja intime i povećanja glatkih mišićnih stanica i ekstracelularnoga matriksa (40). Potom dolazi do intracelularne i ekstracelularne akumulacije lipida i lipoproteina koji formiraju takozvane masne pruge. Masne pruge su, osim lipida i lipoproteina, građene i od makrofaga te T-limfocita. Daljnjim napredovanjem bolesti sve više glatkih mišićnih stanica migrira u intimalni sloj što ih čini podložnijim apoptozi koja potiče kemotaksiju makrofaga i razvoj upale. Oko nekrotične, lipidima bogate jezgre, dolazi do skupljanja fibroznog tkiva i razvoja aterosklerotskoga plaka, tj. fibroateroma koji može biti i kalcificiran. Povećanjem plaka, iz sloja adventicije razvijaju se nutritivne mikrožile (lat. *vasa vasorum*) koje su podložne disrupciji i mogu dovesti do krvarenja u plak i progresije CAD (41, 42).

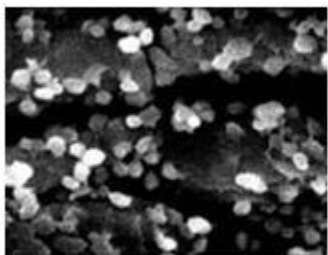
Ateroskleroza je uglavnom asimptomatska dok plak ne suzi lumen koronarne arterije za 70-80%. Upala je, strogo gledajući, osnovni patofiziološki proces u nastanku nestabilnih aterosklerotskih plakova jer je poznato da u ACS postoji znatno veći broj aktiviranih makrofaga i mastocita u plakovi u usporedbi s plakovima u stabilnoj CAD. Makrofazi i mastociti u plakovima luče metaloproteinaze (kolagenaza, gelatinaza,

stromelizin) koje razgrađuju izvanstanični matriks plaka i time povećavaju njegovu nestabilnost i sklonost rupturi (43, 44). Vulnerabilni plak treba imati, prema široko prihvaćenoj definiciji, veliku nekrotičnu jezgru (otprilike 25% ukupne veličine plaka), koju od lumena žile dijeli tanka fibrozna kapa, debljine manje od 65 μm . Fibrozna kapa na plaku sastoji se od kolegena tipa I i različite količine makrofaga i limfocita (45). Disrupciju aterosklerotskoga plaka uzrokuje nagli porast intraluminalnoga tlaka, vazomotornoga tonusa koronarne arterije i/ili ruptura nutritivnih *vasa vasorum* što se češće događa u jutarnjim satima, stresu i izlaganju hladnoći (46, 47). Ruptura plaka i intraluminalna tromboza ne nastaje samo na mjestu značajnoga aterosklerotskoga suženja koronarne arterije jer je poznato kako i do 40% trombotskih okluzija koronarnih arterija nastaje na stenozama manjim od 50% (48). Također, poznato je da svaka disrupcija plaka ne dovodi do okluzivne aterotromboze jer plak može i zacijeliti infiltracijom glatkih mišićnih stanica, akumulacijom preteoglikana i kolegena tipa I te reendotelizacijom lumena (49). Disrupcija fibrozne kape jednakom učestalošću nastaje na svom srednjem dijelu kao i na takozvanom ramenu plaka koji se nalazi na prijelazu plaka i stijenke koronarne arterije (50). Disrupcijom aterosklerotskoga plaka dolazi do kontakta krvnih stanica s visoko trombogenom nekrotičnom jezgrom plaka. Osim rupturom, nestabilni plak može ogoliti erozijom, disekcijom ili ulceracijom te na taj način započeti kaskadu formacije intrakoronarnog tromba. Kada nestane zaštitne površine aterosklerotskoga plaka, ogoljeli kolagen veže molekule glikoproteina poznatijega po imenu von Willebrandov faktor (vWF) što dovodi do adhezije cirkulirajućih trombocita zbog interakcije s njihovim glikoproteinskim Ib receptorima (51). Trombociti se svojim glikoproteinskim receptorima (Ia/IIa) izravno vežu za kolagen, a s IIb/IIIa receptorima za fibrinogen. Adheziju trombocita slijedi aktivacija trombocita u kojoj stanice mijenjaju svoj diskoidni oblik u mnogo nepravilniji oblik s mnoštvom pseudopodija čime postižu veću ukupnu površinu za stupanje u interakcije i sintezu supstanci koje potiču daljnje nakupljanje i aktivaciju trombocita te vazokonstrikciju i trombozu krvne žile. Neke od tih supstanci su trombin, adenzin difosfat (ADP), serotonin, faktor rasta fibroblasta i β -tromboglobulin. Intracelularnim kemijskim procesima u trombocitima dolazi i do otpuštanja arahidonske kiseline iz fosfolipidne membrane te proizvodnje izrazito protrombotskog tromboksana A₂ (TXA₂) koji ponovno potiče daljnju aktivaciju i agregaciju trombocita u nakupine te vazokonstrikciju koronarne arterije i trombozu (52, 53).

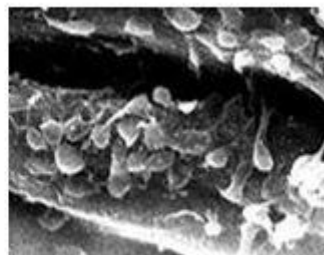
Osim navedenoga, vazokonstrikcija koronarne arterije može se objasniti i slabijom produkcijom dušičnog oksida i pojačane sinteze endotelina uslijed endotelne disfunkcije te pojačane aktivacije simpatikusa (54, 55). Usporedno s agregacijom trombocita odvija se i sekundarna hemostaza aktivacijom složene koagulacijske kaskade koja rezultira pretvorbom fibrinogena u fibrin i ukrižavanjem fibrinskih niti u čvrsti ugrušak (56).



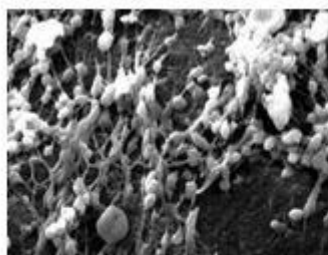
Slika 2. Razvoj aterosklerotskih promjena i akutnoga koronarnoga sindroma (prema Lusi i sur. (57) modificirano uz dozvolu *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, Volume 5 © 2004 by Annual Reviews, <http://www.annualreviews.org>).



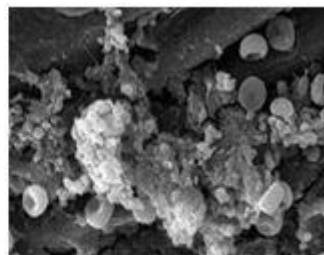
A



B



C



D

Slika 3. Uloga trombocita u razvoju akutnoga koronarnoga sindroma prikazana elektronskim mikroskopom na stijenci arterije miša: a) adhezija trombocita, b) aktivacija trombocita, c) agregacija trombocita, d) formiranje tromba (prema Fabre i sur. (58) uz dozvolu *Royal Society of Chemistry*).

1.5. Liječenje akutnoga koronarnoga sindroma

Pristup liječenju ACS ovisi o više čimbenika, a ponajprije o tome je li riječ o ACS s ili bez elevacije ST-segmenta. Osim navedenoga, pristup ovisi i o težini kliničke slike, vremenu trajanja tegoba, dostupnosti PCI, težini koronarne bolesti, konkomitantnim bolestima i željama bolesnika. U načelu, osnovu u liječenju ACS čini koronarna revaskularizacija, primjena antiishemijskih, antikoagulantnih i antiagregacijskih lijekova uz, naravno, promjenu nezdravih životnih navika.

1.5.1. Koronarna revaskularizacija

Koronarna revaskularizacija je terapijski postupak kojim se poboljšava i/ili ponovno uspostavlja protok kroz koronarne arterije. Cilj je koronarne revaskularizacije spriječiti daljnju nekrozu kardiomiocita u AIM i povećati dotok kisika i hranjivih tvari ishemičnom srčanom mišiću. Revaskularizacija je temelj u liječenju ACS, a može se postići

primjenom fibrinolitičkih lijekova, s PCI i intrakoronarnom dilatacijom pomoću balona, aspiracijskom trombektomijom i/ili postavljanjem intraluminalne potpornice (stenta) u koronarnu arteriju te kardiokirurškom operacijom s postavljanjem koronarnih premosnica.

Kada je riječ o bolesnicima s NSTEMI-ACS, u razmatranju potrebe rane revaskularizacije vrlo je bitna stratifikacija rizika jer će dio bolesnika više profitirati od konzervativnoga liječenja i selektivnoga invazivnog pristupa, a dio od hitne ili odgođene PCI. Najviše korišteni kriterij procjene rizika je prema GRACE modelu koji izračunava unutarbolnički i šestmesečni klinički ishod iz sljedećih podataka uzetih prilikom prijema u bolnicu:

- dob bolesnika,
- frekvencija otkucaja srca,
- razina sistoličkoga sistemskoga tlaka,
- serumska vrijednost kreatinina,
- klasa prema Killipu,
- srčani arrest,
- postojanje promjena ST-segmenta u EKG-u,
- povišeni kardiospecifični enzimi u serumu (59).

Prema aktualnim smjernicama ESC-a za liječenje NSTEMI-ACS, invazivna strategija unutar 72 sata od prezentacije indicirana je kod bolesnika s najmanje jednim kriterijem visokog rizika (porast troponina, ishemijske promjene u EKG-u, šećerna bolest, LVEF<40%, zatajivanje bubrega, raniji CABG, nedavna PCI, srednje visok rizik prema GRACE kriterijima). Također, bolesnik bi trebao biti podvrgnut koronarografiji unutar 72 sata ukoliko ima i rekurentne simptome ishemije. Rana invazivna strategija (unutar 24 sata) preporuča se učiniti bolesnicima s visokim rizikom određenim prema GRACE modelu te porastom troponina i promjenama ST-segmenta u EKG-u. Urgentna koronarografija unutar dva sata od početka simptoma preporuča se učiniti bolesnicima s refraktornom anginom, akutnim popuštanjem srca, malignim ventrikulskim aritmijama i/ili hemodinamskom nestabilnosti (3).

U bolesnika koji ima STEMI ili se prezentira kliničkom slikom ACS uz prisutan rad elektrostimulatora u klijetci ili LBBB u EKG-u koji nije od ranije bio poznat, cilj je što žurnije učiniti koronarnu revaskularizaciju, bilo s pomoću PCI ili farmakološki fibrinolizom (alteplaza, streptokinaza, reteplaza, tenekteplaza) ukoliko je od početka simptoma prošlo manje od 12 sati. Fibrinolitička terapija preporuča se primijeniti kod bolesnika kod kojih nije moguće učiniti primarnu PCI unutar 120 minuta od prvog liječničkog kontakta te ukoliko nemaju kontraindikaciju za fibrinolizu, a tegobe ne traju duže od 12 sati. Jednom dijelu bolesnika koji imaju nepovoljnu koronarnu anatomiju za PCI ili bolest koronarnoga debla, potrebno je učiniti revaskularizaciju kirurškim konstruiranjem koronarnih prenosnica (60).

1.5.2. Antiishemijski lijekovi

Lijekovi koji se najčešće koriste kako bi se smanjila ishemija miokarda u ACS jesu preparati nitroglicerina i blokatori beta adrenergičkih receptora.

Nitro preparati jesu spojevi koji se mogu aplicirati sublingvalno ili intravenski radi bržeg učinka, a koriste se kako bi bolesniku olakšali simptome boli te smanjili krvni tlak i kongestiju plućnoga parenhima. Nitroglicerina dilatira glavne koronarne arterije i arteriole te povećava kolateralni koronarni protok. Antiishemijski učinak beta blokatora očituje se smanjenjem potrošnje kisika zbog usporavanja srčane frekvencije, smanjenja krvnoga tlaka i kontraktilnosti srčanoga mišića. Zbog navedenoga, ali i njihova poznatog učinka na smanjenje daljnjega morbiditeta i mortaliteta, njihova je primjena u ACS vrlo raširena (61).

Rjeđe su u ograničenoj upotrebi kao antiishemijski lijekovi nedihidropiridinski blokatori kalcijevih kanala jer ne smanjuju mortalitet u ACS, a kod nekih bolesnika mogu biti i štetni (bolesnici s reduciranom LVEF, popuštanjem srca, značajnim atrioventrikulskim blokom) (62). Zbog toga se, u svrhu smanjenja ishemije miokarda, može razmotriti njihova primjena kod bolesnika koji u ACS imaju aktivni bronhospazam ili poznatu alergiju na beta blokatore uz očuvanu globalnu funkciju srčanoga mišića (60).

1.5.3. Antikoagulantni lijekovi

Antikoagulantna terapija važna je u ranom liječenju bolesnika s ACS bilo da je riječ o bolesnicima kod kojih je strategija liječenja urgentna koronarografija, primjena fibrinolitičke terapije, odgođena koronarografija ili konzervativan pristup. Naime, dokazana je značajna kratkoročna redukcija u incidenciji kardiovaskularne smrti ili novog AIM u bolesnika koji su liječeni nefrakcioniranim heparinom (UFH - engl. *unfractionated heparin*) ili niskomolekularnim heparinom (LMWH - engl. *low molecular weight heparin*) u odnosu na placebo (63, 64). Osim heparina, u liječenju ACS mogu se koristiti i izravni inhibitori trombina poput bivalirudina koji se pokazao neinferiornim UFH-u u incidenciji ishemijskih komplikacija, dok je u isto vrijeme stopa velikih krvarenja kod bolesnika koji su primali bivalirudin bila znatno manja (65). Fondaparinuks je također noviji antikoagulantni lijek koji blokira faktor Xa i može se koristiti u određenom broju bolesnika s ACS, naročito u bolesnika s povišenim rizikom za krvarenje. Fondaparinuks nije, doduše, preporučljivo koristiti uz samu primarnu PCI zbog rizika od tromboze na kateteru (60, 66). Ispitivanje učinkovitosti apiksabana u ACS, također novijeg antikoagulantnoga lijeka koji inhibira faktor Xa, prekinuto je u studiji APPRAISE-2 zbog povećanog broja krvarećih komplikacija (67). Rivaroksaban je ispitan u ATLAS ACS-2 studiji te je pokazao redukciju novih ishemijskih događaja, ali i povećao rizik od velikih krvarenja i hemoragijskoga moždanoga udara u odnosu na placebo (68). Dugoročna antikoagulantna terapija, ukoliko nije zbog nekoga drugoga komorbiditeta indicirana, nije pokazala korist u liječenju bolesnika s ACS jer ne postoje dokazi da prevenira trombozu ili restenozu u stentu, a s druge strane povećava rizik od krvarećih događaja (69, 70).

1.5.4. Antiagregacijski lijekovi

Antiagregacijski ili antitrombocitni lijekovi temelj su u prevenciji i liječenju ACS jer inhibiraju adheziju, aktivaciju i agregaciju trombocita (71, 72). Primjena antiagregacijskih lijekova u ACS poboljšava klinički ishod bolesnika jer smanjuje broj neželjenih trombotskih događaja (ponovna revaskularizacija koronarnih arterija, ponovni AIM, moždani udar, srčana smrt) (73-75). Korisnost antiagregacijske terapije u prevenciji neželjenih kardiovaskularnih događaja pokazala je metaanaliza 145 randomiziranih studija s oko 100 tisuća bolesnika. Analiza je pokazala 25% manje neželjenih događaja u skupini bolesnika koji su bili na produženoj antiagregacijskoj

terapiji (76). Antitrombocitni lijekovi od velike su važnosti u liječenju ACS, kako uz reperfuziju fibrinolizom, tako i uz PCI. Fibrinoliza paradoksalno povećava agregabilnost trombocita jer uzrokuje oslobađanje trombina, snažnoga agonista u aktivaciji trombocita, koji je vezan u sredini samoga ugruška. Nakon rekanalizacije koronarne arterije uglavnom na tom mjestu nailazimo na suženje s rupturiranim plakom na kojem zbog pojačane turbulencije u protoku krvi dolazi do ponovne aktivacije trombocita (77). Osim što antagoniziraju primarnu hemostazu u akutnom koronarnom zbivanju, antiagregacijski lijekovi sprječavaju razvoj tromboze na mehanički ozlijeđenoj stijenci koronarne arterije prilikom PCI te razvoj mikroembolizacije koja uzrokuje poremećaj mikrovaskularne perfuzije (78). Metaanaliza 287 randomiziranih studija s preko 135 tisuća bolesnika na antitrombocitnoj terapiji pokazala je relativno smanjenje smrtnosti, nefatalnoga reinfarkta miokarda i moždanoga udara za 22% uz uporabu antiagregacijskih lijekova, ali i ukazala kako proporcionalno visini kardiovaskularnoga rizika raste i korist primjene navedenih lijekova (79).

Kako je proces aterotromboze kompleksan, potrebno je i terapijski djelovati na različite putove aktivacije trombocita kako bi smanjili rizik od ishemijskih komplikacija. Nekoliko je mehanizama kojima antitrombocitni lijekovi mogu inhibirati funkciju trombocita, pa tako možemo i klasificirati postojeće antiagregacijske lijekove koji se najviše koriste u praksi:

- 1) Acetilsalicilna kiselina (ASK) inhibira ciklooksigenazu-1 (COX-1);
- 2) Tienopiridini i triazolopirimidini inhibiraju ADP-receptor P2Y₁₂ na membrani trombocita;
- 3) Blokatori glikoproteinskih IIb/IIIa receptora inhibiraju istoimene receptore na trombocitima.

Korist primjene produžene dvojne antitrombocitne terapije (DAPT - engl. *dual antiplatelet therapy*) do 12 mjeseci u liječenju nakon ACS, naročito je dokazana za bolesnike liječene s PCI jer smanjuje rizik za nastanak tromboze u stentu, reinfarkt miokarda i kardiovaskularnu smrt (75).

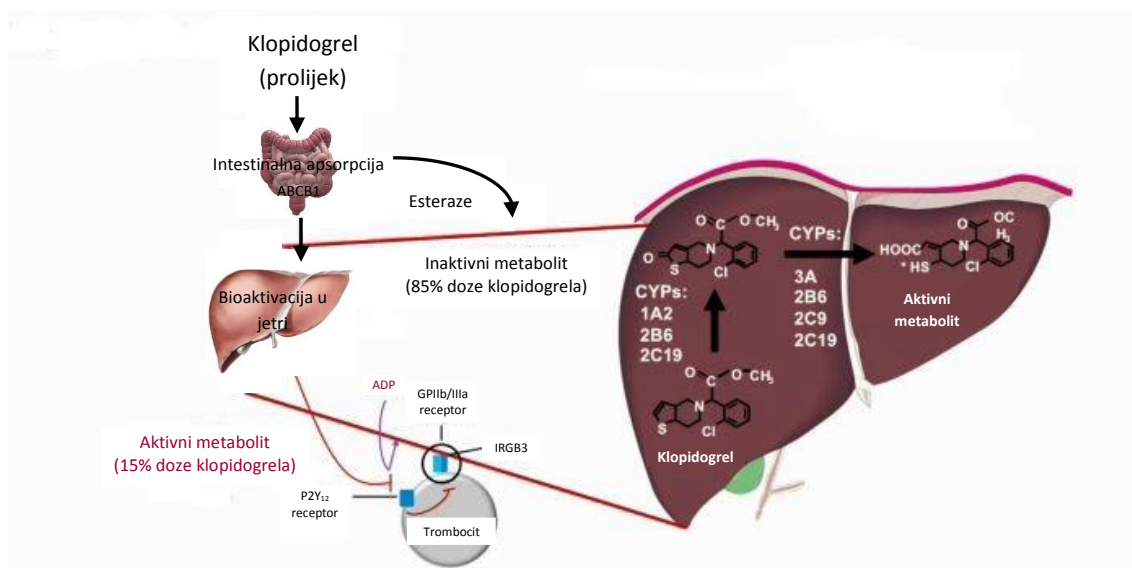
1.5.4.1. Acetilsalicilna kiselina

Acetilsalicilna kiselina (ASK) je nesteroidni protuupalni lijek koji je prvi sintetizirao Felix Hoffman 1897. godine. Iako je od toga prošlo više od stoljeća, ASK je i danas jedan od najkorištenijih lijekova u svijetu (80). Osim kao analgoantipiretik i protuupalni lijek, vrlo je važan zbog svojih antiagregacijskih svojstava koje su opisane tek 1967. godine (81). Svoj antitrombotični učinak ASK ostvaruje neizravno inhibirajući sintezu TXA₂ koji je potentan stimulator aktivacije i agregacije trombocita. Naime, ASK inhibira COX-1 aciliranjem serinskoga ostatka u sredini molekule te tako onemogućuje vezanje supstrata (arahidonske kiseline) na navedeni enzim. COX-1 sudjeluje u biosintezi prostaglandina G iz arahidonske kiseline, koji potom djelovanjem enzima tromboksan sintetaze A prelazi u TXA₂ (82). Antiagregacijski učinak ASK je ireverzibilan jer trombociti ne posjeduju jezgru pa time niti mogućnost sinteze novog enzima COX-1. Iz navedenoga je lako zaključiti da antiagregacijski učinak ASK traje koliko i životni vijek trombocita, a to je 7-10 dana (83). ASK na proces agregacije i koagulacije djeluje i drugim mehanizmima koji su neovisni o inhibiciji COX-1 enzima (84).

ASK je dokazano djelotvoran u smanjenju smrtnosti i ishemijskih neželjenih događaja na velikom broju bolesnika ne samo s ACS (85-88), već i sa širim spektrom KVB kao što su stabilna angina pectoris (89), tranzitorna ishemična ataka (TIA) (90), stanje nakon PCI (91), stanje nakon tromboendarterektomije karotidne arterije (92), ishemijski moždani udar (CVI - cerebrovaskularni inzult) (93-94) i stanje nakon CABG (95-97). Prema aktualno važećim smjernicama ASK se u akutnom koronarnom incidentu daje peroralno u dozi zasićenja od 160-325 mg kako bi se postigao brži antitrombotični učinak, a nakon toga doživotno u dozi održavanja od 75-100 mg dnevno (3, 60, 78, 98). Nakon peroralnoga unosa, ASK se brzo apsorbira i to najviše u želudcu. Mjerljivu koncentraciju u plazmi pokazuje nakon 20 minuta, a vršnu koncentraciju i antitrombotični učinak unutar 60 minuta od ingestije (99). ASK se aktivira već u mukozni gastrointestinalnoga trakta u salicilat i svoj antitrombotični učinak postiže već u portalnoj cirkulaciji. Pomoću esteraza razgrađuje se u inaktivni oblik u krvi i jetri (100). Najvećim dijelom (75%) ASK se izlučuje mokraćom u obliku salicilurične kiseline (101). Kako je poznato da mehanizmi aktivacije trombocita nisu ovisni jedino o putu preko COX-1, a uzevši u obzir činjenicu da određeni broj bolesnika s ACS razvije ponovni ishemijski događaj, nastavila su se istraživanja i razvoj novih antiagregacijskih lijekova s drugačijim mehanizmom djelovanja koji bi s ASK imao komplementaran učinak (77).

1.5.4.2. Klopidođrel

Klopidođrel je lijek koji pripada drugoj generaciji tienopiridina i djeluje kao antagonist ADP receptora (P2Y₁₂) na membrani trombocita (102). Prvi puta je registriran u svijetu 1997. godine, a njegova učinkovitost u sekundarnoj prevenciji ishemijskih događaja i sigurnost primjene je pokazana mnogim studijama i poduprta snažnim dokazima u skupinama bolesnika s različitim srčanožilnim bolestima uključujući naravno i ACS (75, 106). Klopidođrel je prolijek koji se biotransformacijom metabolizira u aktivni oblik. Bioraspoloživost mu ne ovisi o hrani te se nakon peroralnog unosa u većem dijelu apsorbira u crijevima i veže na proteine plazme. Znatan dio lijeka u krvi se hidrolizom inaktivira (85%), dok se 15% lijeka u jetri preko citokrom-P450 (CYP) izoenzima oksidira kroz dva koraka u aktivni metabolit koji ireverzibilno inhibira P2Y₁₂ receptor na trombocitima. U prvom koraku, prolijek se katalizira s tri izoenzima (CYP1A2, CYP2B6 i CYP2C19) u 2-okso-klopidođrel, a u drugom koraku biotransformira se u tiolni derivat R-130964 preko CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 i CYP3A4 izoenzima (103-105). Shema bioaktivacije klopidođrela prikazana je na slici broj 4.



Slika 4. Bioaktivacija klopidođrela (prema Simon i sur. (105) uz dozvolu *Copyright Massachusetts Medical Society*).

Kao i ASK, klopidogrel ireverzibilno inhibira funkciju trombocita, a učinak mu traje koliko i vijek samoga trombocita. Rezultati studije CURE i PCI-CURE prvi su pokazali na velikom broju bolesnika učinkovitost dodatka klopidogrela ASK u smanjenju neželjenih kardiovaskularnih događaja i do 30% kod bolesnika s NSTEMI-ACS i u onih koji su liječeni s PCI (75, 106). Daljnja istraživanja pokazala su korist i sigurnost primjene ASK s klopidogrelom i u skupini bolesnika sa STEMI bez obzira na odabranu reperfuzijsku strategiju liječenja (107-109). Klopidogrel se inicijalno u liječenju ACS daje u većoj dozi radi bržeg zasićenja i antitrombocitnoga učinka, a potom u manjoj dnevnoj dozi održavanja. U dozi zasićenja od 600 mg postiže se maksimalni antiagregacijski učinak nakon 2 sata, dok se uz dozu od 300 mg maksimalni učinak očekuje nakon 4-6 sati (110, 111). Standardna doza održavanja klopidogrela je 75 mg/dan. U studiji CURRENT OASIS 7 pokazano je kako su bolesnici s ACS koji su primali prvih sedam dana nakon rane PCI dvostruko veću dozu održavanja klopidogrela, nakon 30 dana imali značajno manje nepoželjnih kardiovaskularnih događaja u usporedbi s bolesnicima koji su liječeni standardom dozom održavanja od 75 mg/dan uz porast incidencije velikih krvarećih komplikacija za 0,5% (112). Zbog navedenoga, prema smjernicama se tijekom prvih sedam dana nakon primarne PCI može davati i 150 mg klopidogrela na dan, ukoliko rizik od krvarenja nije visok. Prema aktualnim smjernicama DAPT se provodi neprekidno tijekom 12 mjeseci nakon PCI ukoliko za to ne postoji kontraindikacija ili potreba za kroničnom konkomitantnom antikoagulantnom terapijom (3, 60, 78, 98).

1.5.4.3. Ostali antiagregacijski lijekovi

Tiklopidin je tienopiridin prve generacije. Zbog lošijih farmakokinetičkih svojstava, potrebe za uzimanjem lijeka dva puta dnevno, lošijeg profila podnošljivosti u smislu pojave gastrointestinalnih smetnji, ali i ozbiljnih nuspojava poput aplastične anemije, tiklopidin je postao opsolentan i prepustio je svoje mjesto klopidogrelu gotovo u potpunosti (113, 114).

Prasugrel je jedan od novijih antiagregacijskih lijekova koji je registriran u Europi 2009. godine i pripada trećoj generaciji tienopiridina. Prasugrel sve više dolazi u kliničku uporabu u bolnice diljem svijeta. Metabolizam prasugrela razlikuje se od klopidogrela u tome što je nakon inicijalne hidrolizacije prolijeka za aktivaciju potreban samo jedan kemijski korak i to dominantno preko enzima CYP3A4 i CYP2B6. U odnosu na klopidogrel, farmakogenetske studije nisu pokazale utjecaj različitih varijanti genotipa CYP izoenzima na produkciju aktivnoga metabolita prasugrela i njegov konačni

antitrombocitni učinak (115). Prasugrel ireverzibilno inhibira ADP receptor na trombocitima i ima snažniji antitrombocitni učinak od starijih tienopiridina. Antitrombocitni učinak prasugrela nastupa ranije u odnosu na klopido­grel i tiklopidin zbog boljih farmakokinetičkih svojstava u smislu brže aktivacije lijeka te veće stabilnosti aktivnog spoja što ga čini otpornijim na djelovanje razgrađujućih enzima esteraza (116). Prasugrel se uzima peroralno u dozi zasićenja od 60 mg i dozi održavanja od 10 mg/dan. Vršna vrijednost aktivnog metabolita postiže se 30 minuta po ingestiji uz vrijeme poluraspada od sedam sati (117). PRINCIPLE-TIMI 44 studija pokazala je da se dozom zasićenja prasugrela od 60 mg i dozom održavanja od 10 mg/dan postiže veća inhibicija trombocita u odnosu na preporučenu dozu zasićenja klopido­grelom i njegovu dvostruku dozu održavanja (118).

Studija koja je dokazala superiornost u liječenju prasugrelom naspram klopido­grela na velikom broju bolesnika s ACS koji su bili podvrgnuti PCI bila je TRITON-TIMI 38. Rezultati navedene studije pokazali su kako su bolesnici koji su bili na ASK i prasugrelu imali relativno smanjenje kombiniranoga kardiocerebrovaskularnoga ishoda (MACCE - engl. *major adverse cardiac and cerebrovascular events*) za 19% u odnosu na bolesnike koji su liječeni s ASK i klopido­grelom, ali uz više epizoda krvarenja (119). Prasugrel je uvršten u smjernice liječenja STE-ACS s jednakom razinom preporuke kao i klopido­grel (*Class of recommendation - I*), a preporuča se koristiti kod bolesnika mlađih od 75 godina koji nisu ranije bili na terapiji blokatorom ADP receptora i koji nisu ranije imali TIA ili CVI (60, 78). Kod bolesnika s NSTEMI-ACS preporučuje se koristiti prasugrel u onih bolesnika kod kojih je poznata koronarna anatomija i koji će biti liječeni s PCI, a nemaju veliki rizik za fatalna krvarenja i nisu ranije imali CVI ili TIA (3, 98).

Tikagrelor je prvi reverzibilni oralni antagonist P2Y₁₂ receptora na trombocitima koji blokira kaskadu agregacije vrlo brzo s maksimalnim antiagregacijskim učinkom nakon 30 minuta. Tikagrelor je ciklopentil-triazolo-pirimidin, antitrombocitni lijek nove kemijske klase, a osim što ima reverzibilni i brži učinak, od tienopiridina ga boljim čini i to što ne zahtijeva metaboličku aktivaciju kako bi postigao svoj antitrombocitni učinak. Multicentrična, randomizirana, dvostruko slijepa studija PLATO s preko 18 000 bolesnika s ACS pokazala je kliničku superiornost uporabe tikagrelora s ASK nad kombinacijom klopido­grela i ASK u smislu značajne redukcije kardiovaskularne smrtnosti, AIM i CVI bez povećanja pojavnosti ukupnoga krvarenja, no uz veću incidenciju krvarećih epizoda nevezanih za proceduru (120). Tikagrelor je registriran za uporabu u Europi 2010. godine te je sve više dostupniji i korišteniji u kliničkoj praksi. Prema važećim

smjernicama ESC-a i američkih kardioloških udruženja u liječenju bolesnika s ACS, tikagrelor ima razinu preporuke prvog stupnja u dozi zasićenja od 180 mg te dozi održavanja od dva puta dnevno po 90 mg (3, 60, 78, 98).

Kangrelor je reverzibilni, intravenski antitrombocitni lijek iz iste kemijske skupine kao tikagrelor, kojemu je i bio preteča u laboratorijskom razvoju. Kangrelor je selektivni inhibitor P2Y₁₂ receptora s poluvijekom života od 3-6 minuta. U trećoj fazi kliničkoga ispitivanja u skupini bolesnika nakon PCI (većina ispitanika s ACS) nije došlo do poboljšanja ishoda uz periproceduralnu primjenu kangrelora (121, 122).

Voraksapar i atoksapar su PAR-1 inhibitori (engl. *protease-activated receptor-1*). Svojim djelovanjem inhibiraju trombin koji je potentan agonist aktivacije trombocita. Klinička istraživanja u skupini bolesnika s ACS i stabilnom CAD pokazala su loše rezultate, prvenstveno zbog povećane incidencije krvarećih događaja kod bolesnika koji su primali inhibitor PAR-1 (123, 124).

Inhibitori glikoproteinskih (GP) IIb/IIIa receptora (abciximab, tirofiban i eptifibatid) vrlo su potentni antitrombocitni lijekovi. Blokirajući GPIIb/IIIa receptore na trombocitima inhibiraju vezanje trombocita međusobno te za proteine plazme, osobito fibrinogen. Njihova je velika moć u tome što blokirajući posljednji korak aktivacije trombocita mogu zaustaviti trombogenezu ovisnu o trombocitima bez obzira kojim je mehanizmom trombogenezu pokrenuta. Sva tri spomenuta lijeka sličnog su učinka, ali nisu međusobno uspoređivana u velikim kliničkim studijama. GPIIb/IIIa inhibitori se uz DAPT koriste periintervencijski, prvenstveno kod bolesnika s ACS koji imaju neoptimalni mehanički rezultat nakon PCI, perzistentno sporiji koronarni protok, defekte punjenja koronarne arterije zbog prisustva tromba i/ili perifernu koronarnu embolizaciju (125, 126).

Uspokos značajnim napredcima i otkrićem novih antitrombocitnih lijekova, kao što su prasugrel i tikagrelor koji imaju visoku preporuku i razinu dokaza u liječenju ACS, klopidogrel je i dalje jedan od najčešće propisivanih lijekova u svijetu (127). Nedovoljna prodornost potentnijih inhibitora P2Y₁₂ receptora i još uvijek velikog prisustva i važnosti klopidogrela određenim je dijelom ekonomski uvjetovana, ali je navedeno vjerojatno posljedica i podcjenjivanja ishemijskoga rizika od strane liječnika te straha od jatrogenih krvarećih komplikacija. Određenim dijelom, slabija prodornost tikagrelora može se pripisati i sumnjama koje su se javile u vjerodostojnost rezultata ranije spomenute PLATO studije zbog geografskih razlika u rezultatima. Navedena studija trenutačno je pod istragom pravosudnih tijela u Sjedinjenim Američkim Državama (128).

1.6. Oslabljeni učinak klopidogrela

1.6.1. Varijacija antitrombocitnoga učinka klopidogrela

Unatoč tome što dodatak klopidogrela ASK donosi dodatnu korist, oko 15% bolesnika uz DAPT razvije ponovni ishemijski incident (129). Istraživači su tako, ispitivajući uzroke tih događaja, primijetili da među bolesnicima postoji određena varijabilnost u učinku klopidogrela. Od 2003. godine u literaturi se počinje opisivati fenomen rezistencije na klopidogrel, to jest oslabljenog odgovora na klopidogrel. Naime, usprkos relativno jakom antitrombocitnom učinku kod nekih bolesnika, postojala je i skupina ljudi koja je imala smanjenu inhibiciju trombocita i veću incidenciju ponovljenih ishemijskih događaja (130-133). Interindividualna varijabilnost na klopidogrel posljedica je više uzroka i pod utjecajem je kliničkih, staničnih i genetskih čimbenika (134). Primijećeno je kako je varijacija odgovora na klopidogrel i u akutnoj i u mirnoj fazi CAD distribuirana pravilnom Gaussovom krivuljom (135). To je primijećeno i u skupini bolesnika kojima su davane visoke doze zasićenja lijekom (130, 136). Neuspjeh terapije klopidogrelom usko je definirana kao nedovoljno postignuta inhibicija P2Y₁₂ receptora mjerena određenim agregometrijskim uređajima i laboratorijskim metodama. Važno je istaknuti kako bolesnik može razviti novi neželjeni ishemijski događaj i kada su P2Y₁₂ receptori potpuno blokirani, to jest kada je učinak klopidogrela maksimalan jer se trombociti mogu aktivirati putevima neovisnim o ADP receptorima. Osim što postoji velika interindividualna razlika u inhibiciji trombocita klopidogrelom, određeni broj bolesnika potpuno je neosjetljiv na njegovu primjenu i ima potpunu rezistenciju na klopidogrel (137). Varijacije u odgovoru na klopidogrel zabilježene su i kod istoga pojedinca tijekom vremena (138-140). Spomenute opservacije potakle su daljnja intenzivna istraživanja kako bi se otkrili čimbenici koji utječu na varijacije u učinku klopidogrela, ali i razvili novi, u ranijem tekstu opisani, potentniji antitrombocitni lijekovi.

1.6.2. Uzroci neadekvatnoga učinka klopidogrela

Dosada je više čimbenika povezivano s oslabljenim antiagregacijskim učinkom klopidogrela (Tablica 2.).

Tablica 2. Čimbenici koji se povezuju s oslabljenim učinkom klopidogrela.

Bolesti	Stanični čimbenici	Genetika	Ostalo
Akutni koronarni sindrom	Pojačana sinteza trombocita	Geni CYP izoenzima	Nesuradljivost
Šećerna bolest	Pojačana ekspozicija ADP-a	Geni membranskih receptora trombocita	Neadekvatna doza
Hiperkolesterolemija	Aktivacija preko P2Y ₁₂ neovisnog puta (kolagen, adrenalin, trombin)	Gen za P-gp transporter	Starija dob
Pretilost			Preegzistentna varijabilnost funkcije trombocita
			Interakcije lijekova

ADP - adenzin difosfat; CYP - citokrom P450; P-gp - P-glikoprotein

Jedan od glavnih čimbenika nedovoljnoga učinka klopidogrela je nesuradljivost bolesnika, ali i nedovoljno doziranje lijeka (141). Studije su pokazale kako se u ACS davanjem 600 mg klopidogrela postiže bolja inhibicija agregacije trombocita u odnosu na dozu od 300 mg, no nisu nađene značajne razlike u antitrombocitnom učinku između doze zasićenja od 600 mg i 900 mg (142-144). Kastrati je pokazao kako 600 mg doze zasićenja kod bolesnika koji su na kroničnoj terapiji klopidogrelom od 75 mg/dan dovodi do još izraženije inhibicije funkcije trombocita što ukazuje kako klasična doza održavanja od 75 mg/dan ne postiže maksimalan učinak te da je moguće višim dozama održavanja postići bolju inhibiciju funkcije trombocita (145). Na tom tragu je u studiji CURRENT OASIS 7 pokazano da su bolesnici koji su u ACS liječeni u prvih tjedan dana dvostrukom dozom održavanja klopidogrela (150 mg/dan) imali bolji klinički ishod nakon 30 dana u odnosu na bolesnike koji su liječeni standardnom dozom od 75 mg/dan (112). Studija OPTIMUS pokazala je kako povišenje doze održavanja klopidogrelom sa 75 mg/dan na 150 mg/dan kroz 30 dana kod bolesnika sa šećernom bolesti na kroničnoj terapiji klopidogrelom dovodi do bolje inhibicije funkcije trombocita, ali je također primijećeno kako je u ispitivanoj skupini 60% bolesnika i dalje imalo visoku ostatnu reaktivnost trombocita (RT) (146).

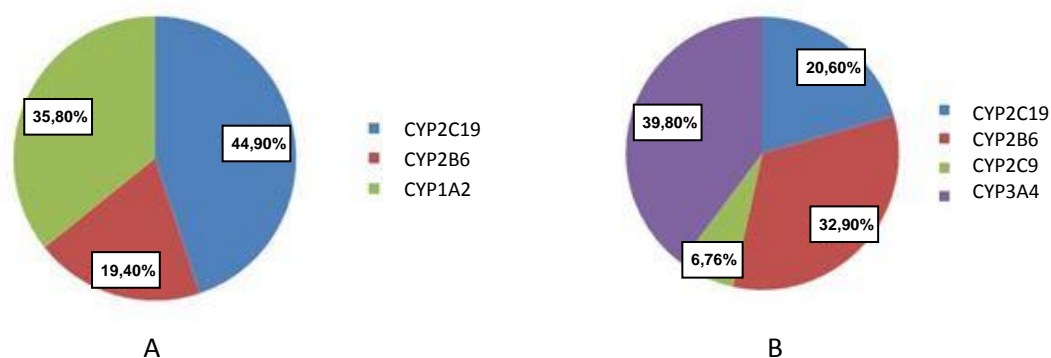
ACS je hiperkoagulabilno stanje koje može pridonositi slabijem odgovoru na klopidogrel. Naime, pokazano je kako dodatkom trombinu sličnog aktivirajućeg peptida (TRAP, engl. *thrombin-related activating peptide*) klopidogrel ne uspijeva značajnije inhibirati trombocite. Ovo može objasniti slabiji antitrombocitni učinak klopidogrela u stanjima pojačane sinteze trombina kao što je ACS (111, 147). Slabiji učinak klopidogrela je prema istraživanjima češće prisutan kod pretilih bolesnika, onih s hiperkolesterolemijom, inzulinskom rezistencijom, šećernom bolesti te u starijih osoba (130, 148-150). Slabiji učinak klopidogrela može biti povezan i s primjenom nekih lijekova koji imaju sličan mehanizam aktivacije koji zahtijeva biotransformaciju istim enzimskim sustavom kao klopidogrel. Od češće propisanih lijekova koje bolesnici koriste uz klopidogrel, studije su najviše opisivale interakcije s omeprazolom (151-153), atorvastatinom (154) i amlodipinom (155, 156). Od manje učestalih interakcija, slabiji antiagregacijski učinak klopidogrela opisan je uz primjenu CYP3A4 inhibitora (eritromicin, ketokonazol), a pojačani antiagregacijski učinak uz induktor CYP3A4 (rifampicin) (157). Pojačanje aktivnosti trombocita na terapiji klopidogrelom opisano je i uz konzumaciju kofeina, pušenje i primjenu omega-3-masnih kiselina (158-160). Ipak, ne postoji jasan dokaz kliničkog značaja navedenih interakcija. Prema tome, ukoliko bolesnik ima indikaciju za konkomitantnom uporabom inhibitora protonske pumpe (IPP), blokatora kalcijских kanala i/ili statina, korist njihove upotrebe veća je od eventualnog rizika promijenjenoga učinka klopidogrela.

1.6.2.1. Farmakogenetika klopidogrela

Poznavajući složeni mehanizam bioaktivacije klopidogrela, mnoge su studije ispitivale utjecaj polimorfizma gena koji kodiraju enzime odgovorne za apsorpciju i bioaktivaciju klopidogrela te membranski receptor P2Y₁₂. Tako su pokazane varijabilnosti u učinku klopidogrela kod bolesnika s polimorfizmom MDR1 (ABCB1) gena (engl. *multidrug resistance gene-1; ATP-binding cassette protein subfamily B*) koji kodira transporter P-gp (P-glikoprotein) čija je funkcija intestinalna apsorpcija klopidogrela (161, 162). Jedna metaanaliza pokazala je povezanost pojavnosti velikih neželjenih kardijalnih događaja (MACE - engl. *major adverse cardiac events*) i genotipa ABCB1 kod bolesnika koji uzimaju klopidogrel, ali nije pokazala povezanost genotipa sa stupnjem inhibicije RT-a koja bi se očekivala (163). Metaanalize koje su proveli Luo i Singh sa suradnicima nisu pokazale povezanost genotipa ABCB1 s kliničkim ishodima bolesnika na klopidogrelu (164, 165).

Paraoksonaza-1 je esteraza koja sudjeluje u bioaktivaciji 2-okso-klopidogrela u farmakološki aktivni tiolni derivat. Polimorfizam PON1 gena koji kodira enzim paraoksonazu-1 također je istraživan i opisan kao mogući uzrok varijabilnosti antitrombotičnog učinka klopidogrela (166). Fontana i suradnici pokazali su na zdravim dobrovoljcima kako su nositelji H2-haplotipa gena za P2Y₁₂ receptor na membrani trombocita imali maksimalni agregacijski odgovor na ADP (167), ali nije pokazano kako različite varijante navedenog gena imaju značajan utjecaj na terapijski učinak klopidogrela u bolesnika sa CAD (168-172). Slično je bilo i s proučavanjem ITGB3 gena koji kodira GPIIb/IIIa receptor na membrani trombocita čija je aktivacija zadnji korak u signalnom putu svih agonista aktivacije trombocita. Inicijalno nađena poveznica s oslabljenim odgovorom na klopidogrel (173) nije potvrđena u novijoj većoj studiji u kojoj nije nađen značajan utjecaj polimorfizma navedenoga gena na klinički ishod bolesnika (105). Da je utjecaj bilo kakve varijacije u receptorima i signalnim putevima trombocita klinički irelevantan na konačan učinak klopidogrela ukazuje i Wallentin sa suradnicima koji je pokazao da se oslabljeni učinak klopidogrela može prevladati *ex vivo* davanjem aktivnog metabolita neovisno o inicijalnoj vrijednosti RT nakon 600 mg doze zasićenja i nakon 75 mg doze održavanja (174). Ovo ukazuje da varijabilnost odgovora trombocita na klopidogrel najviše ovisi upravo o koncentraciji aktivnog metabolita klopidogrela u plazmi.

U ranijem tekstu detaljno je opisana uloga CYP450 sustava izoenzima u bioaktivaciji klopidogrela. Relativni udio pojedinih CYP izoenzima u tim procesima prikazan je na slici broj 5.



Slika 5. Relativni doprinos pojedine izoforme humanog CYP450 enzima u bioaktivaciji klopidogrela u jetri. A - prvi korak oksidacije; B - drugi korak oksidacije (prema Kazui i sur. (175)).

CYP2C19 izoenzim sudjeluje u oba koraka biotransformacije klopidoigrela s vrlo značajnom doprinosom. Gen za CYP2C19 nalazi se na 10. kromosomu (10q24.1-q24.3) i sastoji se od devet eksona, a do sada je otkriveno 38 varijanti gena (176). Postoji značajna razlika u frekvenciji pojavljivanja pojedinih alela CYP2C19 u rasama. Od svih varijanti, alel CYP2C19*2 najviše je povezan sa stvaranjem nefunkcionalnoga proteina, a nalazi se u 30% pripadnika žute rase, 13% bijele i 18% pripadnika crne rase (177, 178). Sniženu agregaciju trombocita na klopidoigrel u nosioca alela CYP2C19*2 prvi je pokazao Hulot 2006. godine na zdravim ispitanicima (179). Mega i suradnici su također pokazali kod zdravih dobrovoljaca kako su nositelji varijante gena CYP2C19 s gubitkom funkcije enzima imali manju razinu aktivnoga metabolita klopidoigrela u plazmi i manju inhibiciju RT. Time su ukazali na značajnu ulogu ovoga enzima u farmakokinetici klopidoigrela. Ista skupina istraživača pokazala je na 1 477 bolesnika s ACS i PCI iz populacije TRITON-TIMI 38 studije kako su oni bolesnici koji nose varijantu gena povezanu s gubitkom funkcije CYP2C19 enzima imali statistički značajnu veću incidenciju neželjenih događaja poput ponovnoga AIM, tromboze u stentu i ukupne kardiovaskularne smrtnosti tijekom 15 mjeseci praćenja (180). Giusti i suradnici pokazali su povezanost nosilaštva alela CYP2C19*2 i povećanog rizika od tromboze u stentu i ukupne kardiovaskularne smrtnosti na 772 bolesnika nakon PCI, a slične rezultate objavili su i mnogi drugi istraživači (105, 181-184). Zbog navedenih otkrića je i američka regulatorna agencija za lijekove FDA (engl. *Food and Drug Administration*) uz klopidoigrel izdala upozorenje u kojem navodi kako bolesnici koji su nositelji alela CYP2C19*2 slabije metaboliziraju lijek i imaju povišeni rizik od ishemijskih događaja (185).

Nasuprot tome, poznato je kako je alel CYP2C19*17 povezan s pojačanom aktivnosti CYP2C19 enzima te posljedičnim pojačanim učinkom klopidoigrela i većim rizikom za krvarenje (186). Istraživanja koja su ispitivala utjecaj polimorfizma ostalih izoenzima CYP450 koji sudjeluju u biotransformaciji klopidoigrela nisu pokazala klinički značajnu povezanost sa slabijom agregabilnošću trombocita i ishodima liječenja bolesnika (187).

1.6.3. Metode mjerenja učinka klopidogrela

Opservacije o povezanosti ostatne RT s kliničkim ishodom bolesnika nakon PCI pokrenule su klinička ispitivanja kako bi se odredila najbolja metoda određivanja funkcije trombocita i apsolutne vrijednosti koje bi determinirale pojačanu, optimalnu i oslabljenu RT. Tijekom godina razvijeno je više uređaja s različitim metodama mjerenja RT. Dok svjetlosna agregometrija (LTA - engl. *light transmission aggregometry*) predstavlja povijesni zlatni standard, razvijeniji su noviji, jednostavniji uređaji od kojih je najspecifičniji za kvantificiranje farmakodinamičnog učinka klopidogrela fosforilacija vazodilatatorom-stimuliranoga fosfoproteina (VASP-P engl. *vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation*) koja mjeri cAMP ovisnu fosforilaciju VASP-a preko P2Y₁₂ receptora (188-190). Metoda koja je korištena u izradi ove disertacije je impedancijska agregometrija s uređajem Multiplate[®] *function analyzer* (Roche Diagnostics, Mannheim, Njemačka). Navedena metoda dokazana je i u široj uporabi, a pokazala je i bolju predikciju od VASP-P-a za pojavu najopasnije posljedice oslabljenog učinka klopidogrela - tromboze u stentu (191). Radna skupina ESC-a za trombozu preporuča u monitoriranju funkcije trombocita koristiti Multiplate[®], VerifyNow[®] ili VASP-P metodu, a LTA tek ukoliko navedene metode nisu dostupne (192). Multiplate[®] i VerifyNow[®] jednostavne su i brze za uporabu te spadaju pod takozvane POC (engl. *point of care*) instrumente. Osobine spomenutih metoda koje mogu ispitati funkciju trombocita u ovisnosti o putu aktivacije preko P2Y₁₂ receptora prikazane su u tablici broj 3.

Tablica 3. Preporučeni testovi za određivanje ostatne reaktivnosti trombocita uz terapiju inhibitorom P2Y₁₂ receptora (prema Aradi i sur. (192)).

Naziv	Princip određivanja reaktivnosti trombocita	Vrijednost optimalne reaktivnosti trombocita	Prednosti	Nedostaci
LTA (svjetlosna agregometrija)	Mjeri propusnost svjetla u PRP nakon dodatka ADP-a	Ovisna o različitoj koncentraciji korištenog agonista ADP 5 µmol/L < 50% ADP 10 µmol/L ≤70% ADP 20 µmol/L <60%	Dugo u uporabi, smatra se povijesnim zlatnim standardom	Cijena, kompleksna i duga priprema uzoraka, potreban iskusan laborant, ne koristi se puna krv
Multiplate®	Mjeri porast otpora na elektrodama uronjenim u testni uzorak nakon dodatka ADP-a	19-46 U ili 188-468 AU x min	Jednostavan, brz, POC, koristi se puna krv, izvodi se više testova istovremeno	Relativno kratak period stabilnosti reagensa nakon otapanja
VerifyNow®	Mjeri propusnost svjetlosti ovisno o jačini agregacije nakon dodatka ADP-a	85-208 PRU	Jednostavan, brz, POC, koristi se puna krv, nema izravne manipulacije s krvi	Cijena, ne može se ispitivati više uzoraka krvi istovremeno
VASP-P	Kvantificira količinu fosforiziranog VASP-a monoklonalnim protutijelima	PRI 16-50%	Koristi se puna krv za analizu, specifičan za P2Y ₁₂ put aktivacije	Rutinski nedostupno, dug postupak izvođenja, zahtijeva iskusnog laboranta

ADP - adenzin difosfat; POC - uz krevet bolesnika; PRI - indeks reaktivnosti trombocita; PRP - plazma bogata trombocitima; PRU - P2Y₁₂ Reaction Units; VASP-P - fosforilacija vazodilatatorom-stimuliranog fosfoproteina

Testovi određivanja funkcije trombocita (PFT - engl. *platelet function testing*) u bolesnika s CAD mogu se koristiti za monitoriranje antiagregacijske terapije u ACS i predviđanje kliničkih ishoda. U prilagođavanju antiagregacijske terapije uloga PFT još nije dokazana. Jedno od ograničenja u dosadašnjim istraživanjima je svakako predstavljala činjenica što nijedan test agregabilnosti ne može kvantificirati i opisati čitavu kompleksnost biologije i funkcije trombocita (193, 194).

1.6.4. Prilagodba antitrombotične terapije blokatorom P2Y₁₂ receptora u bolesnika s visokom ostatnom reaktivnošću trombocita uz klopido­grel - pregled dosadašnjih istraživanja

Prilagodbi antitrombotične terapije u skupini bolesnika s povišenom ostatnom reaktivnošću trombocita (HTPR - engl. *high on-treatment platelet reactivity*) uz klopido­grel može se pristupiti na slijedeća tri načina:

- povišenjem doze klopido­gre­la
- zamjenom klopido­gre­la s novijim inhibitorom P2Y₁₂ receptora (tikagrelor, prasugrel)
- dodavanjem trećega antitrombotičnoga lijeka.

Od spomenutih, najzanimljivija su i najispitivanja bila prva dva načina prilagodbe terapije. Već spomenuta CURRENT-OASIS 7 studija koja je obuhvatila preko 25 000 bolesnika s ACS pokazala je kako su bolesnici koji su primali prvih sedam dana dvostruko veću dozu održavanja klopido­gre­la od 150 mg/dan imali nakon 30 dana manje nepoželjnih kardiovaskularnih događaja (AIM, tromboza u stentu, CVI, kardiovaskularnu smrtnost) u usporedbi s bolesnicima koji su liječeni standardom dozom održavanja klopido­gre­la od 75 mg/dan, ali uz porast incidencije velikih krvarećih komplikacija za 0,5%. Prednost takvog pristupa pokazana je u podskupini bolesnika koji su liječeni s PCI (112). Mnogi istraživači bili su na tragu ideje kako se pojačanom i/ili prilagođenom dozom klopido­gre­la prema rezultatima mjerenja ostatne RT može optimizirati liječenje i smanjiti incidencija ishemijskih događaja. Gremmel i suradnici pokazali su, koristeći tri različite metode mjerenja RT (VASP-P, Multiplate[®], VerifyNow[®]), da je u skupini bolesnika s pojačanom dozom klopido­gre­la značajno manja incidencija HTPR (195). Bonello i suradnici su pomoću VASP-P testa identificirali bolesnike s UA i NSTEMI koji su imali HTPR. Ispitivanoj skupini davali su dodatne doze zasićenja klopido­gre­lom od 600 mg svakih 24 sata dok nisu postigli VASP indeks manji od 50% ili do maksimalno 4 doze zasićenja. Tada su bolesnici liječeni s PCI. Kontrolna skupina je liječena standardnim dozama antitrombotičnih lijekova i također je podvrgnuta PCI. Ova studija je uključila 162 bolesnika. Nakon 30 dana praćenja rezultati su pokazali da u grupi bolesnika kojima je prilagođavana terapija prije PCI nije bio niti jedan novi ishemijski događaj (koronarna revaskularizacija, AIM, kardiovaskularna smrt) u odnosu na osam novih ishemijskih događaja u skupini u kojoj su bolesnici bez prilagodbe doze bili podvrgnuti PCI (196).

Veliko razočaranje u ispitivanju prilagodbe terapije klopidogrelom kod bolesnika s HTPR pokazala je multicentrična, randomizirana studija GRAVITAS objavljena 2011. godine. U toj studiji su bolesnicima, većinom sa stabilnom CAD, određivali RT pomoću VerifyNow® uređaja 12-24 sata nakon PCI. Povećanjem doze klopidogrela do ukupne doze zasićenja prvog dana od 600 mg i daljnjom dozom održavanja od 150 mg/dan u ispitivanoj skupini nije postignut bolji klinički ishod nakon šest mjeseci u odnosu na kontrolnu skupinu liječenu standardnim dozama klopidogrela (197). Sve značajnije studije koje su ispitivale utjecaj prilagođavanja doze klopidogrela prema PFT na klinički ishod bolesnika prikazane su u tablici broj 4.

Tablica 4. Značajne studije ispitivanja pojedinačne prilagodbe doze blokatora P2Y₁₂ receptora kod bolesnika s HTPR na klopidogrel liječenih s PCI.

Studija	Broj ispitanika	Dijagnoza ispitanika	Način prilagodbe terapije u ispitivanoj skupini	Metoda određivanja RT	Vrijeme praćenja	Rezultati
Bonello i sur. (196)	162	UA (52%), NSTEMI (48%)	Do 4 LD od 600 mg ili dok se ne postigne adekvatna inhibicija trombocita prije PCI.	VASP-P	30 dana	Bolesnici u ispitivanoj skupini nisu imali niti jedan MACE u odnosu na 8 novih ishemijskih događaja u kontrolnoj skupini.
Bonello i sur. (198)	429	Stabilna angina pektoris (48%), NSTEMI-ACS (52%)	Do 4 LD od 600 mg ili dok se ne postigne adekvatna inhibicija trombocita prije PCI.	VASP-P	30 dana	Stopa ST i MACE bila je manja u ispitivanoj skupini (p<0,05). Nije bilo razlike u krvarećim komplikacijama.
Price i sur. (GRAVITAS) (197)	2214	60% stabilna angina pektoris, 29% UA, 10%NSTEMI, 0,4%STEMI	Nakon PCI 600 mg LD, 150 mg MD.	VerifyNow®	6 mjeseci	Bez razlike u pojavnosti neželjenih događaja (2,3%:2,3%). Bez značajne razlike u krvarećim događajima.
Wang i sur. (199)	306	Nijema ishemijska, UA (80%) NSTEMI (20%)	Nakon 1 mjesec ako je HTPR (PRI > 50%) klopidogrel 150 mg MD. Kontrolna mjerenja svaka tri mjeseca do 12 mjeseci. Ako je PRI > 50% povišenje MD za 75 mg, ako je PRI 25-50% ista doza do kontrole, ako PRI < 25% smanjenje za 75 mg.	VASP-P	12 mjeseci	PRI se značajno smanjio u ispitivanoj skupini u odnosu na kontrolnu skupinu (p=0,001). U ispitivanoj skupini je bilo manje MACE (9.3%:20.4%; p=0,008). Nije bilo razlike u krvarećim komplikacijama (12.9%:16.6%; p=0,06).
Aradi i sur. (200)	74	Stabilna angina pektoris	Nakon PCI LD svima od 600 mg, MD 150 mg kroz 4 tjedna u ispitivanoj skupini. Kontrolna agregometrija nakon 28 dana.	LTA VASP-P	12 mjeseci	Povišena doza klopidogrela značajno je smanjila agregaciju trombocita, a u kontrolnoj skupini je aktivnost trombocita ostala ista. Ispitivana skupina je imala manje MACE (KV smrt, AIM, TVR) (24,6%:3,1%; p=0,01).

Tablica 4. Značajne studije ispitivanja pojedinačne prilagodbe doze blokatora P2Y₁₂ receptora kod bolesnika s HTPR na klopidogrel liječenih s PCI (nastavak).

Studija	Broj ispitanika	Dijagnoza ispitanika	Način prilagodbe terapije u ispitivanoj skupini	Metoda određivanja RT	Vrijeme praćenja	Rezultati
Ari i sur. (201)	94	Stabilna angina pectoris	Nakon PCI MD 150 mg kroz 1 mjesec.	VerifyNow®	6 mjeseci	Bolesnici u kontrolnoj skupini s HTPR imali su statistički značajno više MACCE od ispitivane skupine. Stopa krvarenja bila je slična.
Hazarbasanov i sur. (202)	192	Stabilna angina pectoris (43%), NSTEMI (33%), STEMI (24%)	Nakon PCI 600 mg LD i 150 mg MD kroz 1 mjesec.	Multiplate®	6 mjeseci	Prilagođavanje terapije dovelo je do značajne inhibicije agregacije u ispitivanoj skupini (61U:21,5U; p<0,0001). U ispitivanoj skupini bilo je značajno manje MACCE u odnosu na kontrolnu skupinu.
Collet i sur. (ARCTIC) (203)	2440	Stabilna angina pectoris (73%) i NSTEMI-ACS (27%)	Prije PCI dodatna LD od 600 mg (3,3% bolesnika je dobilo LD prasugrela 60 mg) potom 150 mg MD klopidogrela ili 10 mg MD prasugrela. Nakon 14-30 dana ponovno PFT - bolesnici s HTPR su prebačeni na prasugrel 10 mg MD ili su imali povećanje MD klopidogrela za 75 mg. Bolesnici s LTPR su nastavili uzimati klopidogrel 75 mg MD.	VerifyNow®	12 mjeseci	Stopa MACCE u ispitivanoj skupini je iznosila 34,6%, a u kontrolnoj skupini 31,1% (p=0,1). Nije bilo razlike u stopi krvarenja.
Siller-Matula i sur. (MADONNA) (204)	798	Stabilna angina pectoris (63%), NSTEMI-ACS (27%), STEMI (10%)	Nakon PCI dodatne LD klopidogrela 600 mg (do 4 ukupno) ili prasugrel LD 60 mg i MD 10 mg ovisno o vrijednosti ADP-testa.	Multiplate®	30 dana	Manja stopa ST u ispitivanoj skupini (0,2%:1,9%; p=0,027). Manja stopa AIM u ispitivanoj skupini (0%:2,5%; p=0,048). Bez razlike u stopi KV smrti (2%:1,3%; p=0,422) i velikim krvarenjima (1%:0,3%; p=0,186).
Mrdović i sur. (205)	427	STEMI	Nakon PCI MD klopidogrel 150 mg ili tiklopidin 500 mg.	Multiplate®	30 dana	Bolesnici s HTPR i dobrim odgovorom na prilagođenu terapiju imali su bolji ishod od bolesnika s HTPR koji nisu imali dobar odgovor i onima kojima nije podešavana terapija.

ACS - akutni koronarni sindrom; ADP - adenozin difosfat; AIM - akutni infarkt miokarda; DES - stent koji izlučuje lijek; HTPR - povišena reaktivnost trombocita uz terapiju; KV smrt - kardiovaskularna smrt; LD - doza zasićenja; LTA - svjetlosna agregometrija; LTPR - niska reaktivnost trombocita uz terapiju; MACCE - veliki neželjeni kardijalni i cerebrovaskularni događaji; MACE - veliki neželjeni kardijalni događaji; MD - doza održavanja; NSTEMI - infarkt miokarda bez ST-elevacije; PCI - perkutana koronarna intervencija; PFT - test reaktivnosti trombocita; RT - reaktivnost trombocita; ST - tromboza u stentu; STEMI - infarkt miokarda sa ST-elevacijom; TVR - revaskularizacija ciljne lezije; UA - nestabilna angina pectoris; VASP-P - fosforilacija vazodilatatorom-stimuliranog fosfoproteina

Drugi spomenuti način na koji su istraživači pokušavali nadvladati HTPR je zamjena klopidogrela s novijim, potentnijim inhibitorom P2Y₁₂ receptora. Velika studija koja je ispitala taj model prilagodbe bila je TRILOGY-ACS substudija s monitoriranjem funkcije trombocita. U ovu randomiziranu substudiju uključeno je 27,5% od ukupnog broja bolesnika u TRILOGY-ACS (9 326 bolesnika). Populacija bolesnika uključenih u studiju bili su NSTEMI-ACS bolesnici koji su inicijalno liječeni konzervativnim pristupom. Bolesnici su randomizirani u dvije skupine koje su uzimale ili klopidogrel ili prasugrel. RT mjerila se s VerifyNow[®] uređajem bazalno, nakon 2 sata te nakon 1, 3, 6, 12, 18, 24 i 30 mjeseci. Primarni ishod bili su kardiovaskularna smrt, AIM i CVI. Bolesnici liječeni prasugrelom imali su nižu RT, bez obzira na dob, tjelesnu težinu i dozu lijeka. Između skupina bolesnika na kraju studije nije bilo razlike u stopi MACCE i nije bilo značajne povezanosti između RT i pojavljivanja ishemijskih događaja (206). Jedina velika randomizirana studija koja je ispitivala korisnost davanja novijeg inhibitora P2Y₁₂ receptora bolesnicima s HTPR u odnosu na klopidogrel bila je TRIGGER-PCI koja nije do kraja završena zbog maloga broja neželjenih događaja (207). Recentno objavljeno istraživanje Aradija i suradnika je ispitivalo prednost davanja prasugrela u odnosu na povećanu doze održavanja klopidogrela od 150 mg/dan u bolesnika s ACS i HTPR. Ukupno je uključen 141 bolesnik s HTPR na klopidogrel određenim s Multiplate[®] uređajem, a nakon 200 dana praćenja pokazano je kako su bolesnici koji su bili na prasugrelu imali manju stopu tromboze u stentu i kardiovaskularne smrtnosti. Bolesnici koji su inicijalno pokazali dobru inhibiciju RT uz standardnu dozu klopidogrela imali su nizak rizik za trombotske događaje kao i bolesnici liječeni prasugrelom (208). Studije ARCTIC i MADONNA u kojima se samo kod dijela bolesnika mijenjao blokator ADP receptora, prikazane su u tablici broj 4. Ostale značajne studije koje su ispitivale kliničku korist prilagođavanja antitrombocitne terapije izmjenom klopidogrela s novim inhibitorom P2Y₁₂ receptora ili dodavanjem trećeg antitrombocitnog lijeka uz ASK i klopidogrel prikazane su u tablici broj 5. Iako je i studija ARCTIC koristila inhibitore GPIIb/IIIa receptora za pojačavanje antitrombocitnog učinka kod bolesnika s HTPR, to nije dovelo do boljeg ishoda liječenja bolesnika u ispitivanoj skupini (203).

Tablica 5. Značajne studije ispitivanja prilagodbe antitrombotične terapije korištenjem drugih antitrombotičnih lijekova u bolesnika s HTPR uz klopido­gre­l liječenih s PCI.

Studija	Broj ispitanika	Dijagnoza ispitanika	Način prilagodbe terapije u ispitivanoj skupini	Metoda određivanja RT	Vrijeme praćenja	Rezultati
Trenk i sur. (TRIGGER-PCI) (207)	423	Stabilna angina pektoris i barem jedan implantirani DES	Nakon PCI - LD 60 mg prasugrel MD 10 mg prasugrel	VerifyNow®	6 mjeseci	Bolesnici s prasugrelom su imali nižu RT. Primarni cilj (KV smrt, AIM) je od 423 bolesnika imao samo jedan bolesnik u kontrolnoj skupini te je studija zbog niskog broja događaja ranije prekinuta.
Aradi i sur. (208)	563	ACS	Prasugrel 60 mg LD i 10 mg MD ili novi LD klopido­gre­la od 600 mg i 75/150 mg MD	Multiplate®	9 mjeseci	U skupini s HTPR prasugrel je učinkovitije snizio stopu vaskularne smrtnosti u odnosu na pojačanu dozu klopido­gre­la (p=0,02). ST je bila češća u skupini na klopido­gre­lu u odnosu na prasugrel i bolesnike bez HTPR (p=0,03). Nije bilo razlike u krvarenju.
Valgimigli i sur. (209)	170	Stabilna angina pektoris (47%), NSTEMI-ACS (53%) – predviđeni za koronarografiju ili PCI	Periproceduralno dodatno tirofiban 25 µg/kg bolus, potom 0,15µg/kg /min infuzija	VerifyNow®	48 sati	Manja incidencija periproceduralnog IM u ispitivanoj skupini.
Cuisset i sur. (210)	149	Stabilna angina pektoris	Periproceduralno dodatno abciximab 0,25 µg/kg bolus, potom 0,125µg/kg /min infuzija	LTA	30 dana	Ispitivana skupina imala je manje neželjenih događaja (19%:40%; p=0,006). Nije bilo krvarenja.

ADP - adenzin difosfat; AIM - akutni infarkt miokarda; DES - stent koji izlučuje lijek; KV - kardiovaskularna; LD - doza zasićenja; LTA - svjetlosna agregometrija; MD - doza održavanja; NSTEMI-ACS - akutni koronarni sindrom bez ST-elevacije; PCI - perkutana koronarna intervencija; RT - reaktivnost trombocita

Postoji još studija koje su ispitivale utjecaj prilagođavanja terapije klopido­gre­lom u bolesnika s HTPR na klinički ishod, no nisu uspoređivale ishod sa sličnim bolesnicima, to jest onima koji su također imali HTPR, nego s bolesnicima koji su inicijalno imali dobar odgovor na klopido­gre­l. I tako dizajnirane studije pokazale su kako je ishod bolesnika s inicijalnim HTPR lošiji od bolesnika koji su imali inicijalno optimalnu RT (211).

Iako su spomenute studije pokazale korisnost prilagođavanja terapije inhibitora P2Y₁₂ receptora na klinički ishod, dosada provedene velike, randomizirane, kontrolirane studije nisu pokazale korisnost prilagodbe antiagregacijskog liječenja povišenjem doze klopido­gre­la ili zamjenom klopido­gre­la potentnijim inhibitorom P2Y₁₂ receptora (197, 203, 207). Moguće je kako te studije nisu pokazale dobar rezultat jer su ispitivani

bolesnici bili hipodozirani. Tome u prilog idu i rezultati studije GRAVITAS u kojoj se pokazalo kako je utjecaj doze klopidogrela od 150 mg/dan na RT bio skroman. Određeni i ne mali broj bolesnika (oko 40%) je unatoč prilagodbi terapije i dalje imao HTPR te prema tome i nije bio adekvatno liječen. Nadalje, navedene velike studije su u istraživanje uključivale veliki broj bolesnika sa stabilnom CAD, to jest bolesnike niskog rizika. TRIGGER-PCI studija ispitala je isključivo bolesnike podvrgnute elektivnoj PCI s postavljanjem DES-a. Spomenute studije nisu polučile očekivane rezultate te su dovele u pitanje cijelu ideju korisnosti prilagođavanja antitrombotične terapije prema PFT. Dokaz tome je i studija TRANSLATE POPS čiji su rezultati prikazani na 25. godišnjem znanstvenom simpoziju TCT u listopadu 2013. u San Franciscu (SAD). Naime, studija je pokazala kako u praksi liječnici rijetko koriste i prilagođavaju antitrombotičnu terapiju bolesnicima s AIM prema rezultatima mjerenja RT. Mjerenje funkcije trombocita u toj studiji traženo je kod 66,4% bolesnika u centrima gdje je test bio besplatno dostupan, a samo u 1,4% bolesnika u centrima gdje istraživač nije omogućio besplatno testiranje funkcije trombocita. Prilagodba terapije učinjena je kod 15,9% bolesnika u skupini gdje je testiranje bilo besplatno, a u kontrolnoj skupini kod 11,6% bolesnika. Doza blokatora P2Y₁₂ receptora povisivana je u 1,6% slučajeva u *free-access* skupini, odnosno 1,1% slučajeva u standardnoj skupini bolesnika, dok je promjena inhibitora P2Y₁₂ receptora učinjena kod 14,5% bolesnika u *free-access*, odnosno 10,6% bolesnika u standardnoj skupini (p=0,02). Dostupnost testa nije imala utjecaj na kliničke ishode (212).

1.6.5. Utjecaj genotipa CYP2C19 i prilagođavanja antitrombotične terapije na klinički ishod - pregled dosadašnjih istraživanja

U ranijem tekstu opisan je utjecaj alela CYP2C19*2 na učinak klopidogrela i HTPR (105, 179-184). Bonello i suradnici ispitali su može li se intenzivnijom primjenom klopidogrela u NSTEMI-ACS bolesnika s HTPR koji su nositelji CYP2C19*2 postići adekvatna inhibicija trombocita. Bolesnicima su davali do tri dodatne doze zasićenja klopidogrelom, a RT mjerili su metodom VASP-P. Od 103 bolesnika uspjeli su u 88% bolesnika postići adekvatnu inhibiciju trombocita. Dvanaest bolesnika (12%) usprkos dozi zasićenja klopidogrelom od 2 400 mg nije postiglo adekvatnu inhibiciju trombocita. Unutarbolnički ishod nije bio različit u odnosu na bolesnike s drugim varijantama gena

za CYP2C19 enzim. Dugoročni klinički utjecaj nije ispitivan (213). ELEVATE-TIMI 56 studija pokazala je kako bi za savladavanje HTPR kod bolesnika koji su nosioci jednog alela CYP2C19 povezanog s gubitkom funkcije enzima moglo biti potrebno i do 225 mg klopidogrela (214). Iz ranije spomenute studije GRAVITAS proizašla je substudija GIFT u kojoj se analizirao utjecaj genetskoga polimorfizma CYP2C19, PON1 i ABCB1 gena na preko tisuću bolesnika. Rezultati su pokazali kako je jedino polimorfizam gena za CYP2C19 enzim imao signifikantan utjecaj na jakost učinka klopidogrela i u ranom, ali i u kasnijem razdoblju nakon PCI (215). I iz ARTIC studije proizašla je substudija o farmakogenetici koja je obuhvatila 1 390 bolesnika. Od toga je bilo 935 takozvanih brzih metabolizatora (nosioci alela CYP2C19*17), a 459 sporih metabolizatora klopidogrela. Studija je pokazala naglašeniji pad u prevalenciji HTPR kod brzih metabolizatora što govori da bi genotipizacija CYP2C19 mogla predvidjeti dobar odgovor na terapiju. Ovo ukazuje kako bi stratifikacija rizika i odabir antitrombotičnog liječenja bolesnika mogli biti bazirani na kombinaciji rezultata PFT i farmakogenetike CYP2C19. Rezultati ove studije prikazani su na Europskom kardiološkom kongresu u Amsterdamu u rujnu 2013. godine (216).

U RAPID-GENE studiji prilagođavanje antitrombotične terapije bazirano je prema genotipu CYP2C19 koristeći POC uređaj za određivanje nosilaštva alela CYP2C19*2. U studiju je uključeno 200 bolesnika koji su liječeni s PCI u stabilnoj CAD i ACS. Bolesnici su randomizirani u skupinu kojoj je rađena genotipizacija CYP2C19 i onu koja je liječena standardnim protokolom liječenja. Uređaj za brzo određivanje genotipa CYP2C19 koji je korišten u ispitivanju izolirao je DNA iz brisa bukalne sluznice, a rezultat analize DNA bi izradio za otprilike jedan sat. Nosioci alela CYP2C19*2 nastavili su uzimati prasugrel 10 mg/dan, a nenosioci klopidogrel 75 mg/dan. Primarni cilj ove studije bila je proporcija nositelja CYP2C19*2 s HTPR određenom s VerifyNow[®] uređajem u obje skupine bolesnika nakon tjedan dana. Nijedan bolesnik u genotipizacijskoj skupini s CYP2C19*2 (n=23) nije imao HTPR, dok je u kontrolnoj skupini 30% nositelja CYP2C19*2 imalo HTPR. Nakon 30 dana praćenja nije bilo neželjenih ishemijskih događaja i nije bilo razlika u pojavnosti krvarećih događaja. Pošto je i CYP2C19*2 i HTPR povezan s neželjenim ishodima nakon PCI, ova skupina autora zaključuje da bi najučinkovitija strategija u identificiranju visokorizičnih bolesnika i odabiru optimalne antiagregacijske terapije mogla biti kombinacija korištenja PFT i genotipizacije CYP2C19 (217). Cuisset i suradnici pokazali su kako se povećanjem doze održavanja klopidogrela na 150 mg/dan postigne dobra inhibicija trombocita u 44% bolesnika s inicijalnim HTPR nakon PCI u NSTEMI-ACS. Autori su primijetili kako je

korisnost ovog prilagođavanja bila znatno slabija kod onih bolesnika koji su bili nositelji CYP2C19*2. U navedenoj skupini samo je kod 28% bolesnika postignuta dobra inhibicija RT (218). U studiji GIANT, u koju je uključeno 1 445 bolesnika, ispitivan je ishod u liječenju bolesnika nakon PCI kojima je ostavljena ista terapija ili je prilagođavana individualno prema diskrecijskom pravu ordinarijusa, ali uz uvid u genotip CYP2C19 svakog bolesnika. Od bolesnika s CYP2C19*2 kojih je bilo ukupno 316, terapija je modificirana kod 86% bolesnika većinom zamjenom klopidogrela prasugrelom (83,1%), a manjim udjelom povišenjem doze klopidogrela na 150 mg/dan (16,8%). Stopa primarnog ishoda (smrt, AIM, tromboza u stentu) bila je značajno manja kod bolesnika s CYP2C19*2 kojima je prilagođavana terapija u odnosu na one bolesnike s CYP2C19*2 kojima nije prilagođavana terapija. Nije bilo razlike u stopi primarnog ishoda između bolesnika s prilagođavanom terapijom i bolesnika koji nisu bili nositelji CYP2C19*2. Rezultati ove studije prikazani su na 25. godišnjem znanstvenom simpoziju TCT održanom u listopadu 2013. u San Franciscu (SAD) (219).

1.6.6. Terapijski prozor inhibicije P2Y₁₂ receptora i potencijal za daljnja istraživanja

U uvodu je pokazano sljedeće:

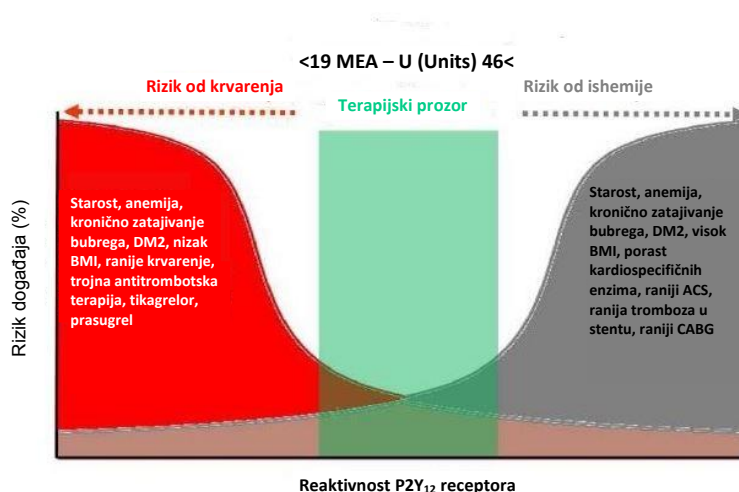
- DAPT (ASK i inhibitor P2Y₁₂ receptora) kroz 12 mjeseci temelj je u liječenju bolesnika s ACS i nakon PCI;
- klopidogrel je najkorišteniji inhibitor ADP - P2Y₁₂ receptora u svijetu;
- postoji određena varijacija u antitrombotičnom učinku klopidogrela među bolesnicima;
- bolesnici s oslabljenim učinkom klopidogrela imaju povećani rizik za nove ishemijske događaje;
- granične vrijednosti optimalne RT za određeni preporučeni PFT su definirane konsenzusom;
- nositelji alela CYP2C19*2 zbog oslabljene biotransformacije klopidogrela imaju češće neadekvatnu inhibiciju P2Y₁₂ receptora i lošije kliničke ishode;
- prilagodbom antitrombotične terapije blokatorom P2Y₁₂ receptora može se u određenom dijelu bolesnika s inicijalnim HTPR nakon doze zasićenja postići adekvatna inhibicija RT i poboljšati klinički ishod;

- PFT ima dokazani prediktivni rizik, ali ne i dokazanu korist u prilagođavanju podešavanja antitrombocitne terapije;
- Rutinska upotreba PFT i genotipizacije CYP2C19 u bolesnika s ACS trenutno se ne preporuča.

Iako su velike opservacijske studije i metaanalize pokazale na preko 20 000 bolesnika da je HTPR uz terapiju klopogrelom jak i neovisan čimbenik koji povećava rizik rekurentnih ishemijskih događaja (211, 220-222), prema važećim smjernicama za liječenje ACS i dalje se uglavnom preporuča uporaba standardnih doza za sve antitrombocitne lijekove. Također, ne preporuča se rutinska uporaba PFT (klasa preporuke - IIb; razina dokaza - C), ali se ista može razmotriti u određenim slučajevima kao što su, primjerice, bolesnici s anamnezom tromboze u stentu ili bolesnici predviđeni za visokorizičnu PCI. Ipak, postoje preporuke vezane za neke specifične demografske varijable bolesnika s ACS liječenih s PCI poput anamnestičkog podatka za TIA ili CVI. Naime, tim bolesnicima ne bi se trebao dati prasugrel. Nadalje, ne preporuča se niti rutinsko provođenje genotipizacije CYP2C19 kod bolesnika na terapiji klopogrelom, ali bi kod određenih bolesnika to moglo biti korisno ukoliko bi rezultat obrade mogao promijeniti način liječenja (3, 60, 78, 98). Za bolesnike sa stabilnom CAD postavljena je klasa preporuke III uz razinu dokaza A za rutinsku upotrebu PFT (223). Navedeno je posljedica nedostatka jasnog dokaza o korisnosti ovakvog pristupa liječenju na većem broju ispitanika i negativnim rezultatima većih randomiziranih studija koje su ispitivale utjecaj prilagođavanja antitrombocitne terapije prema PFT na klinički ishod bolesnika (197, 203, 207). Veća studija koja je u više navrata vršila agregometrijska mjerenja tijekom praćenja bila je već spomenuta TRILOGY-ACS substudija koja je obuhvaćala jedino NSTEMI-ACS bolesnike koji nisu liječeni s PCI. U navedenoj studiji nije vršeno prilagođavanje antitrombocitne terapije prema rezultatima PFT (206). Većina je studija uglavnom dosada bila fokusirana na određivanje RT uz PCI periproceduralno, no poznato je kako se odgovor na klopogrel može i mijenjati kod istog bolesnika tijekom vremena. Campo i suradnici pokazali su da je 27,6% bolesnika, s inicijalnim HTPR fenotipom prije PCI, nakon mjesec dana primjene klopogrela pokazalo optimalan odgovor na standardnu dozu klopogrela, a da je izmjerena RT nakon mjesec dana bila najsnažniji prediktor budućih događaja (224). Promjena RT tijekom vremena također je opisana i u velikoj GRAVITAS studiji u kontrolnoj skupini ispitanika u kojoj nije bilo prilagođavanja antitrombocitne terapije. Istraživači su zabilježili na kontrolnoj agregometriji da je gotovo 40% bolesnika s

inicijalnim HTPR imalo optimalnu RT nakon mjesec dana terapije klopidogrelom (197). Da bi prilagođavanje terapije blokatorom P2Y₁₂ receptora prema PFT imalo koristi kod bolesnika s ACS govore i rezultati analize međunarodnog registra ADAPT-DES i velike južnokorejske studije Parka i suradnika koji su pokazali da je povezanost HTPR s kliničkim ishodima jača kod bolesnika s ACS u odnosu na one sa stabilnom CAD (222, 225).

Konsenzusom je za uređaj Multiplate[®] određeno da vrijednost RT iznad 46 U (*Units*), tj. >468 AU x min (engl. *arbitrary aggregation unit*) predstavlja HTPR uz P2Y₁₂ inhibitor (226), a vrijednost <19 U ili <188 AU x min smatra se pojačanim odgovorom trombocita na P2Y₁₂ inhibitor i povezano je s povišenim rizikom od krvarećih komplikacija (227). Navedeni raspon još se naziva i terapijski prozor (Slika 6.).



ACS - akutni koronarni sindrom; BMI - indeks tjelesne težine; CABG - aortokoronarno premoštenje; DM2 - šećerna bolest tip 2; MEA - Multiplate[®] agregometrija

Slika 6. Terapijski prozor reaktivnosti trombocita u bolesnika liječenih blokatorom P2Y₁₂ receptora izmjereno Multiplate[®] uređajem (prema Tantry i sur. (228) uz dozvolu *Wiley Company* i *Elsevier*).

Prema svemu navedenome, ono što i dalje ne znamo o ovom važnom problemu je sljedeće:

- Koji bolesnici bi mogli imati korist od prilagođavanja terapije inhibitorom P2Y₁₂ receptora?
- Kada i koliko puta bi trebalo provoditi PFT?
- Jesu li predložene vrijednosti terapijskoga prozora definitivne i bi li ih trebalo prilagoditi za različite skupine bolesnika (stabilna CAD, ACS, vrsta stenta...)?
- Je li potrebna rutinska genotipizacija CYP2C19? Ako da, kojim bolesnicima?
- Može li PFT i/ili farmakogenetska analiza odrediti strategiju optimalnoga antitrombotičnoga liječenja bolesnika s ACS?
- Je li HTPR podesiv čimbenik rizika za ponovne ishemijske događaje?

Dio odgovora na ta pitanja može dijelom ponuditi ovo istraživanje. Prema rezultatima ranijih studija može se pretpostaviti kako bi više koristi od prilagodbe terapije, naročito u ranom periodu nakon PCI, imali bolesnici s ACS jer je incidencija neželjenih događaja kod tih bolesnika veća. Stroži režim određivanja terapijskog učinka klopidogrela mogao bi ukazati na potrebu učestalije prilagodbe doze blokatora P2Y₁₂ receptora, ali i potrebu za eventualnom genotipizacijom CYP2C19 u predviđanju odgovora na prilagođavanje terapije. Dosada, prema dostupnoj znanstvenoj literaturi, ovom važnom problemu nije pristupljeno na način kakav je izveden i prikazan u ovom istraživanju.

1.7. Oslabljeni učinak drugih antitrombocitnih lijekova

Acetilsalicilna kiselina (ASK) je, kako je već spomenuto, uz inhibitor P2Y₁₂ receptora temelj antitrombocitne terapije u bolesnika s ACS i nakon PCI (3, 60, 78, 98). Iako kompletno inhibira enzim COX-1, varijacije učinka ASK na funkciju trombocita kod bolesnika nakon PCI i ACS bile su predmet mnogih istraživanja (229-233). Međutim, mjerenje učinka ASK na trombocite metodološki je mnogo kompliciranije i nepouzdanije od mjerenja učinka blokatora P2Y₁₂ receptora (234, 235). Mjerenje učinka ASK ima smanjenu specifičnost jer ono u biti pokazuje ukupnu aktivnost trombocita više nego specifičan učinak ASK (236, 237). U CURRENT-OASIS 7 studiji koja nije koristila nijedan PFT je na preko 25 000 bolesnika pokazano da povišena doza ASK (300-325 mg dnevno) u odnosu na dozu održavanja 75-100 mg/dan ima jednaku stopu pojavnosti neželjenih ishemijskih događaja uz veću pojavnost gastrointestinalnoga krvarenja (112, 238). Velika studija ASCET nije našla povezanost HTPR na ASK s pojavnošću rekurentnih ishemijskih događaja (239), a analiza podataka ranije spomenutoga međunarodnoga registra ADAPT-DES nije našla razlike između odgovora na ASK kod bolesnika s ili bez tromboze u stentu (222). Prema tome, preporuka je da se ASK uvijek uzima u dozi održavanja u niskoj dozi (75-100 mg/dan) uz blokator P2Y₁₂ receptora jer navedena doza uspješno suprimira proizvodnju tromboksana u većine bolesnika (3, 60, 78, 98). Povišenje doze bazirano na rezultatima agregometrijske analize ne preporučuje se zbog povišenog rizika od krvarenja iz probavnog trakta (192).

Iako je poznato da bolesnici imaju ujednačeniji odgovor na novije inhibitore P2Y₁₂ receptora (tikagrelor i prasugrel) u odnosu na klopidogrel, u novijim opservacijskim studijama pokazana je važnost HTPR i uz njihovu primjenu (240-242).

Poglavlje 2

CILJEVI I SVRHA ISTRAŽIVANJA

Glavni cilj istraživanja bio je ispitati može li se ponavljanim praćenjem funkcije trombocita i podešavanjem doza klopidozela prema izmjerenoj vrijednosti reaktivnosti trombocita poboljšati klinički ishod u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom i početno oslabljenim odgovorom na klopidozel, tijekom 12 mjeseci praćenja.

Nadalje, željelo se odrediti genotip, odnosno, polimorfizam gena CYP2C19, te istražiti može li se kombiniranjem rezultata farmakogenetske analize i rezultata određivanja reaktivnosti trombocita *in vitro* opravdati individualizirano doziranje klopidozela.

Daljnji ciljevi istraživanja bili su ispitati može li određeni polimorfizam gena CYP2C19 predvidjeti varijabilnost odgovora na prilagođavanje doze klopidozela i klinički ishod u ranoj fazi akutnog koronarnog sindroma, ali i tijekom 12 mjeseci trajanja studije. Željelo se istražiti povezanost promjena jakosti antitrombotičnog učinka klopidozela tijekom promatranog vremena s pojavnošću neželjenih kliničkih događaja i genetskim polimorfizmom CYP2C19.

Primarni ishod istraživanja bila je kombinacija svih neželjenih događaja: kardiovaskularne smrtnosti, tromboze u stentu, nefatalnoga infarkta miokarda, hospitalizacije zbog ishemije miokarda, ishemijskoga moždanoga udara, tranzitorne ishemijske atake i krvarenja tijekom 12 mjeseci praćenja.

Sekundarni ishod bili su kardiovaskularna smrtnost, tromboza u stentu i ukupna krvarenja.

Rezultati ovoga istraživanja pridonijet će boljem razumijevanju učinka antiagregacijskih lijekova u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom tijekom 12 mjeseci nakon preboljeloga akutnoga koronarnoga incidenta. Glavni očekivani doprinos znanosti ove disertacije jest nadopuna postojećih znanja u ovom području temeljena na originalnom dizajnu studije i ispitivanju opravdanosti akutne i prolongirane prilagodbe doziranja klopidozela na temelju mjerenja agregacije trombocita *in vitro*.

Poglavlje 3

PRETPOSTAVKE

1. Individualizirani pristup primjene klopidogrela u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom i oslabljenim učinkom lijeka mjerenim prikrevetnim testom reaktivnosti trombocita može poboljšati klinički ishod.
2. Rezultati testova reaktivnosti trombocita na klopidogrel *in vitro* i farmakogenetska analiza profila CYP2C19 enzima mogu opravdati uporabu prilagođavanja terapije klopidogrelom prema testovima reaktivnosti trombocita i ukazati na potrebu za redovitom genotipizacijom CYP2C19 u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom.
3. Polimorfizam CYP2C19 može utjecati na razlike u jakosti antitrombocitnog odgovora uz prilagođavanje doze klopidogrela u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom, odnosno tijekom 12 mjeseci od akutne faze bolesti.
4. Podešavanjem doze klopidogrela u bolesnika s oslabljenim antitrombocitnim odgovorom temeljem rezultata agregometrije i određenim genotipom CYP2C19 može se postići bolja kontrola tzv. terapijskoga prozora u antiagregacijskom liječenju, pa time i poboljšati klinički ishod.

Poglavlje 4

BOLESNICI I METODE

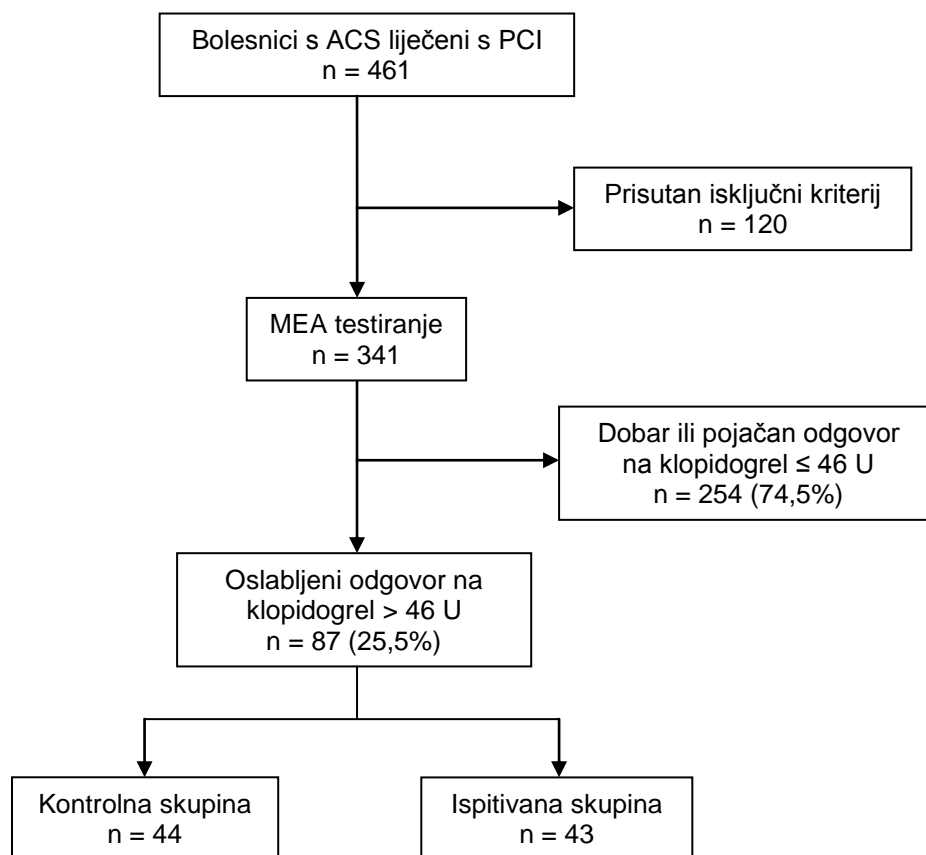
4.1. Bolesnici

Ispitanici u ovom istraživanju bili su odrasli bolesnici hospitalizirani zbog ACS (UA, NSTEMI i STEMI) koji su uspješno liječeni s PCI, tj. postavljanjem intrakoronarne potpornice (stenta) i koji su u sklopu DAPT primali ASK i klopidogrel. Isključni kriterij bila je kontinuirana postintervencijska primjena inhibitora glikoproteinskih IIb/IIIa receptora, trombocitopenija ($<150 \times 10^9/L$), značajnije zatajivanje bubrega (kreatinin $>200 \mu\text{mol/L}$), anemija ($\text{Htc} < 30\%$), hemoragijska dijateza, anamneza hemoragijskoga moždanoga udara ili ishemijskoga moždanoga udara unatrag 6 mjeseci, veliki operativni zahvat unatrag 6 tjedana te potreba za kroničnim konkomitantnim uzimanjem antikoagulacijskih lijekova. Također, iz daljnjeg razmatranja isključeni su bolesnici stariji od 80 godina.

Dijagnoza određenog oblika ACS postavljena je na temelju kliničke slike, promjena u EKG zapisu te nalazu razine kardiospecifičnih enzima u serumu kao što su troponin T (cTnT) i MB izoenzim kreatin kinaze (CK-MB). Bolesnici kojima je postavljena dijagnoza ACS i koji su uspješno liječeni s PCI, a nisu imali isključni kriterij, bili su potencijalni kandidati za uključiti u istraživanje.

Tijekom perioda uključivanja u istraživanje analiziran je 461 konsekutivni bolesnik hospitaliziran pod dijagnozom ACS. Od navedenog broja, 120 bolesnika je imalo barem jedan isključni kriterij te je tako probirom identificiran 341 bolesnik kao potencijalni ispitanik. Svi bolesnici liječeni su standardnom DAPT koja obuhvaća ASK i klopidogrel. Svim potencijalnim ispitanicima je unutar 12-24 sata nakon intervencije određivana ostatna RT koristeći uređaj Multiplate[®]. Ukupno je identificirano 87 bolesnika (25,5%) s oslabljenim odgovorom na klopidogrel. Od toga, 53 bolesnika je imalo STEMI (60,9%), 20 NSTEMI (22,9%), a 14 (16,2%) bolesnika je imalo UA. Nakon što je potencijalnim kandidatima objašnjeno i predstavljeno istraživanje te nakon što su pročitali informacije za ispitanike, bolesnici su imali priliku postaviti pitanja istraživaču o studiji. Nakon što su pristali sudjelovati u studiji, potpisali su informirani pristanak te su randomizirani u ispitivanu ili kontrolnu skupinu. Randomizacija bolesnika provedena je metodom slučajnog odabira koristeći računalni program. Probir i randomizacija

bolesnika shematski je prikazana na slici broj 7. Istraživanje je provedeno u suglasnosti s Etičkim povjerenstvom Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Etičkim povjerenstvom Kliničkog bolničkog centra Zagreb.



ACS - akutni koronarni sindrom; MEA - Multiplate[®] agregometrija; PCI - perkutana koronarna intervencija

Slika 7. Shematski prikaz probira i randomizacije ispitanika.

4.2. Elektrokardiografija

Elektrokardiografija je metoda kojom se prikazuje električna aktivnost srca. Elektrokardiografija predstavlja neinvazivni, jeftini i lako dostupni dijagnostički alat kojim se, između ostalog, mogu vidjeti ishemijske promjene u miokardu i kao takav je obvezatan dio algoritma dijagnostičke obrade svakog kardiološkog pregleda pa tako i kada se bolesnici prezentiraju s kliničkom slikom pektoralne boli. Elektrokardiogram

(EKG) je zapis električne aktivnosti srca na papiru. Promjene u EKG-u koje se mogu vidjeti u određenom obliku ACS objašnjene su u ranijem tekstu. Svim bolesnicima je prije uključivanja u studiju u sklopu rutinske obrade snimljen barem jedan EKG s tri standardna odvoda, tri pojačana unipolarna te šest prekordijalnih odvoda.

4.3. Koronarografija i perkutana koronarna intervencija

Koronarografija ili koronarna angiografija jest invazivni dijagnostički i/ili terapijski postupak kojim se potvrđuje i liječi CAD. Perkutana koronarna intervencija (PCI) je invazivna, nekirurška metoda liječenja stenotičkih i/ili okluzivnih promjena na koronarnim arterijama. Svi bolesnici s ACS koji su razmatrani kao kandidati za uključenje u ovo istraživanje, liječeni su s ASK i klopidogetrelom te bili podvrgnuti koronarnoj angiografiji transfemoralnim ili transradijalnim pristupom u čijem je nastavku učinjena uspješna PCI s implantacijom jednog ili više stentova. Tijekom PCI bolesnici su prema neovisnom izboru intervencijskog kardiologa koji je izvodio intervenciju, dobivali UFH i inhibitor GPIIb/IIIa receptora. Ukoliko je intervencijski kardiolog indicirao primjenu GPIIb/IIIa inhibitora u kontinuiranoj infuziji nakon intervencije, bolesnik je isključen iz daljnjeg razmatranja za uključivanje u ovo istraživanje zbog snažnog utjecaja primjene takvih lijekova na rezultate PFT koji može maskirati oslabljeni učinak klopidogetrela.

4.4. Mjerenje reaktivnosti trombocita

U istraživanju je za mjerenje ostatne aktivnosti trombocita korišten uređaj Multiplate[®] *function analyzer*. Uz VASP-P i VerifyNow[®], Multiplate[®] je najšire korišten uređaj za mjerenje RT kojeg za upotrebu preporuča i radna skupina ESC-a za trombozu (192). Multiplate[®] je jednostavan i praktičan uređaj za upotrebu jer se nalazi na odjelu uz postelju bolesnika, a testiranje uzorka traje oko 10 minuta. Multiplate[®] koristi malu količinu pune krvi za analizu i može, ovisno o testu koji se izabere, mjeriti aktivaciju trombocita preko različitih signalnih puteva te tako mjeriti i učinak različitih vrsta antitrombotičkih lijekova. Princip na kojem uređaj mjeri RT baziran je na impedanciji. Uređaj bilježi promjenu otpora na dvije elektrode koje su uronjene u krv za analizu nakon dodatka fiziološke otopine i odgovarajućeg agonista agregacije. Dva para elektroda u svakoj testnoj kivetu omogućuju dvostruko mjerenje agregacije trombocita u istom uzorku krvi što test čini još preciznijim, a konačni rezultat prikazuje se kao

srednja vrijednost oba mjerenja. Test koji mjeri učinak klopidogrela, tj. blokatora P2Y₁₂ receptora, naziva se ADPtest. Tim testom mjerimo veličinu agregacije ovisne o aktivnosti ADP(P2Y₁₂) receptora na membrani trombocita jer se kao agonist agregacije koristi ADP u finalnoj koncentraciji od 6,4 mM.

Uzorak krvi za analizu izvađen je u najvećem broju slučajeva iz antekubitalne vene u službenu Multiplate® epruvetu volumena 3 mL. Epruvete su obložene hirudinom, izravnim inhibitorom trombina, koji ne interferira s funkcijom trombocita. Epruvete su neposredno nakon vađenja krvi nježno izvrnute nekoliko puta. Svi uzorci testirani su prema preporuci proizvođača nakon minimalno 30 minuta do maksimalno 3 sata od vađenja krvi. Potreban volumen krvi za jedan test je 300 µL koji se pomiješa s 300 µL fiziološke otopine. Nakon tri minute inkubacije u otopinu se doda i određeni agonist, u ovom slučaju 20 µL ADP-a. Fiziološka otopina je prije svakog testa pripremljena i zagrijana na 37°C u posebnom pretincu inkorporiranom u samom uređaju. Za precizno mjerenje volumena sastojaka otopine koristi se mikropipeta prilagođena programskim postavkama uređaja. Kiveta u kojoj se nalazi otopina tijekom testa ima na sebi postavljena dva para elektroda koji su tijekom izvođenja testa spojeni u strujni krug i mjere promjenu otpora na elektrodama. Što je agregabilnosti trombocita veća, raste otpor na elektrodama. Tijekom 6 minuta testa uređaj bilježi krivulju porasta otpora na elektrodama koja se može izraziti s dvije jedinice: U (engl. *Units*) ili AU x min (engl. *arbitrary aggregation unit*). Otprilike 8 AU x min odgovara otporu od 1 Ω (Ohma), a 10 AU x min odgovara 1 U. Referentne vrijednosti optimalnog odgovora na klopidogrel opisane su u uvodu ove disertacije.

Usporedbom podataka s oba para elektroda mjeri se Pearsonov koeficijent korelacije, a testiranje uzorka potrebno je ponoviti ako je navedeni koeficijent manji od 0,98. Također, testiranje je potrebno ponoviti i ako je razlika u površini ispod pojedinačne krivulje veća od 20% u odnosu na srednju površinu ispod obje krivulje. Na uređaju postoji pet odjeljaka za testne kivete što znači da se paralelno može testirati pet uzoraka krvi. Reagensi su čuvani na 4°C, a kada su otopljeni s pročišćenom vodom čuvani su na -20°C jer tako mogu ostati stabilni do četiri tjedna. Ispravnost elektroničkoga sustava uređaja kontrolirana je svaki tjedan prema propisanom protokolu.

4.5. Genotipizacija CYP2C19

Za genotipizaciju CYP2C19 uzeto je 3 ml pune krvi s Na-EDTA antikoagulansom. Izdvajanje DNA provodilo se na aparatu KingFisher (Njemačka) pomoću kita za izdvajanje DNA (Qiagen, Njemačka), a prema uputama proizvođača. Genotipizacija CYP2C19 (aleli *2 i *17) se provodila metodom PCR u stvarnom vremenu (*Taqman Real time PCR*) uz korištenje reagensa za genotipizaciju SNP - *Drug Metabolism Genotyping Assay (Applied Biosystems)*, na instrumentu *7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems)*, prema radu Sibbinga i suradnika (243).

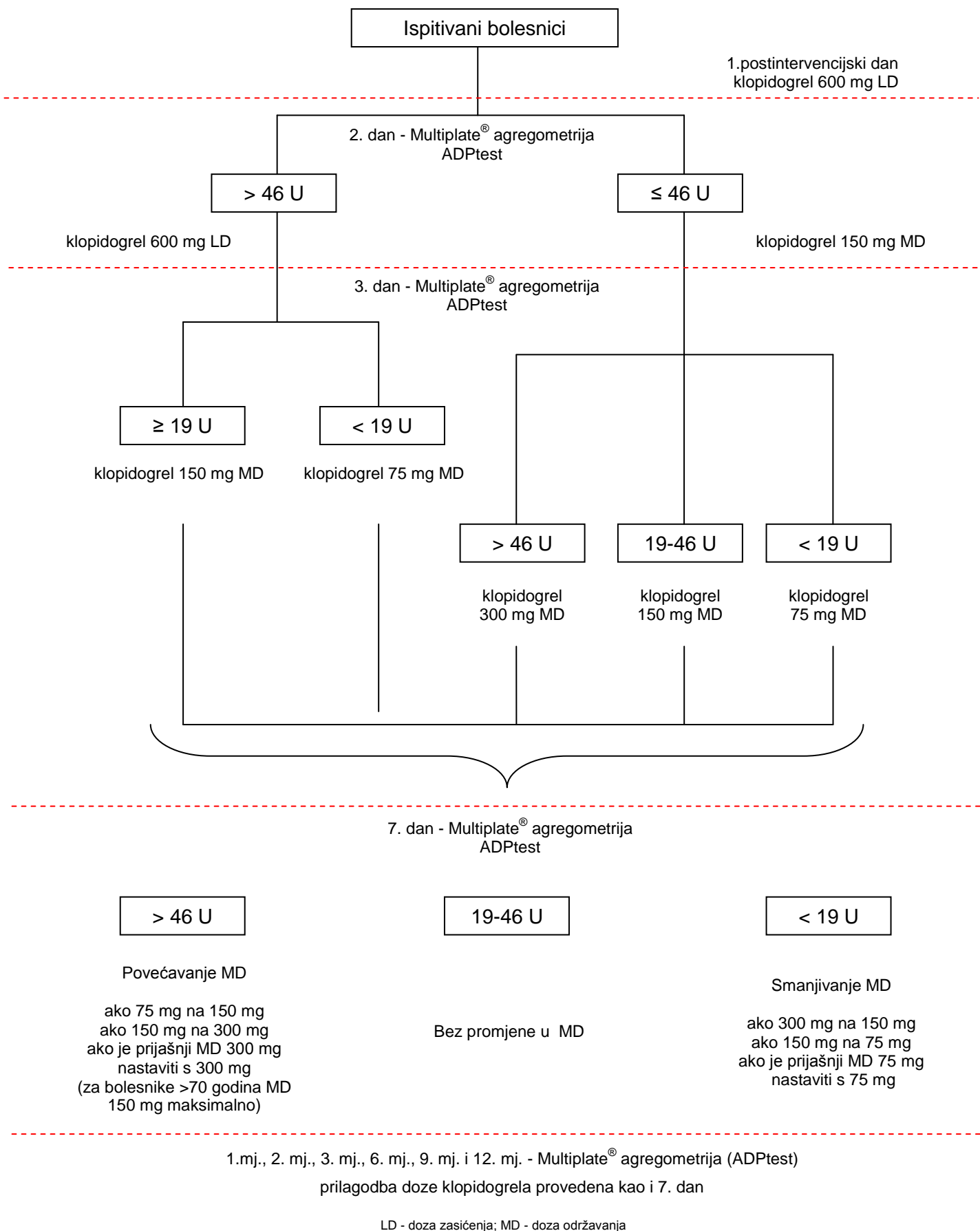
4.6. Plan kontrolnih posjeta, agregometrijskih mjerenja i prilagođavanja doze klopidogrela

Svim bolesnicima, neovisno o tome jesu li u ispitivanoj ili kontrolnoj skupini, provođena su mjerenja RT 1., 2., 3. i 7. postintervencijski dan te 1., 2., 3., 6., 9. i 12. mjesec od inicijalne PCI. Kontrolna skupina bolesnika bila je liječena standardnim dozama klopidogrela prema važećim smjernicama (3, 60, 76, 98). Režim ponavljanih doza zasićenja i prilagođavanja doze održavanja klopidogrela u ispitivanoj skupini tijekom istraživanja prikazan je shematski na slici broj 8. Bolesnici s perzistentno oslabljenim odgovorom na klopidogrel najviše su dobili tri doze zasićenja od 600 mg. Najmanja doza održavanja bila je 75 mg/dan, a najveća doza 300 mg/dan za bolesnike do 70 godina, dok je za starije od 70 godina najveća propisana doza održavanja bila 150 mg/dan. Uzorci krvi za kontrolno testiranje RT vađeni su ujutro. Pri svakom posjetu preispitana je suradljivost u pridržavanju propisane terapije te pojavnost eventualnih neželjenih događaja. Klinički ishodi podijeljeni su u dvije glavne kategorije: ishemijski događaji i krvarenja. Ishemijske događaje sačinjavali su: ponovna hospitalizacija zbog ishemijske miokarda, PCI ciljne lezije, nefatalni AIM, tromboza u stentu, TIA, CVI i kardiovaskularna smrt. Pojava krvarenja klasificirana je prema BARC sustavu koji je konsenzusom dogovoreni sistem za evidentiranje i klasifikaciju krvarećih događaja u kardiovaskularnim studijama.

Kategorije krvarenja prema BARC klasifikaciji su sljedeće:

- tip 0 - bez krvarenja,
- tip 1 - malo krvarenje zbog kojega bolesnik ne traži medicinsku pomoć u što ubrajamo i situaciju u kojoj bolesnik sam prekine uzimati terapiju,
- tip 2 - bilo koje značajnije krvarenje koje je neočekivano u sklopu kliničkih okolnosti, a ne spada u tip krvarenja 3, 4 i 5, no zahtijeva ili nekiruršku medicinsku intervenciju, hospitalizaciju ili brzu evaluaciju,
- tip 3 - 3a - pad hemoglobina od 30-50 g/L povezan s krvarenjem ili primjena transfuzije krvi zbog značajnoga krvarenja,
 - 3b - pad hemoglobina za više od 50 g/L povezan s krvarenjem, tamponada, krvarenje koje zahtijeva kiruršku intervenciju (isključujući stomatološko, nazalno, kožno krvarenje ili krvarenje iz hemoroida) ili krvarenje koje zahtijeva primjenu vazoaktivnih lijekova,
 - 3c - intrakranijalno ili intraspinalno krvarenje, intraokularno krvarenje koje kompromitira vid,
- tip 4 - krvarenje povezano s CABG,
- tip 5 - 5a - vjerojatno fatalno krvarenje nepotvrđeno obdukcijom,
 - 5b - fatalno krvarenje potvrđeno obdukcijom ili slikovnim metodama (244).

Podaci o smrti ili pojavi drugih nepovoljnih kardiocerebrovaskularnih događaja koji su provjerljivi potvrđeni su uvidom u medicinsku dokumentaciju bolesnika. Svi smrtni događaji smatrani su kardiogeno uzrokovanim ukoliko nije postojao jasno dokumentiran drugi uzrok smrtnog ishoda.



Slika 8. Prilagodba terapije klopidogrelom u ispitivanoj skupini bolesnika.

4.7. Statističke metode analize podataka

Svi prikupljeni podaci obrađeni su metodama deskriptivne statistike. Kategoričke varijable prikazane su frekvencijama i prevalencijom, a metričke varijable aritmetičkim sredinama sa standardnim devijacijama. Prikaz podataka nadopunjen je tablicama i grafičkim prikazima. Testiranje normalnosti raspodjele provedeno je Smirnov-Kolmogorovljevim testom. Sukladno rezultatima, korišteni su adekvatni parametrijski i neparametrijski testovi. Razlika u pojedinačnim karakteristikama između ispitivane i kontrolne skupine testirana je Studentovim t-testom neovisnih uzoraka za metričke varijable te χ^2 testom za kategoričke varijable. Razlika u kliničkom ishodu između skupina testirana je χ^2 testom. Razlike u agregometrijskim podacima između skupina testirane su Studentovim t-testom neovisnih uzoraka, odnosno ANOVA za više neovisnih uzoraka. Preživljenje do MACCE prikazano je Kaplan-Meierovom krivuljom. Bivarijantnom analizom uspoređivane su razlike između potencijalnih prediktora i određivani Pearsonovi koeficijenti korelacije. Varijable koje su se pokazale kao signifikantni prediktori korištene su u logističkoj regresijskoj analizi. Statistička obrada provedena je korištenjem SPSS *softwarea* v21 (*IBM Corporation, SAD*). Razlike dobivenih vrijednosti između skupina analizirane su na razini značajnosti od 5%.

Veličina uzorka potrebnog za dobivanje statistički značajne razlike između ispitivane i kontrolne skupine bolesnika u stopi primarnoga ishoda određena je na temelju odabrane statističke snage testa od 95%, vrijednosti alfa od 5% te proporcije incidencije MACCE u populaciji bolesnika s ACS i bolesnika koji imaju HTPR u ACS prema rezultatima iz dosadašnjih istraživanja (245-247). S obzirom na navedeno, potrebno je bilo u istraživanje uključiti 40-45 ispitanika po skupini.

Poglavlje 5

REZULTATI

5.1. Demografski i angiografski podaci o ispitanicima

Ukupno je u istraživanje uključeno 87 bolesnika. Bolesnici su randomizirani u ispitivanu i kontrolnu skupinu. Ukupno vrijeme praćenja bolesnika bilo je 12 mjeseci. Šest bolesnika je tijekom praćenja umrlo (6,8%), a još pet ih nije dovršilo praćenje do kraja studije (5,7%). Od tih pet bolesnika, četiri su tijekom praćenja prestala odgovarati na pozive. Od navedenih četvero bolesnika je troje imalo neželjeni događaj tijekom praćenja u studiji, a jednom je bolesniku klopidogetrel zamijenjen tikagrelorom te je tako isključen iz daljnjeg praćenja. Taj bolesnik je također, tijekom vremena praćenja i uzimanja klopidogetrela imao neželjeni ishemijski događaj - trombozu u stentu. Ukupno je među uključenim bolesnicima bilo 49 muškaraca (56,3%), a prosječna dob iznosila je 63,2 godine. Između kontrolne i ispitivane skupine nije bilo značajnih razlika u demografskim osobinama. Za dvoje bolesnika nije učinjena genotipizacija CYP2C19 zbog smrtnog ishoda prije uzimanja uzorka krvi za tu pretragu. Demografske osobitosti i farmakogenetski profil CYP2C19 prikazani su u tablici broj 6.

Karakteristike priležeće CAD te periproceduralnih radnji i elemenata vezanih za PCI nisu se razlikovale između skupina bolesnika osim što su bolesnici u kontrolnoj skupini imali statistički značajno veću zahvaćenost i drugih koronarnih arterija aterosklerotskom bolesti (Tablica 7.).

Tablica 6. Demografske osobitosti i CYP2C19 genotip ispitanika.

Osobitosti bolesnika	Ispitivana skupina (n=43)	Kontrolna skupina (n=44)	p
Prosječna starost, godine (SD)	63,37 (12,56)	63,48 (12,15)	0,968
Muški spol, n (%)	22 (51,1)	27 (61,4)	0,338
Vrsta ACS			
Nestabilna angina, n (%)	8 (18,6)	6 (13,7)	
NSTEMI, n (%)	10 (23,3)	10 (22,7)	0,801
STEMI, n (%)	25 (58,1)	28 (63,6)	
Arterijska hipertenzija, n (%)	28 (65,1)	27 (61,4)	0,717
Hiperlipidemija, n (%)	25 (58,1)	20 (45,5)	0,236
Šećerna bolest, n (%)	14 (32,6)	12 (27,3)	0,590
Pušači, n (%)	9 (20,9)	12 (27,3)	0,489
Obiteljska anamneza za CAD, n (%)	7 (16,3)	6 (13,6)	0,730
Raniji AIM, n (%)	6 (13,9)	3 (6,8)	0,314
Raniji PCI, n (%)	6 (13,9)	2 (4,5)	0,157
Raniji CABG, n (%)	0 (0)	0 (0)	1,000
Raniji CVI, n (%)	1 (2,3)	4 (9,1)	0,360
PAD, n (%)	0 (0)	1 (2,3)	1,000
BMI (kg/m ²), srednja vrijednost (SD)	28,93 (4,45)	27,90 (4,98)	0,313
Lijekovi			
Klopidogrel prije inicijalnog ACS, n (%)	3 (6,9)	1 (2,3)	0,360
Statini, n (%)	40 (93,0)	31 (93,2)	0,689
Lipofilni statin, n (%)	21 (48,8)	30 (68,2)	0,150
IPP, n (%)	14 (32,5)	22 (50,0)	0,151
Blokator kalcijevih kanala, n (%)	6 (13,9)	7 (15,9)	1,000
CYP2C19*2, n (%)			
Nosilac homozigot	0 (0)	2 (4,8)	
Nosilac heterozigot	16 (37,2)	13 (30,9)	0,317
Ostali	27 (62,8)	27 (64,3)	
CYP2C19*17, n (%)			
Nosilac homozigot	4 (9,3)	4 (9,5)	
Nosilac heterozigot	14 (32,5)	14 (33,3)	0,996
Ostali	25 (58,1)	24 (57,1)	

ACS - akutni koronarni sindrom; AIM - akutni infarkt miokarda; BMI - indeks tjelesne težine; CABG - aortokoronarno premoštenje; CAD - koronarna arterijska bolest; CVI - cerebrovaskularni inzult; IPP - inhibitor protonске pumpe; NSTEMI - infarkt miokarda bez ST-elevacije; PAD - periferna arterijska bolest; PCI - perkutana koronarna intervencija; SD - standardna devijacija; STEMI - infarkt miokarda sa ST-elevacijom

Tablica 7. Osobitosti koronarne bolesti i postupka PCI u ispitanika.

Angiografske i PCI osobitosti	Ispitivana skupina	Kontrolna skupina	p	Angiografske i PCI osobitosti	Ispitivana skupina	Kontrolna skupina	p
Prosječno trajanje koronarografije (min) (SD)	36,05 (17,98)	38,23 (18,16)	0,575	Tip lezije <i>De novo</i> , n (%) Bifurkacijska, n (%) ISR/ST, n (%)	37 (86,0) 4 (9,3) 2 (4,6)	42 (95,4) 2 (4,5) 0 (0)	0,226
Broj tretiranih arterija Jedan, n (%) Dva, n (%)	41 (95,3) 2 (4,7)	42(95,5) 2 (4,5)	0,981	Vrsta stenta BMS, n (%) DES, n (%)	37 (86,0) 6 (13,9)	42 (95,4) 2 (4,5)	0,157
Broj tretiranih lezija Jedan, n (%) Dva, n (%)	34 (79,1) 9 (20,9)	36 (81,8) 8 (18,2)	0,748	Trombektomija, n (%)	7 (16,3)	8 (18,2)	1,000
CAD - jednožilna, n (%) CAD - dvožilna, n (%) CAD - trožilna, n (%)	24 (55,8) 13 (30,2) 6 (14,0)	11 (25,0) 14 (31,8) 19 (43,2)	0,001	Prosječni referentni dijametar ciljne arterije (mm) (SD)	3,05 (0,05)	3,18 (0,07)	0,153
Ciljna arterija LAD, n (%) LCx, n (%) RCA, n (%)	16 (37,2) 10 (23,2) 19 (44,2)	16 (36,5) 8 (18,2) 22 (50,0)	0,935 0,559 0,587	Duljina lezije (mm) (SD)	19,51 (9,86)	19,89 (7,84)	0,845
Tortuozitet, n (%)	2 (4,6)	5 (11,4)	0,434	Stenoza (%) (SD)	95,26 (8,82)	94,80 (10,04)	0,821
Tip krvotoka Desni, n (%) Lijevi, n (%) Balansiran, n (%)	34 (79,1) 2 (4,7) 7 (16,2)	30 (68,2) 4 (9,1) 10 (22,7)	0,488	TIMI protok prije prolaska žicom 0 1 2 3	17 (39,5) 0 (0) 8 (18,6) 18 (41,8)	21 (47,7) 1 (2,3) 2 (4,5) 20 (45,4)	0,791
Broj implantiranih stentova Jedan, n (%) Dva, n (%) Tri, n (%) Četiri, n (%)	31 8 2 2	28 12 3 1	0,470	TIMI protok nakon prolaska žicom 0 1 2 3	5 (11,6) 4 (9,3) 10 (23,2) 24 (55,8)	10 (22,7) 3 (6,8) 6 (13,6) 25 (56,8)	0,699
Širina najužeg stenta (mm), srednja vrijednost (SD)	2,99 (0,064)	3,11 (0,082)	0,232	TIMI protok - završni 0 1 2 3	0 (0) 0 (0) 3 (6,9) 40 (93,0)	0 (0) 0 (0) 2 (4,5) 42 (95,4)	0,628
Ukupna duljina stentova (mm) (SD)	26,30 (14,39)	28,73 (15,86)	0,457	BMS - metalni stent; CAD - koronarna arterijska bolest; DES - stent koji otpušta lijek; ISR - restenoza u stentu; LAD - lijeva prednja silazna koronarna arterija; LCx - cirkumfleksna koronarna arterija; PCI - perkutana koronarna intervencija; RCA - desna koronarna arterija; SD - standardna devijacija; ST - tromboza u stentu; TIMI - sustav bodovanja koronarnog protoka			

5.2. Reaktivnosti trombocita

Primjenom ponavljanih doza zasićenja klopidogrela i daljnjim prilagođavanjem doze prema vrijednosti ostatne RT prosječno je postignuta adekvatna korekcija HTPR u ispitivanoj skupini kroz gotovo čitavih 12 mjeseci primjene DAPT (Tablica 8.).

Tablica 8. Vrijednosti reaktivnosti trombocita u ispitivanoj skupini bolesnika tijekom promatranog razdoblja.

Vrijeme agregometrije	n	Minimalna vrijednost (U)	Maksimalna vrijednost (U)	Srednja vrijednost (U)	SD
1. dan	43	46,8	96,0	61,29	14,25
2. dan	43	0	93,8	41,47	18,51
3. dan	43	7,4	88,0	38,61	18,78
7. dan	43	13,0	114,3	48,50	21,72
1. mjesec	41	5,8	98,0	44,17	23,08
2. mjesec	40	8,3	106,0	39,26	20,80
3. mjesec	38	0	93,0	37,63	21,07
6. mjesec	37	5,6	94,0	43,65	22,07
9. mjesec	37	7,5	99,0	39,91	22,40
12. mjesec	37	15,9	132,2	46,10	23,93

SD - standardna devijacija

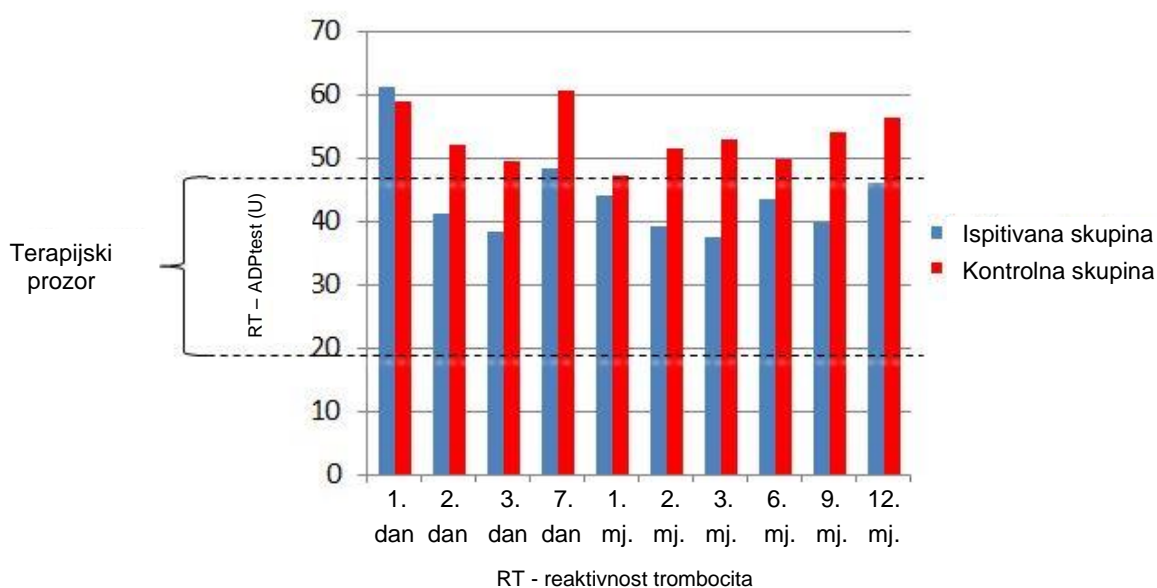
Bolesnici u kontrolnoj skupini u prosjeku su cijeli period praćenja na svim kontrolnim mjerenjima imali vrijednosti ostatne RT iznad gornje granice terapijskog prozora (Tablica 9.).

Tablica 9. Vrijednosti reaktivnosti trombocita u kontrolnoj skupini bolesnika tijekom promatranog razdoblja.

Vrijeme agregometrije	n	Minimalna vrijednost (U)	Maksimalna vrijednost (U)	Srednja vrijednost (U)	SD
1. dan	44	46,9	97,9	60,19	14,76
2. dan	43	3,8	119,0	52,30	20,96
3. dan	43	2,7	83,0	49,71	17,54
7. dan	42	3,6	109,0	60,87	24,20
1. mjesec	42	4,0	113,0	47,32	24,79
2. mjesec	41	6,8	149,0	51,74	29,54
3. mjesec	40	4,7	101,1	53,09	24,08
6. mjesec	39	1,0	140,0	50,05	28,12
9. mjesec	39	13,5	108,6	54,29	25,96
12. mjesec	39	4,4	106,0	56,61	25,42

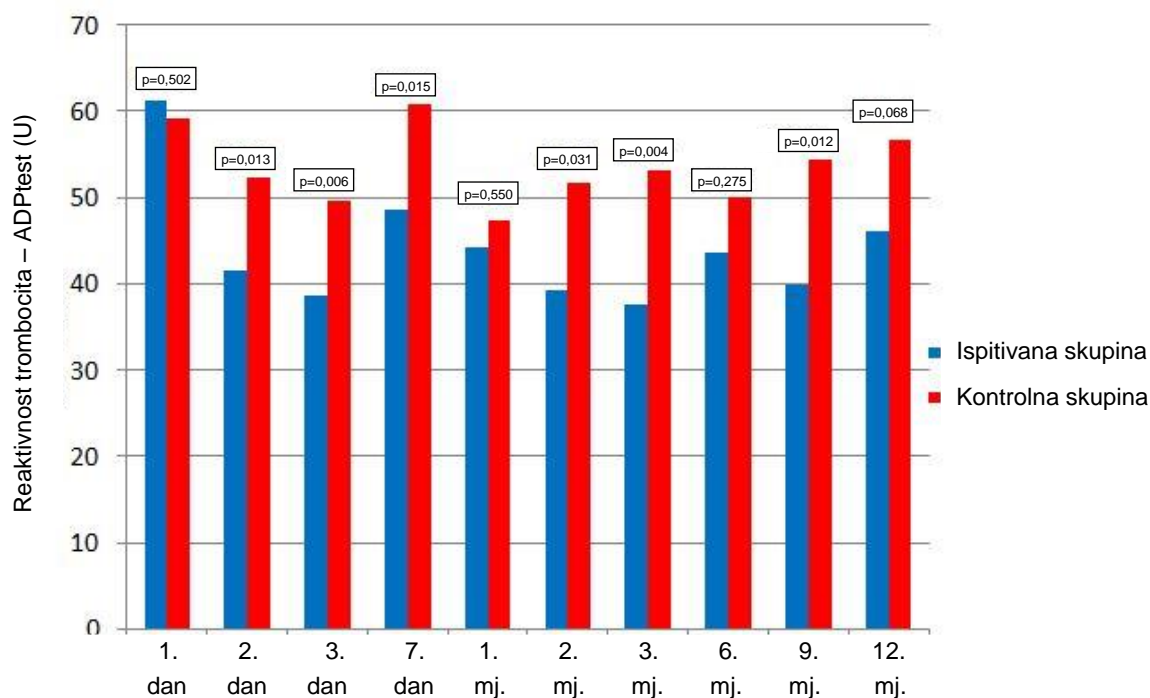
SD - standardna devijacija

Usporedba prosječnih vrijednosti RT između skupina bolesnika prikazana je grafički na slici broj 9. Prvi dan je vrijednost ostatne reaktivnosti povišena u obje skupine jer je to i bio kriterij za uključivanje u studiju. Na slici se jasno može vidjeti kako su bolesnici kojima je od prvog dana prilagođavana terapija klopido­grelom kao cjelina bili u prosjeku unutar predloženog terapijskog prozora koji označava optimalnu agregabilnost trombocita uz terapiju inhibitorom P2Y₁₂ receptora za razliku od bolesnika u kontrolnoj skupini.



Slika 9. Promjena reaktivnosti trombocita u ispitivanoj i kontrolnoj skupini bolesnika tijekom promatranog razdoblja.

U inicijalnim vrijednostima HTPR između skupina nije bilo statistički značajne razlike. Štoviše, prosječna vrijednost RT bila je nešto veća u ispitivanoj skupini. Razlike u vrijednosti izmjerene agregabilnosti trombocita u određenim vremenskim odmacima uglavnom su bile statistički značajno više u kontrolnoj skupini kao i ukupna srednja izmjerena vrijednost RT (Slika 10. i Tablica 10.).



Slika 10. Značajnost razlika u prosječnoj vrijednosti reaktivnosti trombocita između skupina bolesnika tijekom promatranog razdoblja.

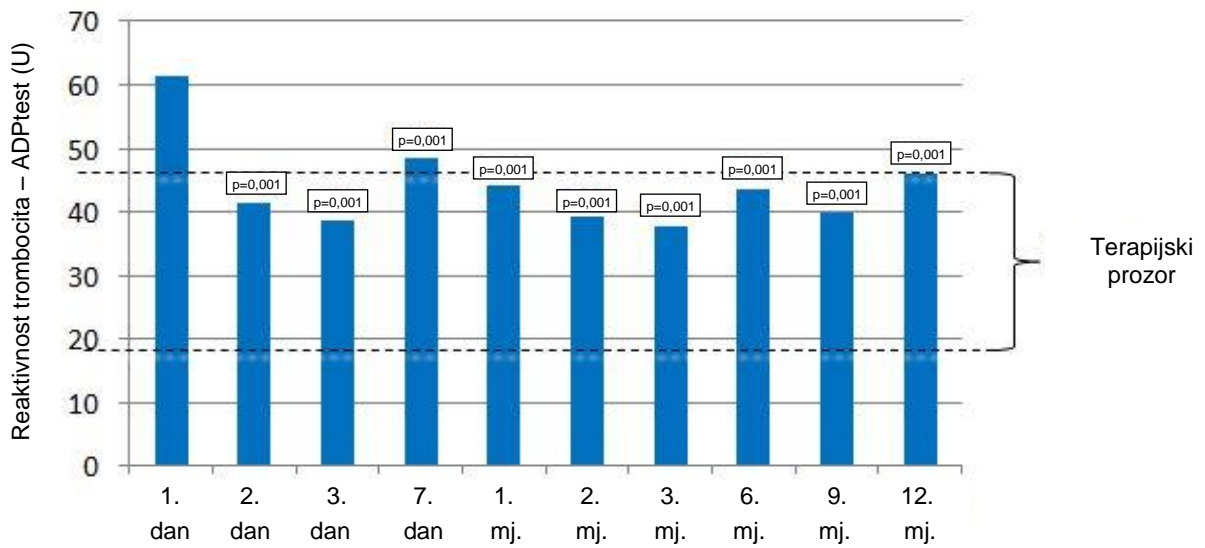
Tablica 10. Ukupna srednja vrijednost ostatne reaktivnosti trombocita u ispitanika.

	Broj ispitanika	Prosječna RT	SD
Kontrolna skupina	44	52,70 U	17,51
Ispitivana skupina	43	44,50 U	13,99

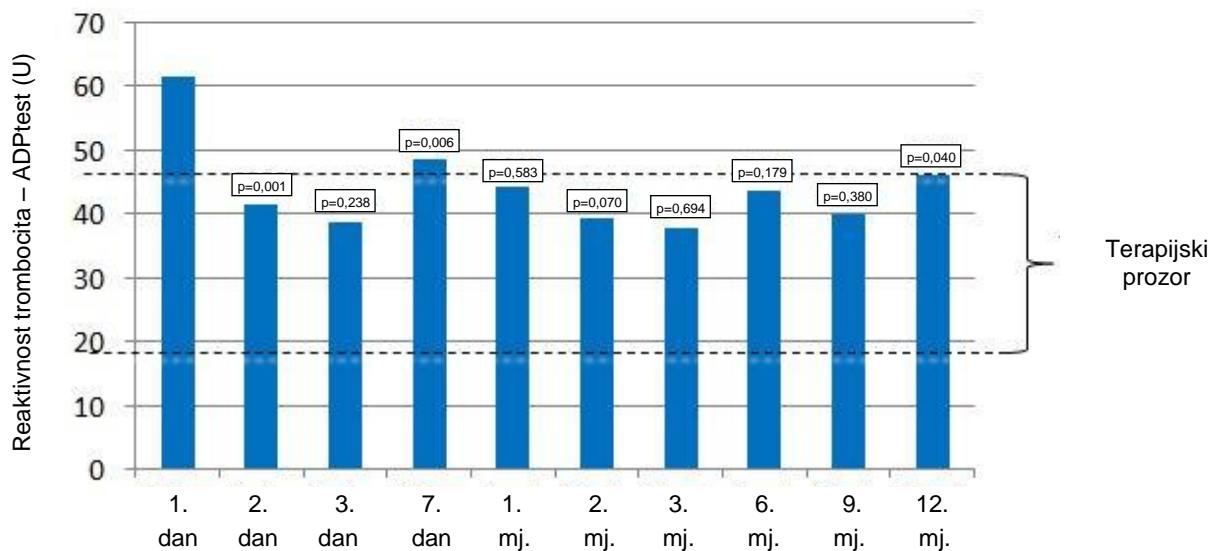
p=0,018

RT - reaktivnost trombocita; SD - standardna devijacija

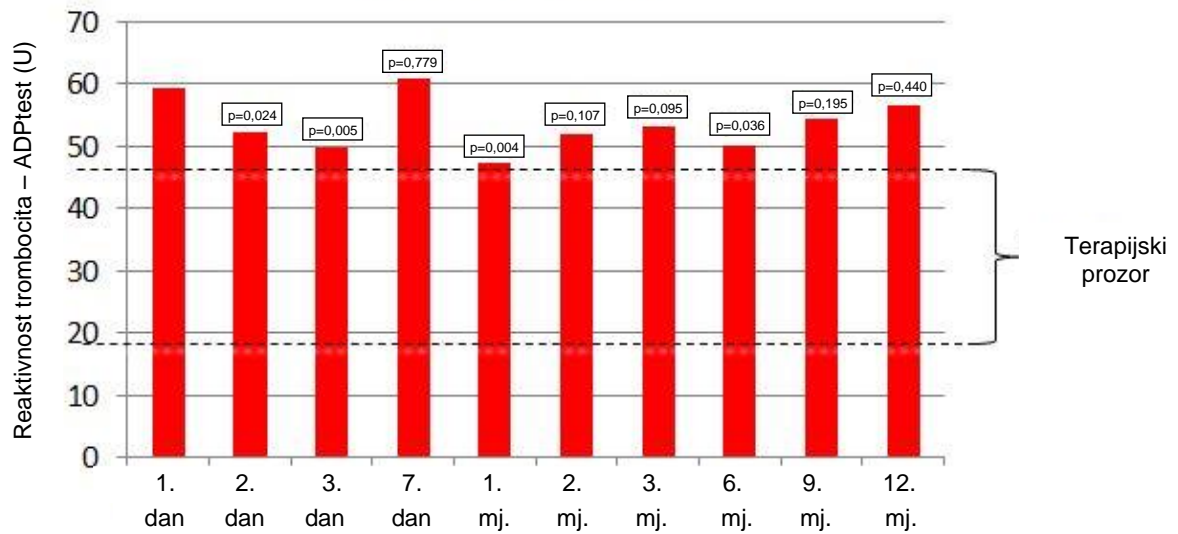
Tijekom praćenja postignuta je u ispitivanoj skupini bolesnika značajno niža RT u odnosu na vrijednost izmjerenu inicijalno na randomizaciji (Slika 11). Stabilnost prosječne vrijednosti RT uz prilagođavanje doze klopidogrela tijekom vremena prikazana je na slici broj 12. Rezultati iste analize u kontrolnoj skupini bolesnika prikazani su na slikama broj 13 i 14.



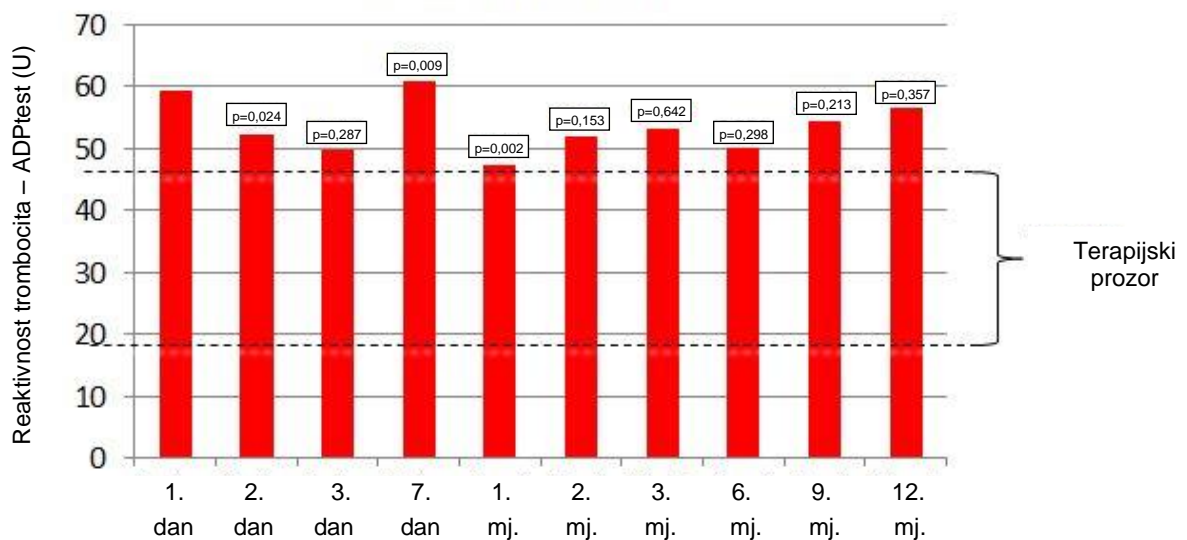
Slika 11. Značajnost promjene vrijednosti prosječne reaktivnosti trombocita tijekom promatranog razdoblja u odnosu na HTPR izmjerenu prilikom randomizacije u ispitivanoj skupini bolesnika.



Slika 12. Značajnost promjene vrijednosti prosječne reaktivnosti trombocita tijekom promatranog razdoblja u odnosu na prethodno mjerenje u ispitivanoj skupini bolesnika.

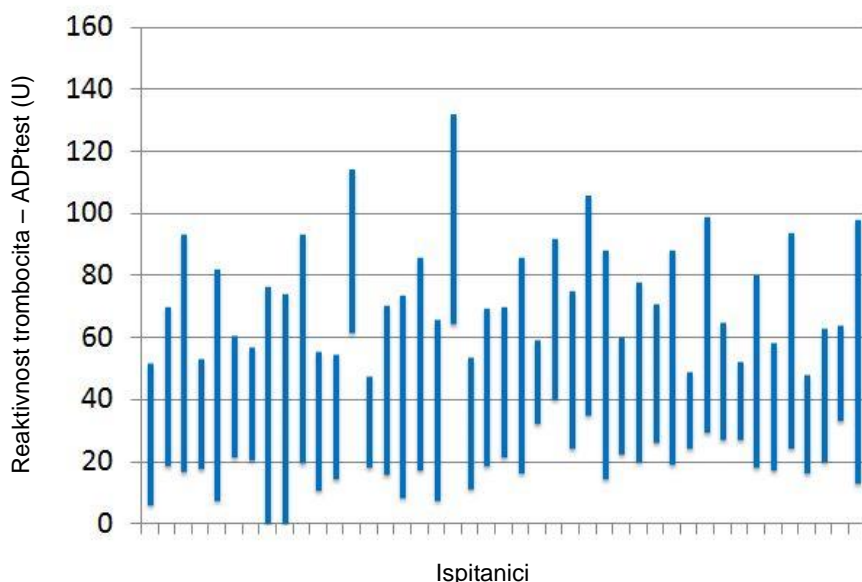


Slika 13. Značajnost promjene vrijednosti prosječne reaktivnosti trombocita tijekom promatranog razdoblja u odnosu na HTPR izmjerenu prilikom randomizacije u kontrolnoj skupini bolesnika.

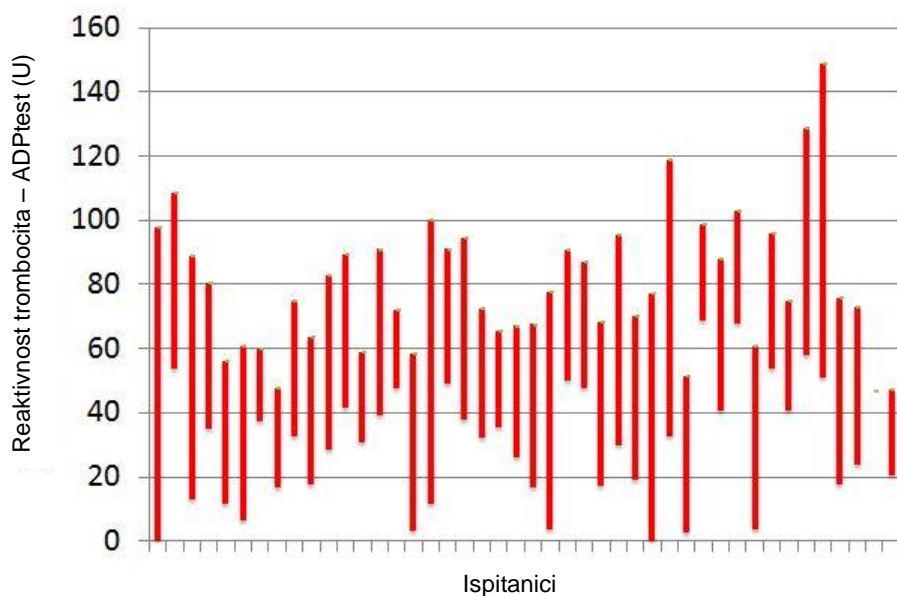


Slika 14. Značajnost promjene vrijednosti prosječne reaktivnosti trombocita tijekom promatranog razdoblja u odnosu na prethodno mjerenje u kontrolnoj skupini bolesnika.

Intraindividualne varijacije u antitrombocitnom odgovoru kroz vrijeme bile su zabilježene u obje skupine ispitanika (Slika 15, Slika 16). Prosječni raspon antitrombocitnog odgovora na klopidogrel u ispitivanoj skupini iznosio je 53,46 U (SD±16,71), a u kontrolnoj skupini bolesnika 50 U (SD±17,47).



Slika 15. Intraindividualni raspon antitrombocitnog odgovora tijekom promatranog razdoblja u ispitivanoj skupini bolesnika.

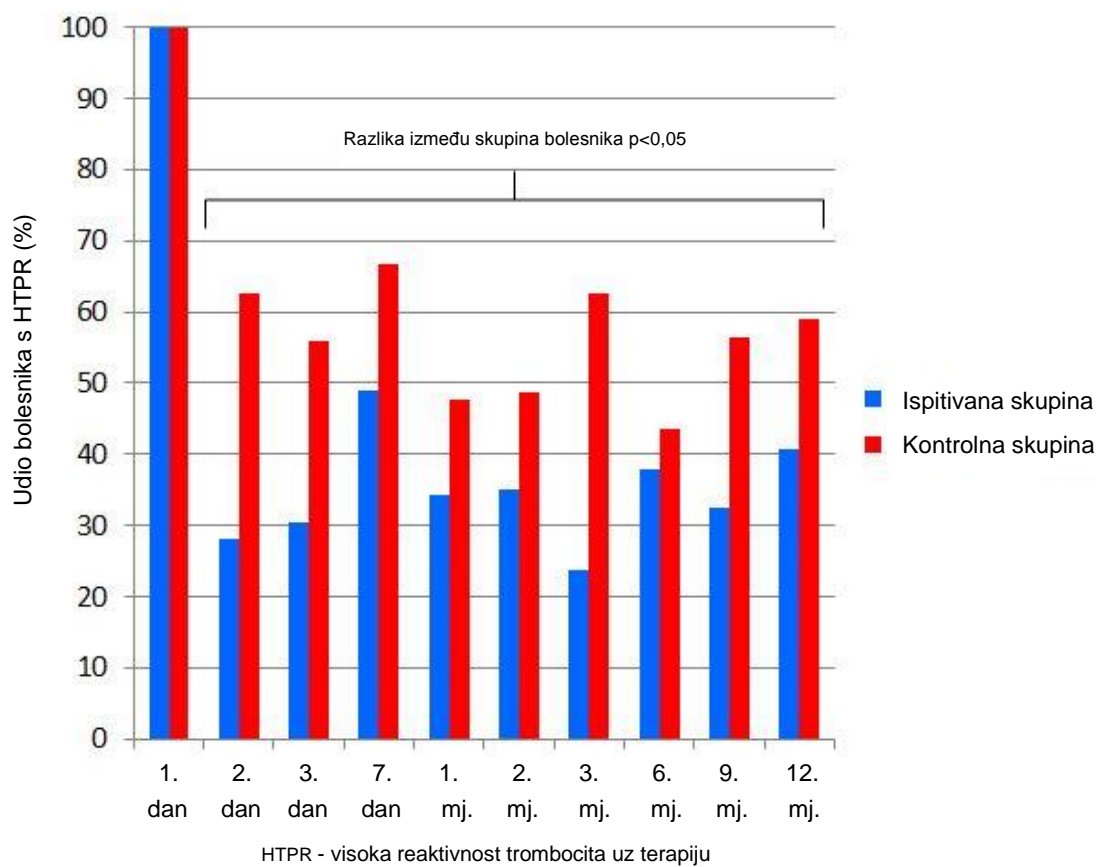


Slika 16. Intraindividualni raspon antitrombocitnog odgovora tijekom promatranog razdoblja u kontrolnoj skupini bolesnika.

Uspoređujući udio bolesnika koji su kroz 12 mjeseci adekvatno pokriveni inhibitorским učinkom klopidogrela primijećeno je kako je u ispitivanoj skupini bilo značajno više bolesnika s optimalnom inhibicijom RT (Tablica 11, Slika 17).

Tablica 11. Usporedba udjela bolesnika s adekvatnom reaktivnosti trombocita uz klopidogrel tijekom promatranog razdoblja.

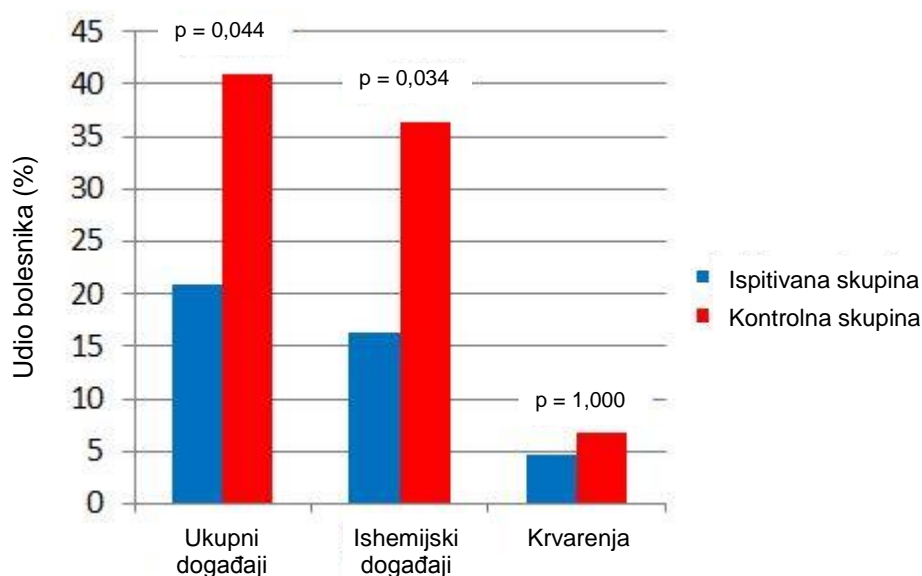
2. dan				3. dan				
	>46 U	≤46 U	Ukupno	p	>46 U	≤46 U	Ukupno	p
Kontrolna skupina	28	15	43	0,001	25	18	43	0,009
Ispitivana skupina	12	31	43		13	30	43	
Ukupno	40	46	86		38	48	86	
7. dan				1. mjesec				
Kontrolna skupina	29	13	42	0,058	18	24	42	0,415
Ispitivana skupina	21	22	43		14	27	41	
Ukupno	50	35	85		32	51	83	
2. mjesec				3. mjesec				
Kontrolna skupina	21	20	41	0,141	26	14	40	0,001
Ispitivana skupina	14	26	40		10	28	38	
Ukupno	35	46	81		36	42	78	
6. mjesec				9. mjesec				
Kontrolna skupina	18	21	39	0,463	23	16	39	0,020
Ispitivana skupina	14	23	37		12	25	37	
Ukupno	32	44	76		35	41	76	
12. mjesec				Prosječno				
Kontrolna skupina	24	15	39	0,067	26	18	44	0,013
Ispitivana skupina	15	22	37		14	29	43	
Ukupno	39	37	76		40	47	87	



Slika 17. Udio bolesnika s HTPR u obje skupine bolesnika tijekom promatranog razdoblja.

5.3. Klinički ishodi

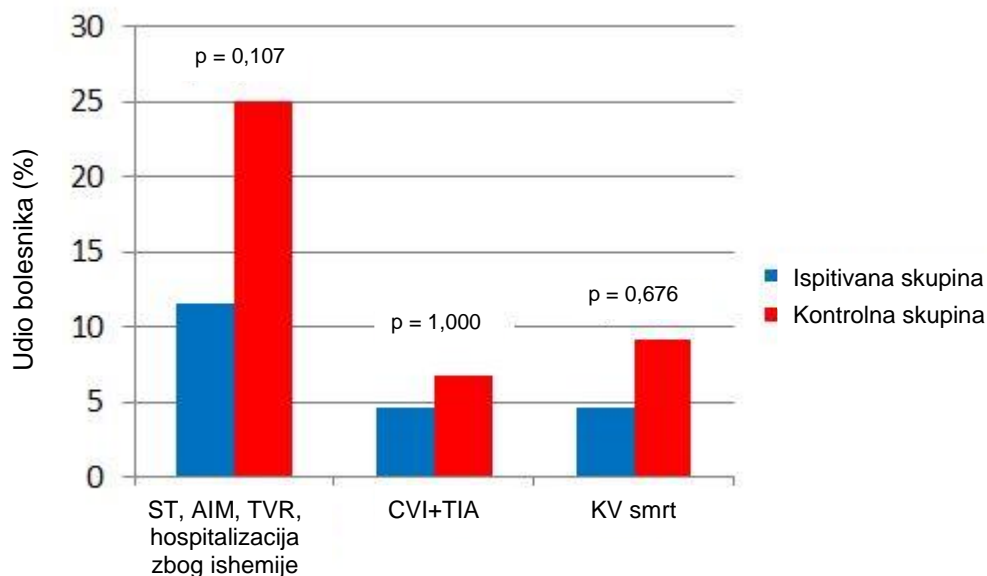
U ispitivanoj skupini je tijekom 12 mjeseci praćenja 9 bolesnika imalo neželjeni događaj (20,9%), dok je u kontrolnoj skupini neželjeni događaj imalo 18 bolesnika (41,8%) što predstavlja statistički značajno bolji ishod u ispitivanoj skupini ($p=0,044$). Kada se uspoređuju ishemijski događaji posebno, ponovno je ispitivana skupina imala statistički značajno manju stopu događaja ($p=0,034$). Krvarećih događaja je ukupno u obje skupine bolesnika bilo znatno manje od ishemijskih događaja i nije bilo značajne razlike između skupina (ispitivana skupina 4,6%; kontrolna skupina 6,8%; $p=ns$) (Slika 18.)



Slika 18. Klinički ishodi ispitanika.

Kada se pojedini ishemijski ishodi grupiraju na kardijane i cerebrovaskularne, ne dobivamo statistički značajnu razliku između skupina bolesnika, što može biti posljedica veličine ispitivanog uzorka (Slika 19.). Trombozu u stentu imalo je troje bolesnika u kontrolnoj skupini te jedan bolesnik u ispitivanoj skupini (6,8%:2,3%; $p=ns$) (Tablica 12.). Zbog maloga broja događaja snaga statističke analize za ovaj parametar je slaba. Također, nije bilo značajne razlike u kardiovaskularnoj smrtnosti (9% u kontrolnoj skupini: 4,6% u ispitivanoj skupini; $p=ns$). Nedostatak statističke snage zbog maloga broja događaja prisutan je i kod svih drugih neželjenih ishemijskih događaja kada se analiziraju zasebno. Isto vrijedi i za pojavnost krvarećih komplikacija. Prema

BARC klasifikaciji jedan je bolesnik u ispitivanoj skupini imao tip 2, a jedan bolesnik tip 5 krvarenja, dok su u kontrolnoj skupini dva bolesnika imala tip 2, a jedan bolesnik tip 3 krvarenja.



AIM - akutni infarkt miokarda; CVI - cerebrovaskularni inzult; KV smrt - kardiovaskularna smrt; ST - tromboza u stentu; TIA - tranzitorna ishemijska ataka; TVR - revaskularizacija ciljne lezije

Slika 19. Ishemijski ishodi ispitanika.

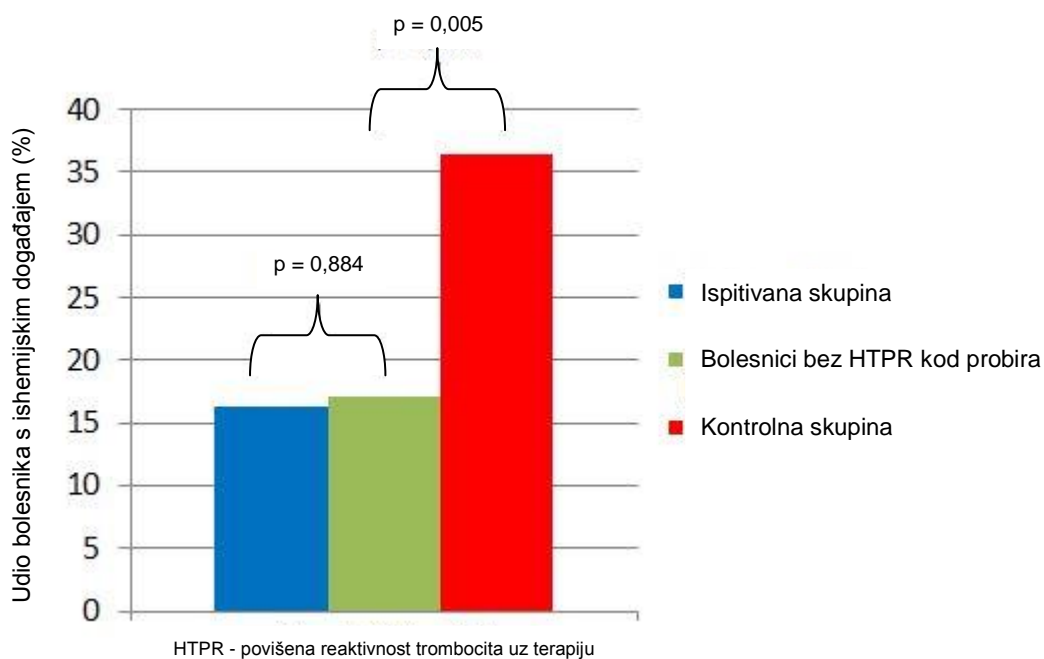
Tablica 12. Pojavnost tromboze u stentu.

	Bez ST	Sa ST	Ukupno
Kontrolna skupina	42	3	45
Ispitivana skupina	42	1	43
Ukupno	84	4	88

p=0,617

ST - tromboza u stentu

Pojavnost ponovljenih ishemijskih događaja u ispitivanoj skupini bolesnika (16,3%) bila je slična onoj u skupini bolesnika koji nisu imali HTPR kod probira (17,2%) ($p=ns$). Podaci o ishemijskim ishodima tijekom 12 mjeseci u skupini bolesnika bez HTPR sakupljeni su za 186 bolesnika (73,2%) (Slika 20.).



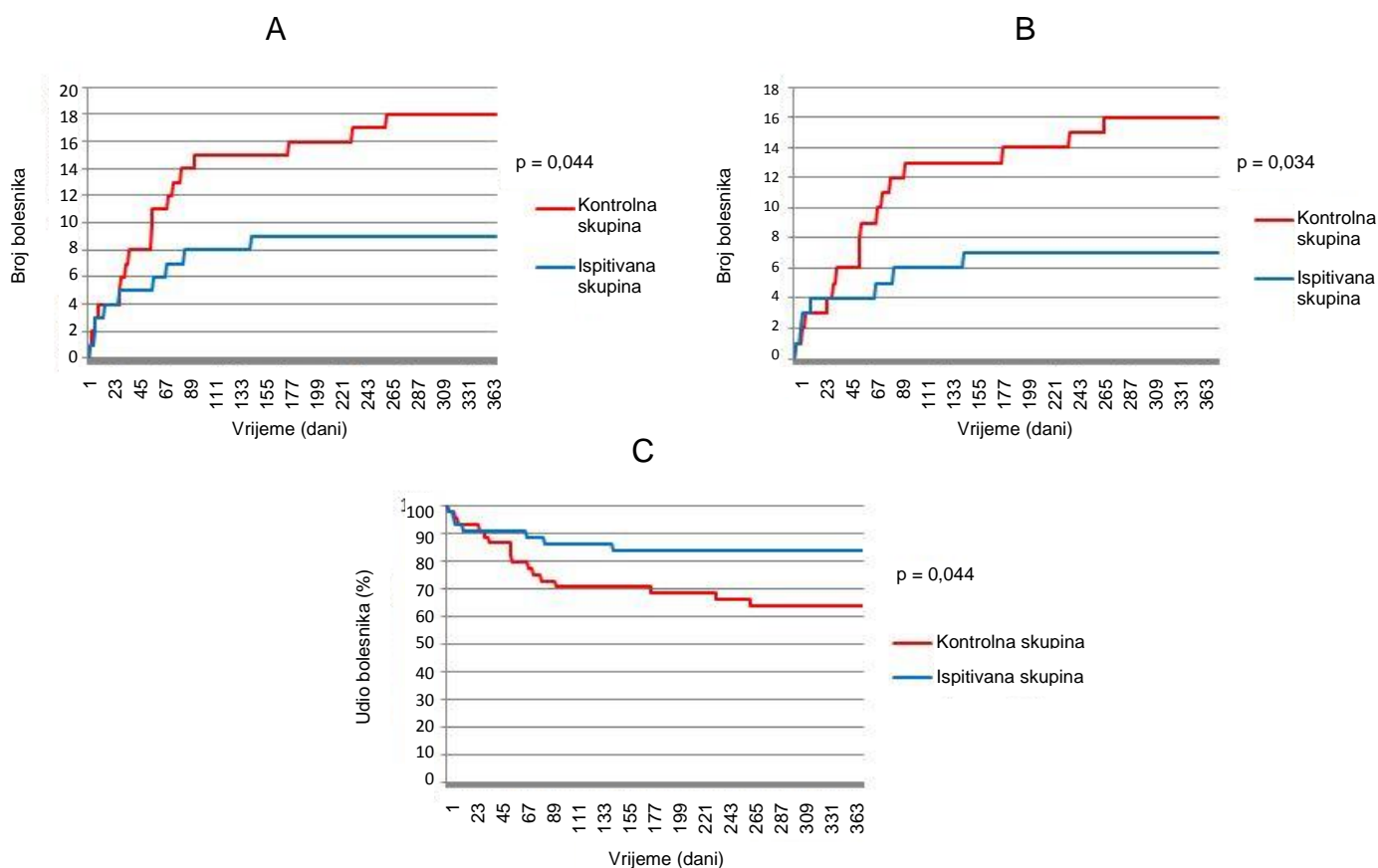
Slika 20. Usporedba pojavnosti ishemijskih ishoda u ispitivanoj i kontrolnoj skupini bolesnika sa skupinom bolesnika bez HTPR kod probira.

U ispitivanoj i kontrolnoj skupini bolesnika događaji su se prema vremenskom odmaku od randomizacije podjednako rasporedili, a najviše su se javljali u prva tri mjeseca (Tablica 13.). Detaljna usporedba pojavnosti neželjenih događaja između skupina bolesnika tijekom 12 mjeseci prikazana je na slici broj 21.

Tablica 13. Pojavnost neželjenih događaja u ispitanika u određenim vremenskim odmacima od randomizacije.

Dan pojave MACCE	≤7	8-30	31-90	>90	Ukupno
Kontrolna skupina	3	3	8	4	18
Ispitivana skupina	3	2	3	1	9
Ukupno	6	5	11	5	27

MACCE - veliki neželjeni kardijalni i cerebrovaskularni događaji



Slika 21. Usporedba pojavnosti neželjenih događaja između skupina bolesnika tijekom promatranog razdoblja: a) pojava ukupnih neželjenih događaja; b) pojava ishemijskih neželjenih događaja; c) preživljenje bez neželjenog događaja.

Pojavnost ishemijskih događaja prema vrsti ACS kod randomizacije nije bila statistički značajno različita u ukupnoj populaciji, ali niti unutar pojedine skupine bolesnika (Tablica 14.).

Tablica 14. Povezanost vrste akutnoga koronarnoga sindroma kod randomizacije s neželjenim događajima.

Ukupna populacija	Bez ishemijskog MACCE	S ishemijskim MACCE	Ukupno
NSTE-ACS	28	6	34
STE-ACS	36	17	53
Ukupno	64	23	87

p=0,136

Ispitivana skupina	Bez ishemijskog MACCE	S ishemijskim MACCE	Ukupno
NSTE-ACS	16	2	18
STE-ACS	20	5	24
Ukupno	36	7	43

p=0,680

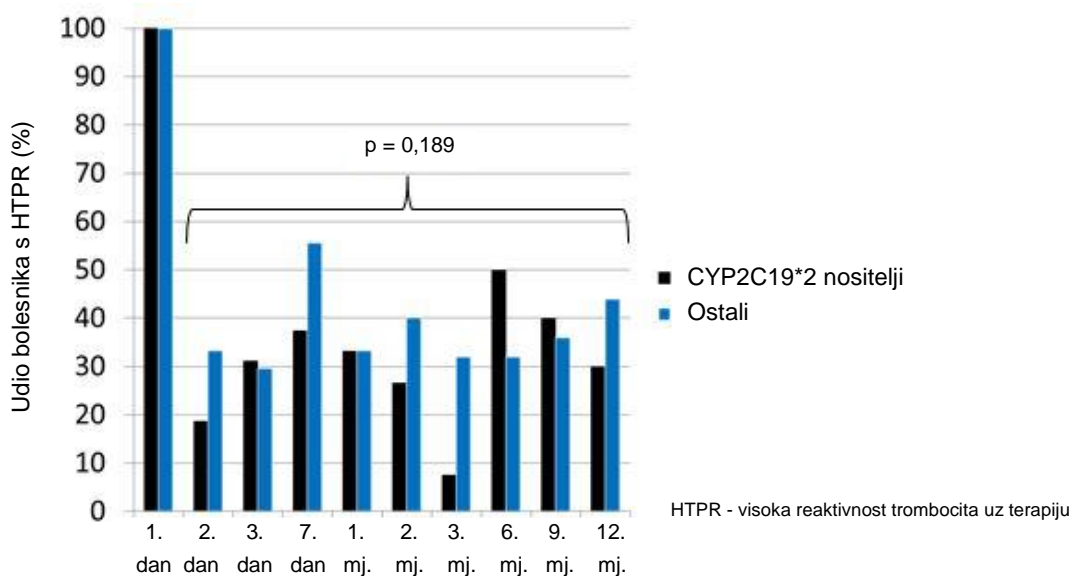
Kontrolna skupina	Bez ishemijskog MACCE	S ishemijskim MACCE	Ukupno
NSTE-ACS	12	4	16
STE-ACS	16	12	28
Ukupno	28	16	44

p=0,239

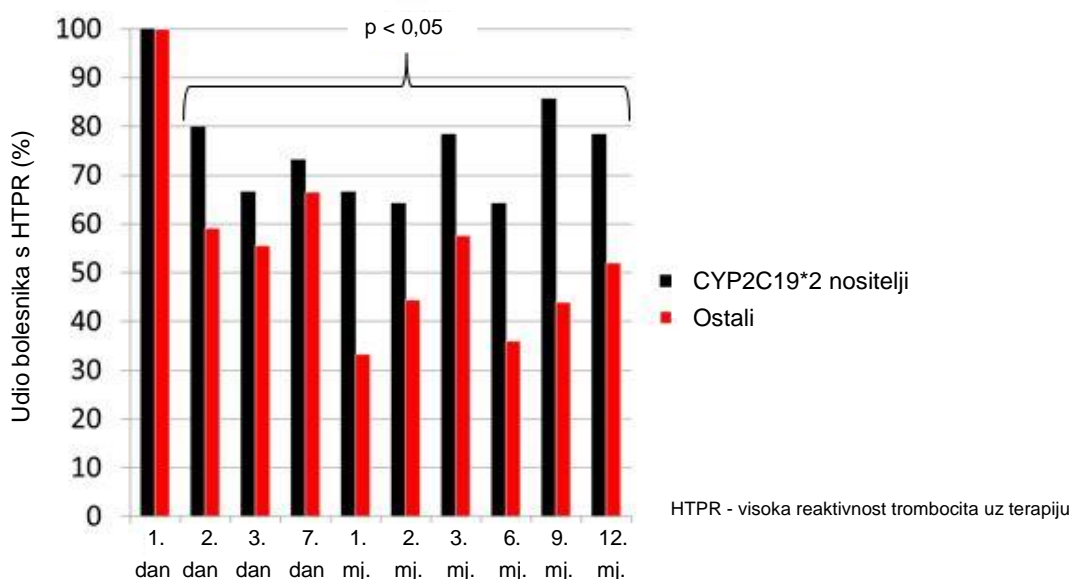
MACCE - veliki neželjeni kardijalni i cerebrovaskularni događaji, NSTE-ACS - akutni koronarni sindrom bez ST-elevacije; STE-ACS - akutni koronarni sindrom sa ST-elevacijom

5.4. Odnos genotipa CYP2C19 s reaktivnosti trombocita i kliničkim ishodima

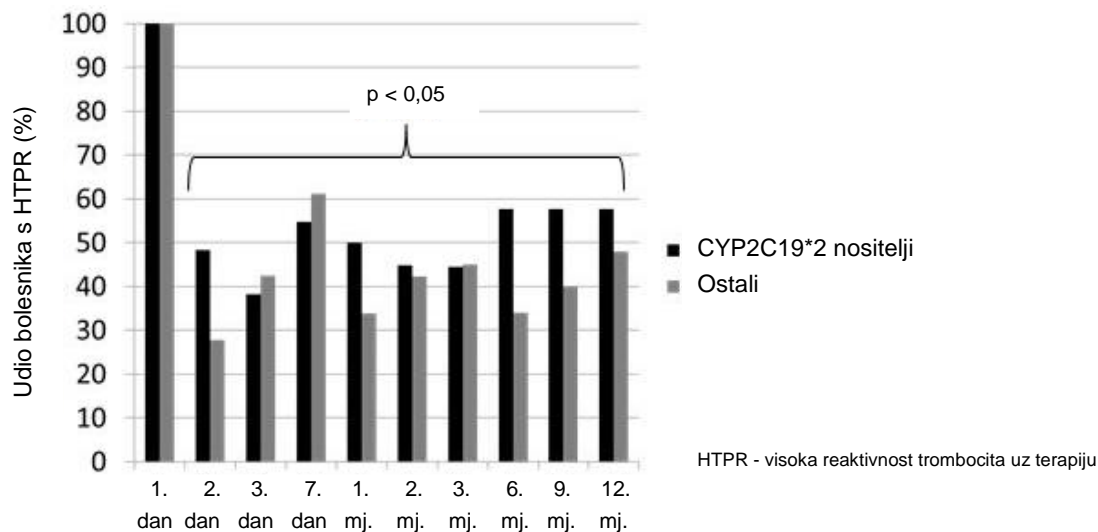
Od 87 bolesnika koliko je uključeno u studiju, genotipizacija DNA za CYP2C19 učinjena je kod 85 bolesnika (97,7%). Utjecaj nosilaštva alela CYP2C19*2 na udio bolesnika s HTPR fenotipom u svakoj pojedinoj skupini i ukupnoj populaciji ispitanika tijekom promatranog razdoblja prikazan je na slici 22, 23 i 24.



Slika 22. Utjecaj nosilaštva CYP2C19*2 alela na reaktivnost trombocita u ispitivanoj skupini tijekom 12 mjeseci.

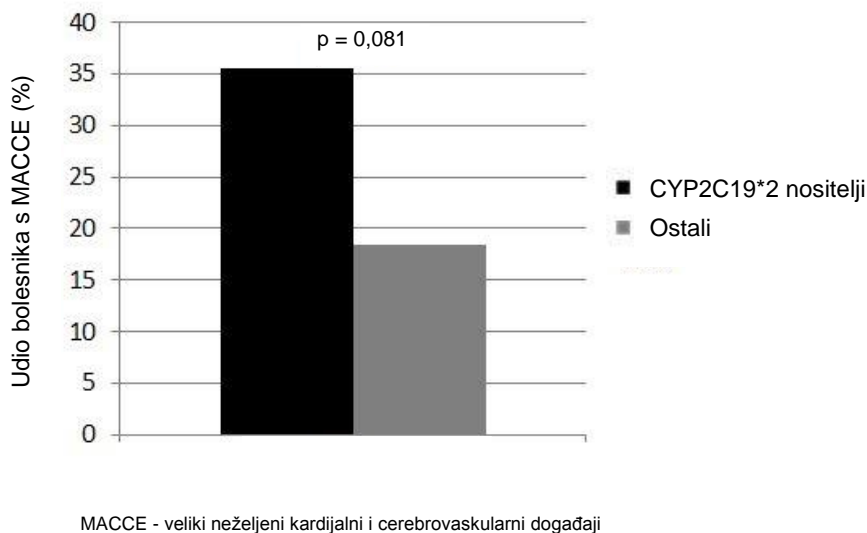


Slika 23. Utjecaj nosilaštva CYP2C19*2 alela na reaktivnost trombocita u kontrolnoj skupini tijekom 12 mjeseci.

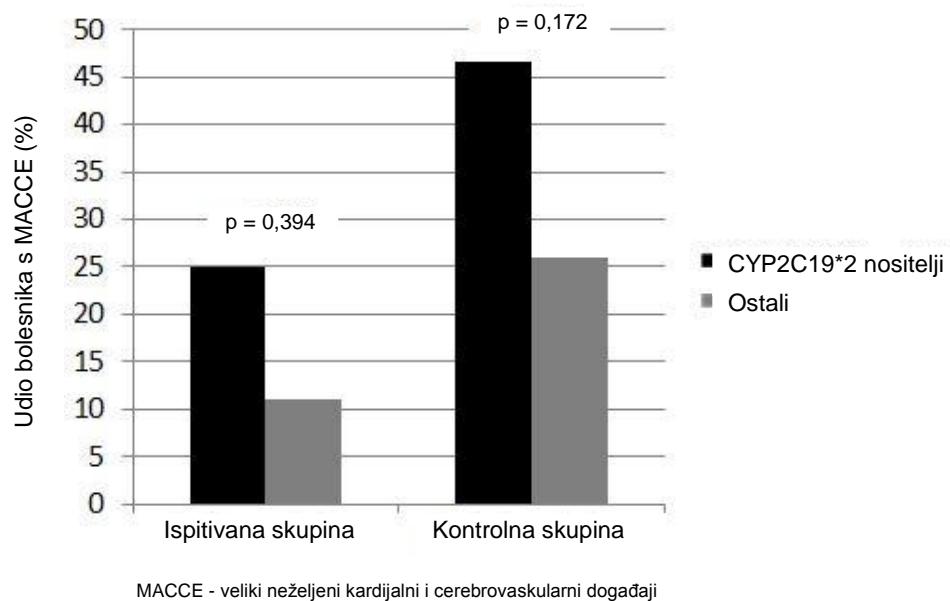


Slika 24. Utjecaj nosilaštva CYP2C19*2 alela na reaktivnost trombocita u ukupnoj populaciji ispitanika tijekom 12 mjeseci.

Povezanost nosilaštva alela CYP2C19*2 (homozigoti i heterozigoti) s neželjenim događajima u ukupnoj populaciji ispitanika prikazana je na slici broj 22, a za ispitivanu i kontrolnu skupinu bolesnika odvojeno na slici broj 23.



Slika 25. Pojavnost neželjenih događaja u ukupnoj populaciji ispitanika u odnosu na nosilaštvo CYP2C19*2 alela.



Slika 26. Pojavnost neželjenih događaja u ispitivanoj i kontrolnoj skupini u odnosu na nosilaštvo CYP2C19*2 alela.

5.5. Čimbenici rizika za pojavnost neželjenih ishemijskih događaja

Korelacijska analiza pokazala je statistički značajnu povezanost obiteljske anamneze za CAD s pojavnošću ishemijskih događaja u ispitivanoj skupini bolesnika ($p=0,001$). U kontrolnoj skupini statistički je značajnu povezanost s neželjenim ishodima imala starija dob bolesnika ($p=0,010$) i pozitivna obiteljska anamneza za CAD ($p=0,048$). U ukupnoj populaciji ispitanika statistički je značajno povezana s ishodima bila jedino šećerna bolest ($p=0,028$) (Tablica 15.). Primjenom logističke regresije pokazano je kako je genotip CYP2C19*2 bio neovisan čimbenik rizika za neželjene ishemijske ishode i da je nosio preko tri puta veći rizik za ishemijski događaj u cijeloj populaciji. Drugi značajniji čimbenici (spol, DM2, hiperlipidemija, raniji CVI) nisu se pokazali kao sigurni i nezavisni prediktori neželjenih ishemijskih događaja u cijeloj populaciji ispitanika, ali je kombinacija navedenih parametara s genotipom CYP2C19*2 statistički značajno bila povezana s ishemijskim ishodima ($p=0,034$) (Tablica 16.).

Tablica 15. Povezanost demografskih osobitosti ispitanika s ishemijskim događajima.

Osobine	Ispitivana skupina (p)	Kontrolna skupina (p)	Ukupna populacija (p)
Vrsta ACS	0,526	0,673	0,392
Dob	0,233	0,010	0,228
Spol	0,641	0,072	0,151
AH	0,710	0,459	0,468
HLP	0,448	0,090	0,134
DM2	0,136	0,066	0,028
Pušenje	0,597	0,349	0,757
CAD u obitelji	0,001	0,048	0,705
Raniji AIM	0,979	0,269	0,625
Raniji CVI	0,665	0,096	0,081
BMI	0,771	0,370	0,503
CYP2C19*2	0,243	0,180	0,083
CYP2C19*17	0,382	1,000	0,579

ACS - akutni koronarni sindrom; AH - arterijska hipertenzija; AIM - akutni infarkt miokarda; BMI - indeks tjelesne težine; CAD - koronarna arterijska bolest; CVI - cerebrovaskularni inzult; DM2 - šećerna bolest tip 2; HLP - hiperlipoproteinemija

Tablica 16. Demografske osobitosti povezane s ishemijskim ishodima u ukupnoj populaciji.

Osobine	OR	95% CI	p	p
Spol	0,451	0,14-1,36	0,159	0,034
CYP2C19*2	3,310	1,08-10,13	0,036	
HLP	1,657	0,50-5,47	0,407	
DM2	2,472	0,73-8,31	0,144	
Raniji CVI	2,120	0,26-16,97	0,479	

CI - interval pouzdanosti (engl. *confidence interval*); CVI - cerebrovaskularni inzult; DM2 - šećerna bolest tipa 2; HLP - hiperlipoproteinemija; OR - omjer izgleda (engl. *odds ratio*)

Poglavlje 6

RASPRAVA

Antiagregacijska terapija predstavlja temelj u akutnoj i kroničnoj farmakoterapiji CAD jer trombociti imaju središnju ulogu u kompleksnoj patogenezi razvoja same bolesti i njenih komplikacija (2, 3, 75, 76, 79, 106-109). U vremenu progresivnoga individualiziranoga pristupa liječenju, potrebne su učinkovite strategije liječenja bolesnika s ACS kako bi se smanjio rizik za nove ishemijske događaje, a da se s druge strane ne poveća rizik krvarenja. Otkrićem značaja varijabilnosti odgovora na klopido­gre­l te povezanosti lošijih kliničkih ishoda s oslabljenim učinkom klopido­gre­la, znanost i tehnologija razvili su jednostavne i lako upotrebljive uređaje kao što je uređaj Multiplate[®] koji mjere ostatnu RT. Razvojem i primjenom novih, snažnijih inhibitora P2Y₁₂ receptora kao što su prasugrel i tikagrelor, reducirana je stopa neželjenih ishemijskih događaja u bolesnika s ACS, no uz cijenu povišenog rizika za razvoj jatrogenoga krvarenja (119, 120). Unatoč značajnim dostignućima i unaprijeđenju liječenja CAD, oko 10-15% bolesnika i dalje razvija nepoželjne kardiovaskularne događaje (119, 120). To se osobito odnosi na bolesnike s ACS zbog čega se ipak ne može reći da je sadašnji pristup antitrombocitnom liječenju optimalan (119, 120, 222). Zadnjih je nekoliko godina ideja podešavanja antitrombocitne terapije prema PFT bila suočena s neuspjehom zbog negativnih rezultata velikih randomiziranih studija (197, 203, 207). Budući da su te studije uglavnom uključivale bolesnike sa stabilnom CAD, a znajući da je HTPR snažnije povezan s neželjenim ishodima u skupini bolesnika s ACS (222), ispitivanje rutinske uporabe PFT u odlučivanju o antitrombocitnoj terapiji u akutnim aterotrombotskim događajima kao ideja još nije napuštena.

Kako je korist od primjene DAPT prisutna tijekom 12 mjeseci nakon PCI (248), u ovom istraživanju bili smo vođeni pretpostavkom kako će trajno prilagođavanje doze klopido­gre­la, naročito intenzivirano u ranom tijeku bolesti, ali i kontinuirano tijekom 12 mjeseci nakon PCI, dovesti do boljeg kliničkog ishoda ukoliko se RT održava u preporučenom optimalnom terapijskom prozoru (228). Prema našim saznanjima, ovo je prva randomizirana studija koja je ispitala može li takav pristup primjeni inhibitora P2Y₁₂ receptora koristeći PFT u bolesnika s inicijalnim HTPR fenotipom uz klopido­gre­l tijekom 12 mjeseci nakon PCI u ACS poboljšati klinički ishod.

Rezultati disertacije ukazuju kako trajno prilagođavanje doze klopidogrela prema agregometrijskim nalazima uređaja Multiplate® tijekom 12 mjeseci u ovoj visoko rizičnoj skupini bolesnika dovodi do bolje kontrole RT i boljeg kliničkog ishoda. Pokazali smo kako je u kontrolnoj skupini bolesnika udio onih koji su imali HTPR fenotip tijekom 12 mjeseci bio statistički značajno veći nego u ispitivanoj skupini. Kako su bolesnici u ispitivanoj skupini imali bolji klinički ishod, dolazimo do zaključka kako bi PFT mogao biti koristan alat u provođenju antiagregacijskog liječenja bolesnika s ACS. Rutinska uporaba PFT trenutno nije preporučljiva niti prilikom elektivne niti hitne PCI. Prema važećim preporukama, određivanje RT u navođenju antiagregacijske terapije može se razmotriti eventulano kod bolesnika kod kojih se planira visokorizična PCI ili onih bolesnika koji su ranije preboljeli trombozu u stentu (klasa preporuke - IIb, razina dokaza - C) (3, 192, 223, 228, 249).

Pojavnost oslabljenog učinka klopidogrela je prema dosadašnjim studijama prisutna u 15% do 60% bolesnika (196-207, 250). Velike razlike u pojavnosti oslabljenog učinka klopidogrela opisane u dosadašnjim istraživanjima mogu se pripisati tome što su istraživači koristili različite metode za mjerenje RT, različite definicije oslabljenog odgovora na klopidogrel, različite ispitivane skupine bolesnika te različito vrijeme u kojem se samo mjerenje vršilo. U našem je istraživanju incidencija HTPR bila 25,5%, što je slično značajnijim studijama koje su koristile uređaj Multiplate® i sličnu metodologiju istraživanja (202, 204, 208).

Rezultati ove disertacije na tragu su implementacije individualiziranog pristupa u primjeni inhibitora P2Y₁₂ receptora u ACS temeljenom na PFT i konsenzusom predloženog koncepta terapijskoga prozora (226, 228). U ovom trenutku ne postoje završene velike randomizirane studije koje su ispitivale može li se podešavanjem antitrombotične terapije kod bolesnika s ACS poboljšati klinički ishod. Kao što se doza inzulina podešava prema razini glukoze u krvi ili kao što se doza varfarina podešava prema vrijednostima INR-a, logično bi bilo očekivati da se primjena antitrombotične terapije može optimizirati prema vrijednostima ostatne RT. Premda je konsenzusom određen optimalni stupanj RT (228), nije jasno je li preporučeni raspon optimalan za cijelo razdoblje primjene DAPT i za različite podskupine bolesnika s ACS. Rezultati našeg istraživanja ukazuju kako bi postojeće granice terapijskog prozora mogle predstavljati optimalni raspon RT tijekom 12 mjeseci primjene inhibitora P2Y₁₂ receptora nakon ACS.

Metaanaliza koja je obuhvatila devet studija dijelom nalik predmetnoj, pokazala je znatnu redukciju kardiovaskularne smrtnosti i tromboze u stentu u skupinama bolesnika kojima je prilagođavana antitrombotična terapija. Iako su u tim studijama korištene različite metode prilagodbe terapije, najveća korist pokazana je upravo u skupini bolesnika visokog rizika, što se slaže i s rezultatima ove disertacije (220). Upravo smo iz tog razloga u naše istraživanje uključili bolesnike vrlo visokog rizika - bolesnike s ACS i HTPR kod kojih pojava ponovnih ishemijskih događaja unatoč primjeni DAPT doseže prema nekim istraživanjima i do 40% (246, 247). Pojavnost neželjenih ishemijskih događaja u našoj kontrolnoj skupini bolesnika iznosila je 36,3%.

Intenziviranim podešavanjem doze klopidozela uspjeli smo u ispitivanoj skupini bolesnika postići značajno manju stopu novih ishemijskih događaja (16,3%) bez značajnog povećanja broja krvarećih komplikacija. K tome, bolesnici u ispitivanoj skupini imali su sličnu pojavnost ishemijskih događaja kao bolesnici koji kod probira nisu imali HTPR fenotip. Prema navedenom, može se ustanoviti da rezultati ovoga istraživanja podupiru tezu kako je HTPR podestiv čimbenik rizika za nove ishemijske događaje.

Tromboza u stentu kao životno ugrožavajući događaj iznimno povezan s HTPR (211) i s prevalencijom do 3%, zabilježen je kod tri bolesnika u kontrolnoj te kod jednog bolesnika u ispitivanoj skupini što nije zanemariv broj na ispitivanom uzorku bolesnika (6,8%:2,3%).

Koristeći VASP-P, Bonello i sur. pokazali su kako do tri dodatna davanja doze zasićenja klopidozela od 600 mg bolesnicima sa stabilnom CAD, kako bi se postigla optimalna inhibicija RT kod bolesnika s HTPR prije PCI, smanjuje stopu neželjenih ishemijskih događaja i tromboze u stentu bez povećanja rizika krvarenja kroz 30 dana (198). U našem istraživanju koristili smo sličan princip davanja dodatnih doza zasićenja klopidozela kroz prva tri dana za bolesnike s perzistentnim HTPR fenotipom.

Hazarbasanov i sur. su koristeći uređaj Multiplate® pokazali kako se sa samo jednom dodatnom dozom zasićenja i primjenom povišene doze održavanja klopidozela od 150 mg/dan tijekom prvih mjesec dana nakon PCI bolesnicima s HTPR može poboljšati inhibicija RT i klinički ishod nakon 6 mjeseci. Skupina istraživača uključila je u istraživanje podjednak broj bolesnika sa stabilnom CAD (43%) i ACS (57%) (202).

U studiji RECLOSE 2-ACS, Parodi i sur. pokazali su koristeći LTA kako je HTPR fenotip u bolesnika s ACS nakon PCI povezan s povećanim rizikom za ponovljenim

ishemijskim događajem tijekom dvije godine unatoč povišenju doze klopidogrela na 150-300 mg/dan ili zamjene klopidogrela s tiklopidinom u dozi od 500-1000 mg/dan (211).

Wang i suradnici su koristeći metodu VASP-P kod bolesnika s nijemom ishemijom i NSTEMI-ACS vršili prilagođavanje doze održavanja klopidogrela mjesec dana nakon PCI i svaka iduća tri mjeseca kako bi održavali indeks RT u rasponu od 25-50% (199). U našem smo istraživanju koristili modificiranu kombinaciju pristupa prilagođavanju doze klopidogrela kao u navedenim studijama s idejom trajnog podešavanja doze klopidogrela, i u ranoj i kasnoj fazi bolesti, kako bi se cijelo vrijeme što bolje održavala optimalna predložena vrijednost RT jer je poznato kako je RT dinamička varijabla s interindividualnim, ali i intraindividualnim varijacijama (251). Dizajn našeg istraživanja, kako je ranije spomenuto, temeljen je na pretpostavci da bi za veću i dužu korist bolesnika bilo potrebno provoditi PFT kroz cijeli period uzimanja DAPT te da bi to u konačnici rezultiralo boljim uvidom u obrazac odgovora trombocita na inhibitor P2Y₁₂ receptora, boljom kontrolom bolesnika, boljom suradljivošću i konačno, boljim kliničkim ishodom. Također, poznato je kako je HTPR povezan s dozom klopidogrela (252) te da točno vrijeme u kojem bi trebalo vršiti PFT nije jasno utvrđeno (192, 228).

TRILOGY-ACS podstudija reaktivnosti trombocita bila je najduža studija koja je ispitivala utjecaj RT na kliničke ishode. Studija je trajala 30 mjeseci. Uključila je bolesnike s ACS iz studije TRILOGY-ACS koji inicijalno nisu liječeni koronarnom revaskularizacijom. *Post hoc* analizom rezultata agregometrije s uređajem VerifyNow[®] istraživači nisu našli statistički značajnu povezanost između rezultata PFT i kliničkoga ishoda tijekom 30 mjeseci (206). Ovo opažanje svakako se ne može primijeniti i na bolesnike s ACS koji se liječe s PCI jer je poznato kako je HTPR nezavisan faktor rizika za ranu i kasnu trombozu u stentu (220, 222).

Promjene odgovora na antitrombocitnu terapiju razlikuju se u akutnoj i stabilnoj koronarnoj bolesti jer je ACS hiperkoagulabilno stanje (253, 254). Jakost antitrombocitnog učinka klopidogrela ovisna je i o više drugih čimbenika kao što su komorbiditeti, nedovoljno doziranje lijeka, suradljivost, interakcije lijekova ili genotip CYP2C19 (134, 141, 148-150, 255, 256). Dosadašnje studije pokazale su kako se udio bolesnika s HTPR smanjuje s vremenom i bez podešavanja terapije, ali i da određeni dio bolesnika ima perzistentni HTPR fenotip (197, 224). U studiji GRAVITAS, 38% bolesnika s inicijalnim HTPR u kontrolnoj skupini bolesnika je nakon 30 dana imalo dobar odgovor na klopidogrel (197). U našem istraživanju je oko 45% bolesnika u

kontrolnoj skupini bez intervencije postiglo optimalan odgovor na standardnu dozu klopidogrela tijekom praćenja. Znajući da je GRAVITAS uključivao bolesnike sa stabilnom CAD, nešto veći udio bolesnika koji su normalizirali odgovor na klopidogrel u našoj kontrolnoj skupini može se objasniti prolaznim dodatnim utjecajem ACS na povišenje RT. Zašto određeni udio bolesnika ipak zadržava HTPR nije sasvim jasno. U našem smo istraživanju pokazali i veliku intraindividualnu varijaciju antitrombotičnog odgovora uz terapiju u obje skupine bolesnika tijekom promatranog razdoblja. Fenomen intraindividualne varijacije učinka klopidogrela zamijećen je i u drugim studijama (251), a postojanje takvog promijenjivog učinka lijeka na RT tijekom vremena također upućuje da bi serijsko provođenje PFT i prilagođavanje doze inhibitora P2Y₁₂ receptora moglo imati kliničku korist.

Analizirajući trendove promjene ostatne RT, primijetili smo statistički značajan prolazan dodatni porast prosječne RT 7. dan u obje skupine bolesnika. Ovo može biti slučajna nalaz zbog ograničene veličine ispitivanog uzorka ili posljedica slabije inicijalne suradljivosti bolesnika po otpustu iz bolnice koju je teško dokazati. Znajući da 95,4% bolesnika uključenih u studiju prije inicijalnog ACS nije uzimalo klopidogrel, ne može se mogućnost slabije suradnje bolesnika kao uzrok ovoga zapažanja potpuno zanemariti. Očekivalo bi se da će se jačina aktivacije trombocita mjerena 7. dan dodatno sniziti jer je tada već većini bolesnika iz terapije isključena potkožna primjena LMWH ili fondaparinuksa. Poznato je, naime, da antikoagulansi negativnog naboja (UFH, LMWH, fondaparinuksa) pojačavaju RT osnažujući učinak niske doze ADP-a. Trombociti se vežu za heparin preko GPIIb/IIIa receptora te im se na taj način smanjuje prag za pokretanje aktivacijskih procesa (257, 258).

Zbog nedostupnosti novijih inhibitora P2Y₁₂ receptora, prilagođavanje antitrombotične terapije u ovom se istraživanju baziralo na intenziviranoj prilagodbi doze klopidogrela. Iako se novijim inhibitorima P2Y₁₂ receptora u ACS daje prednost u odnosu na klopidogrel, važnost rezultata ovog ispitivanja leži i u tome što je klopidogrel i dalje jedan od najviše korištenih lijekova na svijetu (127) te će sigurno biti u širokoj uporabi i u budućnosti, što zbog ekonomskih razloga, a što zbog velikog kliničnog iskustva. Jedino pitanje na koje ne znamo odgovor jest koji će sve bolesnici imati najviše koristi od njegove primjene. Naši rezultati podloga su i za pitanje je li klopidogrel unatoč prisutnosti novijih P2Y₁₂ inhibitora u liječenju ACS, pa i kod bolesnika s visokom ostatnom RT, postao neopravdano podcijenjen?

Prisutstvom jačih inhibitora P2Y₁₂ receptora na tržištu i njihovom sve većom dostupnošću, kardiolozi su suočeni s novim izazovima u antitrombotičnom liječenju jer neće morati samo razmišljati o dodatnom smanjenju rizika za ishemijske događaje, već i o riziku za nastanak jatrogenog krvarenja. Nerijetko je vrlo teško procijeniti ovaj rizik jer se neki čimbenici rizika za ishemijske i krvareće incidente preklapaju (starija dob, anemija, kronično zatajivanje bubrega, šećerna bolest) (228). Uloga PFT bi prema rezultatima nedavno objavljenih opservacijskih studija mogla također biti važna i u primjeni novih inhibitora P2Y₁₂ receptora (240-242).

Za sada, prema smjernicama je i dalje predloženi režim antitrombotičnoga liječenja uglavnom univerzalan, neovisno o demografskim, angiografskim ili agregometrijskim karakteristikama bolesnika (3, 60, 78, 98, 223). Prasugrelu i tikagreloru daje se prednost u odnosu na klopido­gre­l u liječenju ACS uz ipak najvišu razinu preporuke za sva tri lijeka (I) te nekoliko posebnih napomena vezanih uz primjenu prasugrela. Naime, prasugrel se može dati ukoliko je poznata koronarna anatomija bolesnika te ako je u nastavku planirana i PCI. Prasugrel se ne preporuča koristiti kod bolesnika koji su preboljeli CVI ili TIA te onih starijih od 75 godina. Također, za prasugrel se preporuča, kod bolesnika koji imaju manje od 60 kilograma, uvesti nižu dozu održavanja (5 mg/dan) (3, 60, 78, 98). S druge strane, u elektivnoj se PCI prednost daje klopido­gre­lu (klasa preporuke - I; razina dokaza - A), a primjena novijih inhibitora P2Y₁₂ preporučuje se ukoliko je uz klopido­gre­l bolesnik ranije imao trombozu u stentu (klasa preporuke - IIa; razina dokaza - C) (223).

U ovoj disertaciji pokazano je kako je moguće poboljšati RT tijekom čitavih 12 mjeseci primjene DAPT, i to neovisno o polimorfizmu gena za CYP2C19 koji može biti povezan s oslabljenom ili pojačanom aktivnošću enzima. Mega i suradnici pokazali su da je nekim bolesnicima potrebno povisiti dozu održavanja klopido­gre­la i do 225 mg/dan na bi postigli optimalnu vrijednost RT (214). Naši rezultati ukazuju da je nekim bolesnicima potrebna doza održavanja klopido­gre­la od 300 mg/dan i da bi tolika doza mogla biti sigurna ukoliko je prilagođena rezultatima PFT. Valja naglasiti da bolesnici koji su doživjeli krvareći događaj u našoj ispitivanoj skupini, u trenutku navedenog događaja nisu primali maksimalnu predviđenu dozu održavanja klopido­gre­la u studiji (300 mg/dan).

Analizom nismo pronašli razlike u pojavnosti neželjenih događaja ovisno o obliku ACS kod randomizacije što može biti posljedica nedovoljno velikoga uzorka bolesnika za analizu toga parametra. Naime, poznato je kako bolesnici s AIM, a posebno sa STEMI,

imaju lošiji klinički ishod, a zbog pojačanog otpuštanja mladih trombocita, povišenog tonusa simpatikusa, povišene razine serumskog ADP-a oslobođenog iz nekrotičnih miocita, upalnih i drugih čimbenika imaju i povećanu ukupnu RT (111, 147, 259-263).

Ranije studije pokazale su kako je CYP2C19*2 alel čvrsto povezan s HTPR i višom stopom neželjenih događaja (105, 180-184). Prema našim rezultatima, genotip CYP2C19*2 može se uspješno nadvladati s višim dozama klopidozela te tako poboljšati RT i kod onih bolesnika koji su spori metabolizatori klopidozela. Mogućnost nadvladavanja HTPR fenotipa u bolesnika sa stabilnom CAD i ACS koji su nositelji alela CYP2C19*2 pokazali su i drugi autori (213, 214). Udio nositelja CYP2C19*2 alela u našoj populaciji ispitanika iznosio je 36,5%. Uzevši u obzir da je pojavnost nosilaštva spomenutog alela u bijeloj rasi općenito oko 13-15%, što su pokazale i analize naših istraživača na općoj populaciji u Hrvatskoj (264), može se zaključiti da je genetski profil, tj. nosilaštvo alela CYP2C19*2 u populaciji naših ispitanika u određenom dijelu doprinijelo oslabljenom odgovoru na klopidozel. U ispitivanoj skupini nije bilo CYP2C19*2 homozigota, dok je CYP2C19*2 heterozigota bilo šesnaest. S druge strane, u kontrolnoj skupini bila su dva CYP2C19*2 homozigota i trinaest heterozigota. Ovo ukazuje da određivanje genotipa CYP2C19 ne može biti dobra metoda za identifikaciju bolesnika s HTPR fenotipom jer 63,6% bolesnika u našoj studiji s HTPR nije nosilo alel CYP2C19*2. To je u skladu s nalazom Fontane i sur. koji su metaanalizom pokazali kako je genotip CYP2C19*2 imao negativnu prediktivnu vrijednost za HTPR od samo 52,3% (265). Pošto određene metaanalize nisu pokazale povezanost alela CYP2C19*2 s neželjenim događajima (266-268), smatramo da se donošenje odluke o antitrombocitnom liječenju ne bi trebalo bazirati isključivo prema genotipu CYP2C19. Iako su u obje skupine naših ispitanika nositelji alela CYP2C19*2 imali više neželjenih događaja od nenositelja, to nije bilo statistički značajno. Štoviše, u ispitivanoj skupini bolesnika je utjecaj nosilaštva CYP2C19*2 bio slabije povezan s neželjenim događajima u odnosu na kontrolnu skupinu što može biti posljedica nadvladavanja ovog čimbenika rizika s prilagođenim dozama klopidozela i postizanjem bolje RT. Uspješno prevladavanje genotipa CYP2C19 povezanog sa slabijom bioaktivacijom klopidozela je razumljivo jer je nekoliko studija pokazalo kako prisutstvo CYP2C19*2 alela ima relativno mali (5-12%) utjecaj na farmakodinamičke karakteristike klopidozela (184, 269, 270).

Primjenom logističke regresije u analizi značajnijih prediktora ishemijskoga neželjenoga ishoda u našem istraživanju, ustanovili smo kako je genotip CYP2C19*2 izrazilo

snažno bio povezan s neželjenim ishodima te je u cijeloj populaciji ispitanika nosio više od tri puta veći rizik za novi ishemijski događaj (OR=3,31; 95%CI=1,08-10,13; p=0,036). Ostali značajniji čimbenici (spol, DM2, hiperlipidemija, raniji CVI) nisu se pokazali sigurnim i nezavisnim prediktorima ishemijskog događaja, ali je kombinacija navedenih parametara s genotipom CYP2C19*2 statistički značajno bila povezana s ishemijskim ishodima (p=0,034). Ovo ukazuje kako bi u odlučivanju o izboru optimalnog inhibitora P2Y₁₂ receptora i strategiji antitrombocitnoga liječenja bolesnika s ACS mogao pomoći dizajnirani sustav procjene rizika koji bi uz HTPR obuhvaćao i ove parametre. Geisler i sur. predložili su model bolje procjene rizika za HTPR i neželjene događaje koristeći kliničke i laboratorijske karakteristike bolesnika. Skupina autora opisala je nezavisnu prediktivnu vrijednost niske LVEF, ACS, šećerne bolesti, zatajivanja bubrega i dobi iznad 65 godina s HTPR i lošijim kliničkim ishodom nakon 30 dana (271).

U skupini ispitivanih bolesnika udio onih koji su nositelji barem jednog alela CYP2C19*17 bio je 42,3%. Ova varijanta genotipa CYP2C19 mnogo je češća od CYP2C19*2 i slične je pojavnosti u našoj populaciji bolesnika kao i u ranije objavljenim radovima na koronarnim bolesnicima (272). Kako se moglo predvidjeti, zbog pojačane konverzije klopidogrela u aktivni metabolit, nosilaštvo CYP2C19*17 alela nije bilo povezano s ishemijskim događajima ni u jednoj skupini ispitanika. Iako su raniji radovi pokazali povezanost prisutnosti alela CYP2C19*17 i krvarećih komplikacija, ta veza zbog niske stope krvarenja u naših ispitanika nije se mogla adekvatno pokazati.

Sudeći prema svemu, izvjesno je kako će u budućnosti pristup bolesniku s ACS biti sve više individualiziran. Taj pristup, nažalost, neće biti temeljen samo na medicinskim kriterijima, već sve više i na farmakoekonomskim čimbenicima. Imajući u vidu navedeno, važnost daljnjih ispitivanja inhibitora P2Y₁₂ receptora, PFT i personaliziranog pristupa u antitrombocitnom liječenju još je veća jer time bi mogli smanjiti broj bolesnika koji bi nepotrebno uzimali jači i skuplji inhibitor P2Y₁₂ receptora, ali bi također mogli smanjiti i broj potencijalnih krvarećih komplikacija. Straub i suradnici u nedavno objavljenoj studiji izračunali su kako prilagođena primjena inhibitora P2Y₁₂ receptora prema PFT (prasugrel za bolesnike s HTPR, klopidogrel za ostale) može biti učinkovitija od standardne primjene klopidogrela, a podjednako učinkovita i isplativija od primjene prasugrela ili tikagrelora u liječenju bolesnika s ACS koji su podvrgnuti PCI (273).

Nekoliko je ograničenja prisutno u ovom istraživanju:

1. Između skupine bolesnika s prilagođenom antitrombocitnom terapijom i skupine liječenom standardnim dozama klopidozela postojala je značajna razlika u proširenosti CAD što je moglo utjecati na veći broj hospitalizacija zbog ishemije i ishemijskih događaja općenito. Chirumamilla i sur. pokazali su da je proširenost CAD povezana s pojačanom RT i da bi ista mogla biti i uzrok HTPR fenotipu (274). Ovo ukazuje kako je značajno manja proširenost CAD u ispitivanoj skupini bolesnika mogla, osim na ishode, utjecati i na bolju kontrolu RT;
2. Isključni kriteriji smanjili su reprezentativnost populacije koju liječimo u svakodnevnoj praksi (bolesnici stariji od 80 godina, kontinuirana infuzija GPIIb/IIIa inhibitora nakon PCI, zatajivanje bubrega, neuspješna PCI, konkomitantna antikoagulacijska terapija...) što su ograničenja i znatnog broja sličnih studija (196-199, 202, 203, 207, 214);
3. Relativno mali uzorak bolesnika ne može jamčiti dovoljnu snagu statističke analize za pojedinačne ishemijske događaje, stope krvarenja i utjecaj farmakogenetske analize na rezultate.

Naposljetku, treba naglasiti kako je ovaj rad svakako na tragu implementacije rutinske uporabe PFT u prilagođavanju terapije inhibitora P2Y₁₂ receptora u bolesnika s ACS. Pokazali smo kako primjena prilagođavane doze klopidozela i kod bolesnika s HTPR, u nedostatku novih inhibitora P2Y₁₂ receptora, može biti učinkovita i sigurna neovisno o CYP2C19 genotipu. Važnost daljnjih istraživanja HTPR leži u tome što su nedavne opservacijske studije pokazale da je HTPR značajan i kod primjene novih inhibitora ADP-P2Y₁₂ receptora (240-242). Korištenje PFT bi uz uporabu novih inhibitora P2Y₁₂ receptora moglo biti važno i u predviđanju rizika za krvarenje jer je niska RT uz njihovu uporabu češća nego uz klopidozel. Također, bolje predviđanje povećanoga rizika krvarenja nužno je i zbog toga što se procjenjuje da oko 5-10% bolesnika koji se liječe pomoću PCI uzima i trajnu antikoagulantnu terapiju (275). Kako bi se bolje predvidio i smanjio rizik ponovne ishemije, ali i krvarenja, pretpostavljamo da će budućnost antitrombocitne terapije biti u još izraženijem individualiziranom pristupu koji će osim osobina bolesnika i kliničke prezentacije u obzir uzimati i rezultate PFT, a možda i CYP2C19 genotipizacije.

U ovom zanimljivom i važnom istraživačkom području i dalje postoje pitanja koja traže odgovore. Zbog loše negativne prediktivne vrijednosti genotipa CYP2C19 za HTPR i premostivog farmakokinetičkog utjecaja na RT, smatramo kako bi se daljnje studije

trebale fokusirati više na savladavanje samog HTPR fenotipa na koji utječe više čimbenika te da bi genotip CYP2C19 mogao biti tek jedan od parametara procjene rizika od ishemije, ali i krvarenja. Nekoliko je različito koncipiranih velikih studija u tijeku koje ispituju individualizirani pristup u antitrombocitnom liječenju bolesnika s ACS. Među njima, najveće su randomizirane studije ANTARTIC i TROPICAL ACS koje temelje prilagođavanje antitrombocitne terapije prema PFT (ANTARCTIC - VerifyNow[®], TROPICAL ACS - Multiplate[®]). U tijeku je i studija TAILOR-PCI u kojoj će se antitrombocitno liječenje bolesnika s ACS prilagođavati ovisno o polimorfizmu CYP2C19 gena. Ima li mjesta rutinskoj primjeni PFT i/ili farmakogenetičkoj analizi u odabiru antitrombocitne terapije kod bolesnika s ACS, pokazat će rezultati ovih studija.

Poglavlje 7

ZAKLJUČAK

1. Bolesnici s ACS kojima je nakon PCI ustanovljen HTPR fenotip i kojima je intenzivno i sustavno kroz vrijeme uzimanja DAPT prilagođavana doza klopidozrela prema ostatnoj RT mjerenoj uređajem Multiplate[®], imali su povoljniji klinički ishod u odnosu na bolesnike s ACS i HTPR u kontrolnoj skupini koji su bili liječeni standardnom dozom klopidozrela. Bolesnici u ispitivanoj skupini imali su statistički značajno manju stopu novih ukupnih neželjenih događaja i rekurentnih ishemijskih događaja. Zbog ograničene veličine ispitivanog uzorka bolesnika, nije bilo statističke razlike u pojavnosti sekundarnih ishoda između ispitivane i kontrolne skupine bolesnika (tromboza u stentu, kardiovaskularna smrt, krvarenje). Prema navedenome, rezultati disertacije podupiru teoriju da rutinska primjena PFT, kako bi se optimizirala antitrombocitna terapija, ima potencijal za poboljšanje liječenja bolesnika s ACS i da je HTPR fenotip podesiv čimbenik rizika za nove ishemijske događaje.

2. Intenzivnim prilagođavanjem doze klopidozrela prema PFT može se postići bolja kontrola RT i održavati isti unutar predloženog terapijskog prozora.

3. Prema rezultatima ovoga istraživanja može se pretpostaviti da povišene doze održavanja klopidozrela i do 300 mg na dan kod bolesnika s HTPR ne dovode do značajnog povećanja rizika za krvarenje te da takav pristup liječenju može biti učinkovit i siguran ukoliko se periodično kontrolira RT tijekom DAPT i održava unutar predloženog terapijskog prozora.

4. Genotip CYP2C19*2 značajno je utjecao na promjene RT u kontrolnoj skupini bolesnika, dok u ispitivanoj skupini nije bilo razlike u RT između nositelja i nenositelja alela CYP2C19*2. Prema navedenome, može se zaključiti da se podešavanjem doze klopidozrela u bolesnika s HTPR i alelom CYP2C19*2 može nadvladati nepovoljna genetska podloga povezana s oslabljenom biotransformacijom klopidozrela u aktivni lijek. Rizik za pojavu ishemijskih događaja u ukupnoj populaciji bio je oko tri puta veći

kod nositelja alela CYP2C19*2. Rezultati istraživanja ukazuju da određivanje genotipa CYP2C19 u bolesnika s ACS i oslabljenim odgovorom na klopidogrel može biti korisno u predviđanju rizika od ishemijskih događaja, ali ne i utjecaja na razlike u jakosti antitrombotičnog odgovora, to jest, opravdanosti podešavanja doze inhibitora P2Y₁₂ receptora isključivo na temelju farmakogenetske analize. Ovo proizlazi iz slabe negativne predikcije genetskog profila CYP2C19 za HTPR fenotip. Sustav procjene rizika koji bi uz genotipizaciju CYP2C19 uzimao u obzir i spol, DM2, hiperlipidemiju i raniji CVI mogao bi pomoći u izboru optimalnog inhibitora P2Y₁₂ receptora i identifikaciji bolesnika s ACS i HTPR kojima bi najviše koristila strategija prilagođavanja antitrombotičnog liječenja prema PFT.

5. Rezultati ovoga istraživanja zahtijevaju daljnju potvrdu u većim, slično konstruiranim randomiziranim studijama.

Poglavlje 8

SAŽETAK

Dvojna antitrombocitna terapija s acetilsalicilnom kiselinom (ASK) i inhibitorom P2Y₁₂ receptora predstavlja temelj u liječenju bolesnika s akutnim koronarnim sindromom (ACS) kroz idućih 12 mjeseci kako bi se prevenirali budući aterotrombotski događaji. Povišena ostatna reaktivnost trombocita (HTPR) uz klopidogrel, najčešće korišteni inhibitor P2Y₁₂ receptora, povezana je s višom stopom neželjenih ishemijskih događaja. Polimorfizam gena za enzim CYP2C19 koji ima značajnu ulogu u biotransformaciji klopidogrela, također utječe na stupanj inhibicije reaktivnosti trombocita (RT) uz terapiju klopidogrelom te tako i na klinički ishod bolesnika. U sklopu disertacije je provedeno prospektivno, kontrolirano i randomizirano istraživanje u kojem se uspoređivala učinkovitost i sigurnost serijskoga prilagođavanja doze klopidogrela prema agregometrijskim rezultatima uređaja Multiplate[®] s primjenom standardne doze klopidogrela u bolesnika s ACS liječenih s perkutanom koronarnom intervencijom (PCI) i verificiranim HTPR fenotipom. Analiziran je i utjecaj polimorfizma CYP2C19 na promjene RT i klinički ishod bolesnika. Rezultati su pokazali kako su bolesnici u ispitivanoj skupini imali značajno manju pojavnost novih sveukupnih neželjenih događaja, ali i manje ukupnih ishemijskih događaja bez porasta rizika krvarenja tijekom vremena praćenja. Pokazali smo kako je HTPR podesiv čimbenik rizika i da održavanje preporučenog terapijskog raspona RT prilagođavajući dozu klopidogrela tijekom svih 12 mjeseci primjene dvojne antitrombocitne terapije može biti klinički korisno. Utjecaj genotipa CYP2C19 na RT je prevladan prilagođavanjem doze klopidogrela. Kako su nositelji CYP2C19*2 alela imali više od tri puta veći rizik za ishemijski događaj u cijeloj populaciji ispitanika i kako genotip CYP2C19 ima slabu negativnu prediktivnu vrijednost za HTPR, smatramo da određivanje genotipa CYP2C19 može biti korisno u predviđanju ishemijskog rizika, ali da prilagođavanje antitrombocitne terapije i daljnja istraživanja treba ponajprije bazirati prema rezultatima testova reaktivnosti trombocita. Rutinska uporaba testova reaktivnosti trombocita u navođenju antitrombocitne terapije mogla bi poboljšati klinički ishod bolesnika s ACS, osobito onih koji se inicijalno prezentiraju s HTPR fenotipom.

Poglavlje 9

SUMMARY

Jure Samardžić, MD : Role of CYP2C19 polymorphism and determining platelet reactivity on clopidogrel in predicting clinical outcome and justification of individualized approach to antiplatelet treatment of patients with acute coronary syndrome; 2014

Dual antiplatelet therapy (DAPT) consisting of aspirin and a P2Y₁₂ inhibitor is the cornerstone of the treatment of acute coronary syndrome (ACS) during the following 12 months to prevent future atherothrombotic events. High on-treatment platelet reactivity (HTPR) on clopidogrel, most widely used P2Y₁₂ inhibitor, is associated with a higher rate of adverse ischemic outcomes. Genetic polymorphism of CYP2C19 enzyme, highly involved in clopidogrel metabolism, influences the degree of platelet inhibition on clopidogrel and, therefore, clinical outcome as well. We performed a prospective, controlled, randomized study comparing the 12-month efficacy and safety of serial clopidogrel dose adjustment based on platelet function testing (PFT) using Multiplate[®] aggregometer with standard clopidogrel treatment in ACS patients treated with percutaneous coronary intervention (PCI) and verified HTPR. The study also sought to evaluate the effect of CYP2C19 polymorphism on platelet reactivity changes and clinical outcome. The results show that the interventional group had significantly fewer new total and composite ischemic events without increasing the risk for bleeding during the follow-up. We showed that HTPR could potentially be a modifiable risk factor and that maintaining proposed therapeutic window range of platelet reactivity with adjusted clopidogrel dosing throughout the 12 months of DAPT might achieve a clinical benefit. The effect of CYP2C19 genotype on platelet reactivity was overcome by the adjustment of the clopidogrel dose. As CYP2C19*2 carriers had more than three times higher risk for ischemic events in the total study population and since CYP2C19 genotyping has low negative predictive value for HTPR, we can conclude that CYP2C19 genotyping might be used for predicting ischemic risk but not for P2Y₁₂ inhibitor dose adjustment. Antiplatelet therapy adjustment and further investigations should primarily be based on PFT and platelet reactivity phenotype. Routine use of PFT in guiding antiplatelet therapy might improve the treatment of patients with ACS, especially those initially presenting with HTPR phenotype.

Poglavlje 10

POPIS LITERATURE

1. World Health Organisation. *The top 10 causes of death*. [Online]. 2013. Dostupno na: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en>. [30.08.2013.].
2. White HD, Chew DP. Acute myocardial infarction. *Lancet* 2008;372:570-84.
3. Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, Bax J, Boersma E, Bueno H, et al. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 2011;32:2999-3054.
4. The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee. Myocardial infarction redefined - A consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction. *Eur Heart J* 2000;21:1502-13.
5. Yeh RW, Sidney S, Chandra M, Sorel M, Selby JV, Go AS. Population trends in the incidence and outcomes of acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2010; 362:2155-65.
6. Savonitto S, Ardissino D, Granger CB, Morando G, Prando MD, Mafrici A, et al. Prognostic value of the admission electrocardiogram in acute coronary syndromes. *JAMA* 1999;281:707-13.
7. Mandelzweig L, Battler A, Boyko V, Bueno H, Danchin N, Filippatos G, et al. The second Euro Heart Survey on acute coronary syndromes: characteristics, treatment, and outcome of patients with ACS in Europe and the Mediterranean Basin in 2004. *Eur Heart J* 2006;27:2285-93.
8. Campeau L. Grading of angina pectoris. *Circulation* 1976;54:522-3.
9. Fox KA, Eagle KA, Gore JM, Steg PG, Anderson FA. The Global Registry of Acute Coronary Events, 1999 to 2009-GRACE. *Heart* 2010;96:1095-101.

10. Goldberg RJ, Gore JM, Alpert JS, Dalen JE. Recent changes in attack and survival rates of acute myocardial infarction (1975 through 1981). The Worcester Heart Attack Study. *JAMA* 1986;255:2774-9.
11. Hochman JS, Tamis JE, Thompson TD, Weaver WD, White HD, Van de Werf F, et al. Sex, clinical presentation and outcome in patients with acute coronary syndromes. Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries in Acute Coronary Syndromes IIb Investigators. *N Engl J Med* 1999;341:226-32.
12. Hochman JS, McCabe CH, Stone PH, Becker RC, Cannon CP, DeFeo-Fraulini T, et al.; TIMI Investigators. Outcome and profile of women and men presenting with acute coronary syndromes: A report from TIMI IIIB. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:141-8.
13. Falk E. Unstable angina with fatal outcome: dynamic coronary thrombosis leading to infarction and/or sudden death. Autopsy evidence of recurrent mural thrombosis with peripheral embolization culminating in total vascular occlusion. *Circulation* 1985;71:699-708.
14. Davies MJ, Thomas AC, Knapman PA, Hangartner JR. Intramyocardial platelet aggregation in patients with unstable angina suffering sudden ischemic cardiac death. *Circulation* 1986;73:418-27.
15. Throux P, Fuster V. Acute Coronary Syndromes. Unstable angina and Non-Q-Wave myocardial infarction. *Circulation* 1998;97:1195-206.
16. Volmink JA, Newton JN, Hicks NR, Sleight P, Fowler GH, Neil HA. Coronary event and case fatality rates in an English population: results of the Oxford myocardial infarction incidence study. The Oxford Myocardial Infarction Incidence Study Group. *Heart* 1998;80:40-4.
17. Bahit MC, Granger CB, Wallentin L. Persistence of the prothrombotic state after acute coronary syndromes: implications for treatment. *Am Heart J* 2002;143:205-16.
18. Thygesen K, Alpert JS, White HD; Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2525-38.
19. Jennings RB, Ganote CE. Structural changes in myocardium during acute ischemia. *Circ Res* 1974;35(Suppl 3):156-72.
20. Jaffe AS. Chasing troponin: how low can you go if you can see the rise? *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1763-4.

21. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD. Joint Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction. *Eur Heart J* 2012;33:2551-67.
22. Nesto RW, Waxman S, Mittleman MA, Sassower MA, Fitzpatrick PJ, Lewis SM, et al. Angioscopy of culprit coronary lesions in unstable angina pectoris and correlation of clinical presentation with plaque morphology. *Am J Cardiol* 1998;81:225-8.
23. Cannon CP, Weintraub WS, Demopoulos LA, Vicari R, Frey MJ, Lakkis N, et al.; TACTICS (Treat Angina with Aggrastat and Determine Cost of Therapy with an Invasive or Conservative Strategy) - Thrombolysis in Myocardial Infarction 18 Investigators. Comparison of early invasive and conservative strategies in patients with unstable coronary syndromes treated with the glycoprotein IIb/IIIa inhibitor tirofiban. *N Engl J Med* 2001;344:1879-87.
24. Lopez-Sendon J, Coma-Canella I, Alcasena S, Seoane J, Gamallo C. Electrocardiographic findings in acute right ventricular infarction: sensitivity and specificity of electrocardiographic alterations in right precordial leads V4R, V3R, V1, V2, and V3. *J Am Coll Cardiol* 1985;6:1273-9.
25. Brieger D, Eagle KA, Goodman SG, Steg PG, Budaj A, White K, et al. Acute coronary syndromes without chest pain, an underdiagnosed and undertreated high-risk group: insights from the Global Registry of Acute Coronary Events. *Chest* 2004;126:461-9.
26. Alexander KP, Newby LK, Armstrong PW, Cannon CP, Gibler WB, Rich MW, et al. Acute coronary care in the elderly, part II: ST-segment-elevation myocardial infarction: a scientific statement for healthcare professionals from the American Heart Association Council on Clinical Cardiology: in collaboration with the Society of Geriatric Cardiology. *Circulation* 2007;115:2570-89.
27. Luepker RV, Raczynski JM, Osganian S, Goldberg RJ, Finnegan JR Jr., Hedges JR, et al. Effect of a community intervention on patient delay and emergency medical service use in acute coronary heart disease: The Rapid Early Action for Coronary Treatment (REACT) Trial. *JAMA* 2000;284:60-7.
28. Mandelzweig L, Battler A, Boyko V, Bueno H, Danchin N, Filippatos G, et al. The second Euro Heart Survey on acute coronary syndromes: characteristics, treatment, and outcome of patients with ACS in Europe and the Mediterranean Basin in 2004. *Eur Heart J* 2006;27:2285-93.

29. Killip T, Kimball JT. Treatment of myocardial infarction in a coronary care unit. A Two year experience with 250 patients. *Am J Cardiol* 1967;20:457-64.
30. World Health Organisation. *The European Health Report 2012*. [Online]. 2013. Dostupno na: http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0003/184161/The-European-Health-Report-2012,-FULL-REPORT-w-cover.pdf. [05.09.2013.].
31. Lerner DJ, Kannel WB. Patterns of coronary heart disease morbidity and mortality in the sexes: a 26-year follow-up of the Framingham population. *Am Heart J* 1986;111:383-90.
32. World Health Organisation. *European Detailed Mortality Base*. [Online]. 2013. Dostupno na: <http://data.euro.who.int/dmdb/>. [08.10.2013.].
33. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics-2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation* 2012;125:188-97.
34. Kannel WB, Dawber TR, Kagan A, Revotskie N, Stokes J. Factors of risk in the development of coronary heart disease--six year follow-up experience. The Framingham Study. *Ann Intern Med* 1961;55:33-50.
35. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. INTERHEART Study Investigators Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004;364:937-52.
36. Murabito JM, Pencina MJ, Nam BH, D'Agostino RB Sr, Wang TJ, Lloyd-Jones D, et al. Sibling cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults. *JAMA* 2005;294:3117-23.
37. Bachmann JM, Willis BL, Ayers CR, Khera A, Berry JD. Association between family history and coronary heart disease death across long-term follow-up in men: the Cooper Center Longitudinal Study. *Circulation* 2012;125:3092-8.
38. Andresdottir MB, Sigurdsson G, Sigvaldason H, Gudnason V; Reykjavik Cohort Study. Fifteen percent of myocardial infarctions and coronary revascularizations explained by family history unrelated to conventional risk factors. The Reykjavik Cohort Study. *Eur Heart J* 2002;23:1655-63.
39. Kappert K, Böhm M, Schmieder R, Schumacher H, Teo K, Yusuf S, et al.; ONTARGET/TRANSCEND Investigators. Impact of sex on cardiovascular outcome in patients at high cardiovascular risk: analysis of the Telmisartan Randomized Assessment Study in ACE-Intolerant Subjects With Cardiovascular Disease (TRANSCEND) and the Ongoing Telmisartan Alone

- and in Combination With Ramipril Global End Point Trial (ONTARGET).
Circulation 2012;126:934-41.
40. Davies J, Woolf N, Rowles PM, Pepper J. Morphology of the endothelium over atherosclerotic plaques in human coronary arteries. *Br Heart J* 1988;60:459-64.
 41. Barger AC, Beeuwkes R 3rd, Lainey LL, Silverman KJ. Hypothesis: vasa vasorum and neovascularization of human coronary arteries. A possible role in the pathophysiology of atherosclerosis. *N Engl J Med* 1984;310:175-7.
 42. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, Fowler DR, Kruth HS, Weber DK, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med* 2003;349:2316-25.
 43. Ardissino D, Merlini PA, Ariens R, Coppola R, Bramucci E, Mannucci PM, et al. Tissue-factor antigen and activity in human coronary atherosclerosis plaques. *Lancet* 1997;349:769-71.
 44. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001;104:365-72.
 45. Burke AP, Farb A, Malcom GT, Liang YH, Smialek J, Virmani R. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med* 1997;336:1276-82.
 46. Stone PH. Triggering myocardial infarction. *N Engl J Med* 2004;351:1716-8.
 47. Kloner RA, Leor J. Natural disaster plus wake-up time: A deadly combination of triggers. *Am Heart J* 1999;137:779-81.
 48. Farb A, Burke AP, Tang AL, Liang TY, Mannan P, Smialek J, et al. Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core. A frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death. *Circulation* 1996;93:1354-63.
 49. Mann J, Davies MJ. Mechanisms of progression in native coronary artery disease: role of healed plaque disruption. *Heart* 1999;82:265-8.
 50. Burke AP, Farb A, Malcom GT, Liang Y, Smialek JE, Virmani R. Plaque rupture and sudden death related to exertion in men with coronary artery disease. *JAMA* 1999;281:921-6.
 51. Andrews RK, Shen Y, Gardiner EE, Dong JF, Lopez JA, Berndt MC. The glycoprotein Ib-IX-V complex in platelet adhesion and signaling. *Thromb Haemost* 1999;82:357-64.
 52. Ware JA, Coller BS. Platelet morphology, biochemistry and function. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ (urednici). *Williams' Hematology*. New York: McGraw Hill; 1994. p.1161.

53. Stein B, Fuster V, Israel DH, Cohen M, Badimon L, Badimon JJ, et al. Platelet inhibitor agents in cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol* 1989;14:813-36.
54. Kaul S, Ito H. Microvasculature in acute myocardial ischemia: part II: evolving concepts in pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Circulation* 2004;109: 310-5.
55. Strike PC, Steptoe A. Systematic review of mental stress-induced myocardial ischaemia. *Eur Heart J* 2003;24:690-703.
56. Walsh PN, Ahmad SS. Proteases in blood clotting. *Essays Biochem* 2002;38: 95-111.
57. Lusis AJ, Mar R, Pajukanta P. Genetics of atherosclerosis. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2004;5:189-218.
58. Fabre JE, Gurney ME. Limitations of current therapies to prevent thrombosis: a need for novel strategies. *Mol Biosyst* 2010;6:305-15.
59. Fox KA, Dabbous OH, Goldberg RJ, Pieper KS, Eagle KA, Van de Werf F, et al. Prediction of risk of death and myocardial infarction in the six months after presentation with acute coronary syndrome: prospective multinational observational study (GRACE). *BMJ* 2006;333:1091-4.
60. Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology (ESC); Steg PG, James SK, Atar D, Badano LP, Blömstrom-Lundqvist C, Borger MA, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2012;33:2569-619.
61. López-Sendón J, Swedberg K, McMurray J, Tamargo J, Maggioni AP, Dargie H, et al.; Task Force On Beta-Blockers of the European Society of Cardiology. Expert consensus document on beta-adrenergic receptor blockers. *Eur Heart J* 2004;25:1341-62.
62. Yusuf S, Held P, Furberg C. Update of effects of calcium antagonists in myocardial infarction or angina in light of the second Danish Verapamil Infarction Trial (DAVIT-II) and other recent studies. *Am J Cardiol* 1991;67:1295-7.
63. Eikelboom JW, Anand SS, Malmberg K, Weitz JI, Ginsberg JS, Yusuf S. Unfractionated heparin and low-molecular-weight heparin in acute coronary syndrome without ST elevation: a meta-analysis. *Lancet* 2000;355:1936-42.

64. Swahn E, Wallentin L. Low-molecular-weight heparin (Fragmin) during instability in coronary artery disease (FRISC). FRISC Study Group. *Am J Cardiol* 1997;80:25E-29E.
65. Stone GW, White HD, Ohman EM, Bertrand ME, Lincoff AM, McLaurin BT, et al.; Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage strategy (ACUITY) trial investigators. Bivalirudin in patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention: a subgroup analysis from the Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage strategy (ACUITY) trial. *Lancet* 2007;369:907-19.
66. Fifth Organization to Assess Strategies in Acute Ischemic Syndromes Investigators, Yusuf S, Mehta SR, Chrolavicius S, Afzal R, Pogue J, Granger CB, et al. Comparison of fondaparinux and enoxaparin in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2006;354:1464-76.
67. Alexander JH, Lopes RD, James S, Kilaru R, He Y, Mohan P, et al.; APPRAISE-2 Investigators. Apixaban with antiplatelet therapy after acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2011;365:699-708.
68. Mega JL, Braunwald E, Wiviott SD, Bassand JP, Bhatt DL, Bode C, et al.; ATLASACS 2–TIMI 51 Investigators. Rivaroxaban in patients with a recent acute coronary syndrome. *N Engl J Med* 2012;366:9-19.
69. Rabah M, Mason D, Muller DW, Hundley R, Kugelmass AD, Weiner B, et al. Heparin after percutaneous intervention (HAPI): a prospective multicenter randomized trial of three heparin regimens after successful coronary intervention. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:461-7.
70. Friedman HZ, Cragg DR, Glazier SM, Gangadharan V, Marsalese DL, Schreiber TL, et al. Randomized prospective evaluation of prolonged versus abbreviated intravenous heparin therapy after coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1214-9.
71. Meadows TA, Bhatt DL. Clinical aspects of platelet inhibitors and thrombus formation. *Circ Res* 2007;100:1261-75.
72. Bryniarski L, Pelc-Nowicka A, Zabojszcz M, Mirek-Bryniarska E. Dual antiplatelet therapy and antithrombotic treatment: Recommendations and controversies. *Cardiol J* 2009;16:179-89.
73. Lewis BS, Mehta SR, Fox KA, Halon DA, Zhao F, Peters RJ, et al.; CURE trial investigators. Benefit of clopidogrel according to timing of percutaneous coronary intervention in patients with acute coronary syndromes: further results

- from the Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events (CURE) study. *Am Heart J* 2005;150:1177-84.
74. Steinhubl SR, Berger PB, Mann JT 3rd, Fry ET, DeLago A, Wilmer C, et al.; CREDO Investigators. Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288:2411-20.
 75. Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK, et al.; Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events trial (CURE) Investigators. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *Lancet* 2001;358:527-33.
 76. Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy--I: Prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. Antiplatelet Trialists' Collaboration. *BMJ* 1994;308:81-106.
 77. Serebruany VL, Malinin AI, Callahan KP, Binbrek A, Van De Werf F, Alexander JH, et al. Effect of tenecteplase versus alteplase on platelets during the first 3 hours of treatment for acute myocardial infarction: The Assessment of the Safety and Efficacy of a New Thrombolytic Agent (ASSENT-2) platelet substudy. *Am Heart J* 2003;145:636-42.
 78. O'Gara PT, Kushner FG, Ascheim DD, Casey DE Jr, Chung MK, de Lemos JA, et al.; American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of ST-elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2013;127:e362-425.
 79. Antithrombotic Trialists Collaboration. 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.
 80. Vainio H, Morgan G. Aspirin for the second hundred years: new uses for an old drug. *Pharmacol Toxicol* 1997;81:151-2.
 81. Weiss HJ, Aledort LM. Impaired platelet-connective-tissue reaction in man after aspirin ingestion. *Lancet* 1967;2:495-7.
 82. Patrono C. Aspirin as an antiplatelet drug. *N Engl J Med* 1994;330:1287-94.

83. Awtry EH, Loscalzo J. Aspirin. *Circulation* 2000;101:1206-18.
84. Roth GJ, Calverley DC. Aspirin, platelets, and thrombosis: theory and practice. *Blood* 1994;83:885-98.
85. The RISC Group. Risk of myocardial infarction and death during treatment with low dose aspirin and intravenous heparin in men with unstable coronary artery disease. *Lancet* 1990;336:827-30.
86. Theroux P, Ouimet H, McCans J, Latour JG, Joly P, Levy G, et al. Aspirin, heparin, or both to treat acute unstable angina. *N Engl J Med* 1988;319:1105-11.
87. Cairns JA, Gent M, Singer J, Finnie KJ, Froggatt GM, Holder DA, et al. Aspirin, sulfinpyrazone, or both in unstable angina. *N Engl J Med* 1985;313:1369-75.
88. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. *Lancet* 1988;2:349-60.
89. Juul-Moller S, Edvardsson N, Jahnmatz B, Rose´n A, Sørensen S, Omblus R. Double-blind trial of aspirin in primary prevention of myocardial infarction in patients with stable chronic angina pectoris. The Swedish Angina Pectoris Aspirin Trial (SAPAT) Group. *Lancet* 1992;340:1421-5.
90. The SALT Collaborative Group. Swedish Aspirin Low-Dose Trial (SALT) of 75 mg aspirin as secondary prophylaxis after cerebrovascular ischaemic events. *Lancet* 1991;338:1345-9.
91. Lembo NJ, Black AJ, Roubin GS, Wilentz JR, Mufson LH, Douglas JS Jr, et al. Effect of pretreatment with aspirin versus aspirin plusdipyridamole on frequency and type of acute complications of percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 1990;65:422-6.
92. Lindblad B, Persson NH, Takolander R, Bergqvist D. Does low-dose acetylsalicylic acid prevent stroke after carotid surgery? A double-blind, placebo-controlled randomized trial. *Stroke* 1993;24:1125-8.
93. International Stroke Trial Collaborative Group. The International Stroke Trial (IST): a randomised trial of aspirin, subcutaneous heparin, both, or neither among 19,435 patients with acute ischemic stroke. *Lancet* 1997;349:1569-81.
94. CAST (Chinese Acute Stroke Trial) Collaborative Group. CAST: randomized placebo controlled trial of early aspirin use in 20,000 patients with acute ischemic stroke. *Lancet* 1997;349:1641-9.

95. Lorenz RL, Schacky CV, Weber M, Kotzur J, Meister W, Kotzur J, et al. Improved aortocoronary bypass patency by low-dose aspirin (100 mg daily). Effects on platelet aggregation and thromboxane formation. *Lancet* 1984;1: 1261-4.
96. Goldman S, Copeland J, Moritz T, Henderson W, Zadina K, Ovitt T, et al. Improvement in early saphenous vein graft patency after coronary artery bypass surgery with antiplatelet therapy: results of a Veterans Administration cooperative study. *Circulation* 1988;77:1324-32.
97. Brown BG, Cukingnan RA, DeRouen T, Goede LV, Wong M, Fee HJ, et al. Improved graft patency in patients treated with platelet-inhibiting therapy after coronary bypass surgery. *Circulation* 1985;72:138-46.
98. 2012 Writing Committee Members, Jneid H, Anderson JL, Wright RS, Adams CD, Bridges CR, Casey DE Jr i sur.; American College of Cardiology Foundation; American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2012 ACCF/AHA focused update of the guideline for the management of patients with unstable angina/Non-ST-elevation myocardial infarction (updating the 2007 guideline and replacing the 2011 focused update): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. *Circulation* 2012;126:875-910.
99. Hirsh J, Dalen JE, Fuster V, Harker LB, Salzman EW. Aspirin and other platelet-active drugs: the relationship between dose, effectiveness and other side effects. *Chest* 1992;102(suppl 4):327S–36S.
100. Patrono C, Collier B, Dalen JE, FitzGerald GA, Fuster V, Gent M, et al. Platelet-active drugs: the relationships among dose, effectiveness, and side effects. *Chest* 2001;119:39S-63S.
101. Grootveld M, Halliwell B. 2,3-Dihydroxybenzoic acid is a product of human aspirin metabolism. *Biochem Pharmacol* 1988;37:271-80.
102. Angiolillo DJ, Capodanno D, Goto S. Platelet thrombin receptor antagonism and atherothrombosis. *Eur Heart J* 2010;31:17-28.
103. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Horvath I, Keltai M, Herrman JP, et al. TRITON-TIMI 38 Investigators. Intensive oral antiplatelet therapy for reduction of ischaemic events including stent thrombosis in patients with acute coronary syndromes treated with percutaneous coronary intervention and stenting in the TRITON TIMI 38 trial: a subanalysis of a randomised trial. *Lancet* 2008;19:1353-63.

104. Ellis KJ, Stouffer GA, McLeod HL, Lee CR. Clopidogrel pharmacogenomics and risk of inadequate platelet inhibition: US FDA recommendations. *Pharmacogenomics* 2009;10:1799-817.
105. Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, Quteineh L, Drouet E, Méneveau N, et al. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2009;360:363-75.
106. The Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events Trial Investigators. 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.
107. Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, López-Sendón JL, Montalescot G, Theroux P, et al.; CLARITY-TIMI 28 Investigators. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2005;352:1179-89.
108. Chen ZM, Jiang LX, Chen YP, Xie JX, Pan HC, Peto R, et al.; COMMIT (CLOpidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial) collaborative group. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2005;366:1607-21.
109. Jackevicius CA, Tu JV, Demers V, Melo M, Cox J, Rinfret S, et al. Cardiovascular outcomes after a change in prescription policy for clopidogrel. *N Engl J Med* 2008;359:1802-10.
110. Helft G, Osende JI, Worthley SG, Zaman AG, Rodriguez OJ, Lev EI, et al. Acute antithrombotic effect of a front-loaded regimen of clopidogrel in patients with atherosclerosis on aspirin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2316-21.
111. Muller I, Seyfarth M, Rudiger S, Wolf B, Pogatsa-Murray G, Schomig A, et al. Effect of a high loading dose of clopidogrel on platelet function in patients undergoing coronary stent placement. *Heart* 2001;85:92-3.
112. Mehta SR, Tanguay JF, Eikelboom JW, Jolly SS, Joyner CD, Granger CB, et al.; CURRENT-OASIS 7 trial investigators. Double-dose versus standard-dose clopidogrel and high-dose versus low-dose aspirin in individuals undergoing percutaneous coronary intervention for acute coronary syndromes (CURRENT-OASIS 7): a randomised factorial trial. *Lancet* 2010;376:1233-43.
113. Steinhubl SR, Tan WA, Foody JM, Topol EJ for the EPISTENT Investigators. Incidence and clinical course of thrombotic thrombocytopenic purpura due to ticlopidine following coronary stenting. *JAMA* 1999;281:806-10.

114. Elias M, Reichman N, Flatau E. Bone marrow aplasia associated with ticlopidine therapy. *Am J Hematol* 1993;44:289-90.
115. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, et al. Cytochrome P450 genetic polymorphisms and the response to prasugrel relationship to pharmacokinetic, pharmacodynamic, and clinical outcomes. *Circulation* 2009;119:2553-60.
116. Jernberg T, Payne CD, Winters KJ, Darstein C, Brandt JT, Jakubowski JA, et al. Prasugrel achieves greater inhibition of platelet aggregation and lower rate of non-responders compared with clopidogrel in aspirin-treated patients with stable coronary artery disease. *Eur Heart J* 2006;27:1166-73.
117. Farid NA, Smith RL, Gillespie TA, Rash TJ, Blair PE, Kurihara A, et al. The disposition of prasugrel, a novel thienopyridine, in humans. *Drug Metab Dispos* 2007;35:1096-104.
118. Wiviott SD, Trenk D, Frelinger AL, O'Donoghue M, Neumann FJ, Michelson AD, et al. Prasugrel compared with high loading- and maintenance-dose clopidogrel in patients with planned percutaneous coronary intervention: the Prasugrel in Comparison to Clopidogrel for Inhibition of Platelet Activation and Aggregation-Thrombolysis in Myocardial Infarction 44 trial. *Circulation* 2007;116:2923-32.
119. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S, et al.; TRITON-TIMI 38 Investigators. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Eng J Med* 2007;357:2001-15.
120. Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelsson H, Held C, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2009;361:1045-57.
121. Bhatt DL, Lincoff AM, Gibson CM, Stone GW, McNulty S, Montalescot G, et al. Intravenous platelet blockade with cangrelor during PCI. *N Engl J Med* 2009; 361:2330-41.
122. Harrington RA, Stone GW, McNulty S, White HD, Lincoff AM, Gibson CM, et al. Platelet inhibition with cangrelor in patients undergoing PCI. *N Engl J Med* 2009;361:2318-29.
123. Tricoci P, Huang Z, Held C, Moliterno DJ, Armstrong PW, Van de Werf F, et al. Thrombin-receptor antagonist vorapaxar in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2012;366:20-33.

124. Morrow DA, Braunwald E, Bonaca MP, Ameriso SF, Dalby AJ, Fish MP, et al. Vorapaxar in the secondary prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med* 2012;366:1404-13.
125. Boersma E, Harrington RA, Moliterno DJ, White H, Theroux P, Van de Werf F, et al. Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in acute coronary syndromes. A metaanalysis of all major randomized clinical trials. *Lancet* 2002;359:189-98.
126. De Luca G, Suryapranata H, Stone GW, Antoniucci D, Tcheng JE, Neumann FJ, et al. Abciximab as adjunctive therapy to reperfusion in acute ST-segment elevation myocardial infarction: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA* 2005;293:1759-65.
127. IMS Health Midas. *Top 20 global products, 2012*. [Online]. 2013. Dostupno na: http://www.imshealth.com/deployedfiles/ims/Global/Content/Corporate/Press%20Room/Top-Line%20Market%20Data%20&%20Trends/Top_20_Global_Products_2012_2.pdf. [13.10.2013.].
128. Wood S. *US Department of Justice Investigating PLATO Ticagrelor Trial*. [Online]. 2013. Dostupno na: http://www.medscape.com/viewarticle/813566?nlid=37523_1985&src=wnl_edit_medn_card&uac=137374FR&spon=2. [31.10.2013.].
129. Steg PG, Bhatt DL, Wilson PW, D'Agostino R Sr, Ohman EM, Röther J, et al.; REACH Registry Investigators. One-year cardiovascular event rates in outpatients with atherothrombosis. *JAMA* 2007;297:1197-206.
130. 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;107:2908-13.
131. Wiviott SD, Antman EM. Clopidogrel resistance: A new chapter in a fast moving story. *Circulation* 2004;109:3064-7.
132. Nguyen TA, Diodati JG, Pharand C. Resistance to Clopidogrel: A review of the evidence. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1157-64.
133. Wiviott S. Clopidogrel response variability, resistance or both? *Am J Cardiol* 2006;98:18N-24N.
134. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Alfonso F, Macaya C, Bass TA, et al. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1505-16.
135. Angiolillo DJ, Bernardo E, Sabaté M, Jimenez-Quevedo P, Costa MA, Palazuelos J, et al. Impact of platelet reactivity on cardiovascular outcomes in

- patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1541-7.
136. Angiolillo DJ, Fernández-Ortiz A, Bernardo E, Ramírez C, Sabaté M, Bañuelos C, et al. High clopidogrel loading dose during coronary stenting: effects on drug response and interindividual variability. *Eur Heart J* 2004;25:1903-10.
 137. Gurbel PA, Tantry US. Drug insight: Clopidogrel nonresponsiveness. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2006;3:387-95.
 138. Kabbani S, Watkins M, Ashiga T, Terrien EF, Holoch PA, Sobel BE, et al. Platelet reactivity characterized prospectively. A determinant of outcome 90 days after percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2001;104:181-6.
 139. 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;45:246-51.
 140. Jaremo P, Lindahl TL, Fransson SG, Richter A. Individual variations of platelet inhibition after loading doses of clopidogrel. *J Intern Med* 2002;252:233-8.
 141. Kuchulakanti PK, Chu WW, Torguson R, Ohlmann P, Rha SW, Clavijo LC, et al. Correlates and long-term outcomes of angiographically proven stent thrombosis with sirolimus- and paclitaxel-eluting stents. *Circulation* 2006;113:1108-13.
 142. 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;111:2099-106.
 143. von Beckerath N, Taubert D, Pogatsa-Murray G, Schömig E, Kastrati A, Schömig 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;112:2946-50.
 144. Montalescot G, Sideris G, Meuleman C, Bal-dit-Sollier C, Lellouche N, Steg PG, et al.; ALBION Trial Investigators. 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;48:931-8.

145. Kastrati A, von Beckerath N, Joost A, Pogatsa-Murray G, Gorchakova O, Schömig A. Loading with 600 mg clopidogrel in patients with coronary artery disease with and without chronic clopidogrel therapy. *Circulation* 2004;110:1916-9.
146. Angiolillo DJ, Shoemaker SB, Desai B, Yuan H, Charlton RK, Bernardo E, et al. 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;115:708-16.
147. Gaswaz M, Seyfarth M, Muller I, Rüdiger S, Pogatsa-Murray G, Wolf B, et al. Comparison of effects of clopidogrel versus ticlopidine on platelet function in patients undergoing coronary stent placement. *Am J Cardiol* 2001;87:332-6.
148. Lev EI, Patel RT, Maresh KJ, Guthikonda S, Granada J, DeLao T, et al. 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.
149. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramírez C, Sabaté M, Jimenez-Quevedo P, et al. Platelet function profiles in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease on combined aspirin and clopidogrel treatment. *Diabetes* 2005;54:2430-5.
150. Cuisset T, Frere C, Quilici J, Morange PE, Camoin L, Bali L, et al. Relationship between aspirin and clopidogrel responses in acute coronary syndrome and clinical predictors of non response. *Thromb Res* 2009;123:597-603.
151. Gilard M, Arnaud B, Cornily JC, Le Gal G, Lacut K, Le Calvez G, et al. Influence of omeprazole on the antiplatelet action of clopidogrel associated with aspirin: the randomized, double-blind OCLA (Omeprazole CLopidogrel Aspirin) study. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:256-60.
152. Cuisset T, Frere C, Quilici J, Poyet R, Gaborit B, Bali L, et al. Comparison of omeprazole and pantoprazole influence on a high 150-mg clopidogrel maintenance dose the PACA (Proton Pump Inhibitors And Clopidogrel Association) prospective randomized study. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:1149-53.
153. Sibbing D, Morath T, Stegherr J, Braun S, Vogt W, Hadamitzky M, et al. Impact of proton pump inhibitors on the antiplatelet effects of clopidogrel. *Thromb Haemost* 2009;101:714-9.

154. Neubauer H, Günesdogan B, Hanefeld C, Spiecker M, Mügge A. Lipophilic statins interfere with the inhibitory effects of clopidogrel on platelet function-a flow cytometry study. *Eur Heart J* 2003;24:1744-9.
155. Siller-Matula JM, Lang I, Christ G, Jilma B. Calcium-channel blockers reduce the antiplatelet effect of clopidogrel. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:1557-63.
156. Gremmel T, Steiner S, Seidinger D, Koppensteiner R, Panzer S, Kopp CW. Calcium-channel blockers decrease clopidogrel-mediated platelet inhibition. *Heart* 2010;96:186-9.
157. Lau WC, Gurbel PA, Watkins PB, Neer CJ, Hopp AS, Carville DG, et al. Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of clopidogrel resistance. *Circulation* 2004;109:166-71.
158. Lev EI, Arikan ME, Vaduganathan M, Alviar CL, Tellez A, Mathuria N, et al. Effect of caffeine on platelet inhibition by clopidogrel in healthy subjects and patients with coronary artery disease. *Am Heart J* 2007;154:694e1-7.
159. Bliden KP, Dichiara J, Lawal L, Singla A, Antonino MJ, Baker BA, et al. The association of cigarette smoking with enhanced platelet inhibition by clopidogrel. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:531-3.
160. Gajos G, Rostoff P, Undas A, Piwowarska W. Effects of polyunsaturated omega-3 fatty acids on responsiveness to dual antiplatelet therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the OMEGA-PCI (OMEGA-3 fatty acids after pci to modify responsiveness to dual antiplatelet therapy) study. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:1671-8.
161. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Walker JR, Simon T, et al. Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON-TIMI 38 trial: a pharmacogenetic analysis. *Lancet* 2010;376:1312-9.
162. Taubert D, von Beckerath N, Grimberg G, Lazar A, Jung N, Goeser T, et al. Impact of P-glycoprotein on clopidogrel absorption. *Clin Pharmacol Ther* 2006;80:486-501.
163. Su J, Xu J, Li X, Zhang H, Hu J, Fang R, et al. ABCB1 C3435T polymorphism and response to clopidogrel treatment in coronary artery disease (CAD) patients: a meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7:e46366.
164. Luo M, Li J, Xu X, Sun X, Sheng W. ABCB1 C3435T polymorphism and risk of adverse clinical events in clopidogrel treated patients: a meta-analysis. *Thromb Res* 2012;129:754-9.

165. Singh M, Shah T, Adigopula S, Molnar J, Ahmed A, Khosla S, et al. CYP2C19*2/ABCB1-C3435T polymorphism and risk of cardiovascular events in coronary artery disease patients on clopidogrel: is clinical testing helpful? *Indian Heart J* 2012;64:341-52.
166. Bouman HJ, Schömig E, van Werkum JW, Velder J, Hackeng CM, Hirschhäuser C, et al. Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy. *Nat Med* 2011;17:110-6.
167. Fontana P, Dupont A, Gandrille S, Bachelot-Loza C, Reny JL, Aiach M, et al. Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation is associated with P2Y12 gene sequence variations in healthy subjects. *Circulation* 2003;108:989-95.
168. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramírez C, Cavallari U, Trabetti E, et al. Lack of association between the P2Y12 receptor gene polymorphism and platelet response to clopidogrel in patients with coronary artery disease. *Thromb Res* 2005;116:491-7.
169. von Beckerath N, von Beckerath O, Koch W, Eichinger M, Schömig A, Kastrati A. P2Y12 gene H2 haplotype is not associated with increased adenosine diphosphate-induced platelet aggregation after initiation of clopidogrel therapy with a high loading dose. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2005;16:199-204.
170. Smith SM, Judge HM, Peters G, Armstrong M, Fontana P, Gaussem P, et al. Common sequence variations in the P2Y12 and CYP3A5 genes do not explain the variability in the inhibitory effects of clopidogrel therapy. *Platelets* 2006;17:250-8.
171. Cuisset T, Frere C, Quilici J, Morange PE, Saut N, Lambert M, et al. Role of the T744C polymorphism of the P2Y12 gene on platelet response to a 600-mg loading dose of clopidogrel in 597 patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Thromb Res* 2007;120:893-9.
172. Reny JL, Combescure C, Daali Y, Fontana P; PON1 Meta-Analysis Group. Influence of the paraoxonase-1 Q192R genetic variant on clopidogrel responsiveness and recurrent cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost* 2012;10:1242-51.
173. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Alfonso F, Sabaté M, Fernández C, et al. PIA polymorphism and platelet reactivity following clopidogrel loading dose in patients undergoing coronary stent implantation. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2004;15:89-93.

174. Wallentin L, Varenhorst C, James S, Erlinge D, Braun OO, Jakubowski JA, et al. Prasugrel achieves greater and faster P2Y₁₂ receptor-mediated platelet inhibition than clopidogrel due to more efficient generation of its active metabolite in aspirin-treated patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 2008;29:21-30.
175. Kazui M, Nishiya Y, Ishizuka T, Hagihara K, Farid NA, Okazaki O, et al. Identification of the human cytochrome P450 enzymes involved in the two oxidative steps in the bioactivation of clopidogrel to its pharmacologically active metabolite. *Drug Metab Dispos* 2010;38:92-9.
176. The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database. *CYP2C19 allele nomenclature*. [Online]. 2013. Dostupno na: <http://www.cypalleles.ki.se/cyp2c19.htm>. [17.11.2013.].
177. Desta Z, Zhao X, Shin JG, Flockhart DA. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet* 2002;41:913-58.
178. Xie HG, Kim RB, Wood AJ, Stein CM. Molecular basis of ethnic differences in drug disposition and response. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:815-50.
179. Hulot JS, Bura A, Villard E, Azizi M, Remones V, Goyenvallé C, et al. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects. *Blood* 2006;108:2244-7.
180. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 2009;360:354-62.
181. Giusti B, Gori AM, Marcucci R, Saracini C, Sestini I, Paniccia R, et al. Relation of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism to occurrence of drug-eluting coronary stent thrombosis. *Am J Cardiol* 2009;103:806-11.
182. Sibbing D, Stegherr J, Latz W, Koch W, Mehilli J, Dörrler K, et al. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J* 2009;30:916-22.
183. Collet JP, Hulot JS, Pena A, Villard E, Esteve JB, Silvain J, et al. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study. *Lancet* 2009;373:309-17.
184. Shuldiner AR, O'Connell JR, Bliden KP, Gandhi A, Ryan K, Horenstein RB, et al. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy. *JAMA* 2009;302:849-57.

185. U.S. Department of Health and Human Services. *FDA Drug Safety Communication: Reduced effectiveness of Plavix (clopidogrel) in patients who are poor metabolizers of the drug*. [Online]. 2010. Dostupno na: <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/ucm203888>. [17.11.2013.].
186. Sim SC, Risinger C, Dahl ML, Aklillu E, Christensen M, Bertilsson L, et al. A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. *Clin Pharmacol Ther* 2006;79:103-13.
187. Campo G, Miccoli M, Tebaldi M, Marchesini J, Fileti L, Monti M, et al. Genetic determinants of on-clopidogrel high platelet reactivity. *Platelets* 2011;22:399-407.
188. Geiger J, Brich J, Honig-Liedl P, Eigenthaler M, Schanzenbacher P, Herbert JM, et al. Specific impairment of human platelet P2Y₁₂ ADP receptor-mediated signaling by the antiplatelet drug clopidogrel. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2007-11.
189. Siller-Matula J, Schror K, Wojta J, Huber K. Thienopyridines in cardiovascular disease: focus on clopidogrel resistance. *Thromb Haemost* 2007;97:385-93.
190. Blindt R, Stellbrink K, de Taeye A, Muller R, Kiefer P, Yagmur E, et al. The significance of vasodilator-stimulated phosphoprotein for risk stratification of stent thrombosis. *Thromb Haemost* 2007;98:1329-34.
191. Siller-Matula JM, Christ G, Lang IM, Delle-Karth G, Huber K, Jilma B. Multiple electrode aggregometry predicts stent thrombosis better than the vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation assay. *J Thromb Haemost* 2010;8:351-9.
192. Aradi D, Storey RF, Komócsi A, Trenk D, Gulba D, Kiss RG, et al.; on behalf of the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology. Expert position paper on the role of platelet function testing in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J* 2014;34:209-15.
193. Gurbel PA, Tantry US. Clopidogrel resistance? *Thromb Res* 2007;120:311-21.
194. Michelson AD. Platelet function testing in cardiovascular diseases. *Circulation* 2004;110:489-93.
195. Gremmel T, Steiner S, Seidinger D, Koppensteiner R, Panzer S, Kopp CW. A high maintenance dose increases the inhibitory response to clopidogrel in

- patients with high on-treatment residual platelet reactivity. *Int J Cardiol* 2012;160:109-13.
196. Bonello L, Camoin-Jau L, Arques S, Boyer C, Panagides D, Wittenberg O, et al. Adjusted clopidogrel loading doses according to vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation index decrease rate of major adverse cardiovascular events in patients with clopidogrel resistance: a multicenter randomized prospective study. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1404-11.
 197. Price MJ, Berger PB, Teirstein PS, Tanguay JF, Angiolillo DJ, Spriggs D, et al.; GRAVITAS Investigators. Standard- vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: the GRAVITAS randomized trial. *JAMA* 2011;305:1097-105.
 198. Bonello L, Camoin-Jau L, Armero S, Com O, Arques S, Burignat-Bonello C, et al. Tailored clopidogrel loading dose according to platelet reactivity monitoring to prevent acute and subacute stent thrombosis. *Am J Cardiol* 2009;103:5-10.
 199. Wang XD, Zhang DF, Zhuang SW, Lai Y. Modifying clopidogrel maintenance doses according to vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation index improves clinical outcome in patients with clopidogrel resistance. *Clin Cardiol* 2011;34:332-8.
 200. Aradi D, Rideg O, Vorobcsuk A, Magyarlaci T, Magyari B, Kónyi A, et al. Justification of 150 mg clopidogrel in patients with high on-clopidogrel platelet reactivity. *Eur J Clin Invest* 2012;42:384-92.
 201. Ari H, Ozkan H, Karacinar A, Ari S, Koca V, Bozat T. The EFFect of high-dose Clopidogrel treatment in patients with clopidogrel resistance (the EFFICIENT trial). *Int J Cardiol* 2012;157:374-80.
 202. Hazarbasanov D, Velchev V, Finkov B, Postadjian A, Kostov E, Rifai N, et al. Tailoring clopidogrel dose according to multiple electrode aggregometry decreases the rate of ischemic complications after percutaneous coronary intervention. *J Thromb Thrombolysis* 2012;34:85-90.
 203. Collet JP, Cuisset T, Rangé G, Cayla G, Elhadad S, Pouillot C, et al.; for the ARCTIC Investigators. Bedside monitoring to adjust antiplatelet therapy for coronary stenting. *N Engl J Med* 2012;367:2100-9.
 204. Siller-Matula JM, Francesconi M, Dechant C, Jilma B, Maurer G, Delle-Karth G, et al. Personalized antiplatelet treatment after percutaneous coronary intervention: the MADONNA study. *Int J Cardiol* 2013;167:2018-23.

205. Mrdovic I, Savic L, Krljanac G, Asanin M, Perunicic J, Antonijevic N, et al. Impact of high post-loading platelet aggregation on 30-day clinical outcomes after primary percutaneous coronary intervention. The antiplatelet regimen tailoring after primary PCI (ART-PCI) trial. *Int J Cardiol* 2013;167:1632-7.
206. Gurbel PA, Erlinge D, Ohman EM, Neely B, Neely M, Goodman SG, et al.; for the TRILOGY ACS Platelet Function Substudy Investigators. Platelet Function During Extended Prasugrel and Clopidogrel Therapy for Patients With ACS Treated Without Revascularization: The TRILOGY ACS Platelet Function Substudy. *JAMA* 2012;308:1785-94.
207. Trenk D, Stone GW, Gawaz M, Kastrati A, Angiolillo DJ, Müller U, et al. A randomized trial of prasugrel versus clopidogrel in patients with high platelet reactivity on clopidogrel after elective percutaneous coronary intervention with implantation of drug-eluting stents: results of the TRIGGER-PCI (Testing Platelet Reactivity In Patients Undergoing Elective Stent Placement on Clopidogrel to Guide Alternative Therapy With Prasugrel) study. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:2159-64.
208. Aradi D, Pinter T, Magyari B, Konyi A, Vorobcsuk A, Horvath I, et al. Optimizing P2Y12-receptor inhibition in acute coronary syndrome after PCI using platelet function testing: impact of prasugrel versus high-dose clopidogrel. *J Am Coll Cardiol* 2013;61:(Suppl. A):A477.
209. Valgimigli M, Campo G, de Cesare N, Meliga E, Vranckx P, Furgieri A, et al.; Tailoring Treatment With Tirofiban in Patients Showing Resistance to Aspirin and/or Resistance to Clopidogrel (3T/2R) Investigators. Intensifying platelet inhibition with tirofiban in poor responders to aspirin, clopidogrel, or both agents undergoing elective coronary intervention: results from the double-blind, prospective, randomized Tailoring Treatment with Tirofiban in Patients Showing Resistance to Aspirin and/or Resistance to Clopidogrel study. *Circulation* 2009;119:3215-22.
210. Cuisset T, Frere C, Quilici J, Morange PE, Mouret JP, Bali L, et al. Glycoprotein IIb/IIIa inhibitors improve outcome after coronary stenting in clopidogrel nonresponders: a prospective, randomized study. *JACC Cardiovasc Interv* 2008;1:649-53.
211. Parodi G, Marcucci R, Valenti R, Gori AM, Migliorini A, Giusti B, et al. High residual platelet reactivity after clopidogrel loading and long-term cardiovascular

- events among patients with acute coronary syndromes undergoing PCI. *JAMA* 2011;306:1215-23.
212. Stiles S. *Free Platelet-Function Tests Boost Utilization, Don't Alter Treatment or Outcomes*. Medscape Cardiology. [Online]. 2013. Dostupno na: <http://www.medscape.com/viewarticle/813761>. [20.11.2013.].
213. Bonello L, Armero S, Ait Mokhtar O, Mancini J, Aldebert P, Saut N, et al. Clopidogrel loading dose adjustment according to platelet reactivity monitoring in patients carrying the 2C19*2 loss of function polymorphism. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:1630-6.
214. Mega JL, Hochholzer W, Frelinger AL 3rd, Kluk MJ, Angiolillo DJ, Kereiakes DJ, et al. Dosing clopidogrel based on CYP2C19 genotype and the effect on platelet reactivity in patients with stable cardiovascular disease. *JAMA* 2011;306:2221-8.
215. Price MJ, Murray SS, Angiolillo DJ, Lillie E, Smith EN, Tisch RL, et al.; GIFT Investigators. Influence of genetic polymorphisms on the effect of high- and standard-dose clopidogrel after percutaneous coronary intervention: the GIFT (Genotype Information and Functional Testing) study. *J Am Coll Cardiol* 2012;59(22):1928-37.
216. Stiles S. *ARCTIC-GENE Throws Cold Water on Genotype-Guided Antiplatelet Therapy at PCI*. Medscape Cardiology. [Online]. 2013. Dostupno na: <http://www.medscape.com/viewarticle/810441>. [22.11.2013.].
217. Roberts JD, Wells GA, Le May MR, Labinaz M, Glover C, Froeschl M, et al. Point-of-care genetic testing for personalisation of antiplatelet treatment (RAPID GENE): a prospective, randomised, proof-of-concept trial. *Lancet* 2012;379:1705-11.
218. Cuisset T, Quilici J, Cohen W, Fourcade L, Saut N, Pankert M, et al. Usefulness of high clopidogrel maintenance dose according to CYP2C19 genotypes in clopidogrel low responders undergoing coronary stenting for non ST elevation acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2011;108:760-5.
219. Stiles S. *Clopidogrel Genotyping for Antiplatelet Guidance in MI Stenting: Maybe Reduced Ischemic Risk*. Medscape Cardiology. [Online]. 2013. Dostupno na: <http://www.medscape.com/viewarticle/813892>. [22.11.2013.].
220. Aradi D, Komócsi A, Price MJ, Cuisset T, Ari H, Hazarbasanov D, et al.; Tailored Antiplatelet Treatment Study Collaboration. Efficacy and safety of intensified antiplatelet therapy on the basis of platelet reactivity testing in

- patients after percutaneous coronary intervention: systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol* 2013;167:2140-8.
221. Brar SS, ten Berg J, Marcucci R, Price MJ, Valgimigli M, Kim HS, et al. Impact of platelet reactivity on clinical outcomes after percutaneous coronary intervention. A collaborative meta-analysis of individual participant data. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:1945-54.
222. Stone GW, Witzenbichler B, Weisz G, Rinaldi MJ, Neumann FJ, Metzger DC, et al.; ADAPT-DES Investigators. Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): a prospective multicentre registry study. *Lancet* 2013;382:614-23.
223. Task Force Members, Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, Budaj A, et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2013;34:2949-3003.
224. Campo G, Parrinello G, Ferraresi P, Lunghi B, Tebaldi M, Miccoli M, et al. Prospective evaluation of on-clopidogrel platelet reactivity over time in patients treated with percutaneous coronary intervention relationship with gene polymorphisms and clinical outcome. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:2474-83.
225. Park DW, Ahn JM, Song HG, Lee JY, Kim WJ, Kang SJ, et al. Differential prognostic impact of high on-treatment platelet reactivity among patients with acute coronary syndromes versus stable coronary artery disease undergoing percutaneous coronary intervention. *Am Heart J* 2013;165:34-42.
226. Bonello L, Tantry US, Marcucci R, Blindt R, Angiolillo DJ, Becker R, et al.; Working Group on High On-Treatment Platelet Reactivity. Consensus and future directions on the definition of high on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:919-33.
227. Sibbing D, Schulz S, Braun S, Morath T, Stegherr J, Mehilli J, et al. Antiplatelet effects of clopidogrel and bleeding in patients undergoing coronary stent placement. *J Thromb Haemost* 2010;8:250-6.
228. Tantry US, Bonello L, Aradi D, Price MJ, Jeong YH, Angiolillo DJ, et al. Consensus and Update on the Definition of On-Treatment Platelet Reactivity to ADP Associated with Ischemia and Bleeding. *J Am Coll Cardiol* 2013;62:2261-73.

229. Ferguson AD, Dokainish H, Lakkis N. Aspirin and clopidogrel response variability: review of the published literature. *Tex Heart Inst J* 2008;35:313-20.
230. Ben-Dor I, Kleiman NS, Lev E. Assessment, mechanisms, and clinical implication of variability in platelet response to aspirin and clopidogrel therapy. *Am J Cardiol* 2009;104:227-33.
231. Milicic D, Lovric D, Skoric B, Narancic-Skoric K, Gornik I, Sertic J. Platelet response to standard aspirin and clopidogrel treatment correlates with long-term outcome in patients with acute ST-elevation myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2011;153:227-9.
232. Skoric B, Milicic D, Lovric D, Gornik I, Skoric KN, Sertic J. Initial patency of the infarct-related artery in patients with acute ST elevation myocardial infarction is related to platelet response to aspirin. *Int J Cardiol* 2010;140:356-8.
233. Awidi A, Saleh A, Dweik M, Kailani B, Abu-Fara M, Nabulsi R, et al. Measurement of platelet reactivity of patients with cardiovascular disease on-treatment with acetyl salicylic acid: a prospective study. *Heart Vessels* 2011;26:516-22.
234. Patrono C, Andreotti F, Arnesen H, Badimon L, Baigent C, Collet JP, et al. Antiplatelet agents for the treatment and prevention of atherothrombosis. *Eur Heart J* 2011;32:2922-32.
235. Lordkipanidzé M, Pharand C, Schampaert E, Turgeon J, Palisaitis DA, Diodati JG. A comparison of six major platelet function tests to determine the prevalence of aspirin resistance in patients with stable coronary artery disease. *Eur Heart J* 2007;28:1702-8.
236. Cattaneo M. Laboratory detection of 'aspirin resistance': what test should we use (if any)? *Eur Heart J* 2007;28:1673-5.
237. Frelinger AL 3rd, Li Y, Linden MD, Barnard MR, Fox ML, Christie DJ, et al. Association of cyclooxygenase-1-dependent and -independent platelet function assays with adverse clinical outcomes in aspirin-treated patients presenting for cardiac catheterization. *Circulation* 2009;120:2586-96.
238. CURRENT-OASIS 7 Investigators, Mehta SR, Bassand JP, Chrolavicius S, Diaz R, Eikelboom JW, Fox KA, et al. Dose comparisons of clopidogrel and aspirin in acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2010;363:930-42.
239. Pettersen AA, Seljeflot I, Abdelnoor M, Arnesen H. High On-Aspirin Platelet Reactivity and Clinical Outcome in Patients With Stable Coronary Artery

- Disease: Results From ASCET (Aspirin Nonresponsiveness and Clopidogrel Endpoint Trial). *J Am Heart Assoc* 2012;1:e000703.
240. Alexopoulos D, Xanthopoulou I, Gkizas V, Kassimis G, Theodoropoulos KC, Makris G, et al. Randomized Assessment of Ticagrelor Versus Prasugrel Antiplatelet Effects in Patients with ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction. *Circ Cardiovasc Interv* 2012;5:797-804.
 241. Bonello L, Mancini J, Pansieri M, Maillard L, Rossi P, Collet F, et al. Relationship between post-treatment platelet reactivity and ischemic and bleeding events at 1-year follow-up in patients receiving prasugrel. *J Thromb Haemost* 2012;10:1999-2005.
 242. Parodi G, Valenti R, Bellandi B, Migliorini A, Marcucci R, Comito V, et al. Comparison of Prasugrel and Ticagrelor Loading Doses in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Patients: RAPID (Rapid Activity of Platelet Inhibitor Drugs) Primary PCI Study. *J Am Coll Cardiol* 2013;61:1601-6.
 243. Sibbing D, Gebhard D, Koch W, Braun S, Stegherr J, Morath T, et al. Isolated and interactive impact of common CYP2C19 genetic variants on the antiplatelet effect of chronic clopidogrel therapy. *J Thromb Haemost* 2010;8:1685-93.
 244. Mehran R, Rao SV, Bhatt DL, Gibson CM, Caixeta A, Eikelboom J, et al. Standardized bleeding definitions for cardiovascular clinical trials: a consensus report from the Bleeding Academic Research Consortium. *Circulation* 2011;123:2736-47.
 245. Kastrati A, Mehilli J, Neumann FJ, Dotzer F, ten Berg J, Bollwein H, et al.; Intracoronary Stenting and Antithrombotic: Regimen Rapid Early Action for Coronary Treatment 2 (ISAR-REACT 2) Trial Investigators. Abciximab in patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention after clopidogrel pretreatment: the ISAR-REACT 2 randomized trial. *JAMA* 2006;295:1531-8.
 246. Snoep JD, Hovens MM, Eikenboom JC, van der Bom JG, Jukema JW, Huisman MV. Clopidogrel nonresponsiveness in patients undergoing percutaneous coronary intervention with stenting: a systematic review and meta-analysis. *Am Heart J* 2007;154:221-31.
 247. Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, Shechter M, Beinart R, Goldenberg I, et al. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;109:3171-5.

248. Yusuf S, Mehta SR, Zhao F, Gersh BJ, Commerford PJ, Blumenthal M, et al. Early and late effects of clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003;107:966–972.
249. Levine GN, Bates ER, Blankenship JC, Bailey SR, Bittl JA, Cercek B, et al. 2011 ACCF/AHA/SCAI Guideline for Percutaneous Coronary Intervention: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions. *Circulation* 2011;124:e574-651.
250. Mallouk N, Labruyère C, Reny JL, Chapelle C, Piot M, Fontana P, et al. Prevalence of poor biological response to clopidogrel: a systematic review. *Thromb Haemost* 2012;107:494-506.
251. Arméro S, Camoin Jau L, Omar Aït Mokhtar O, Mancini J, Burignat-Bonello C, Tahirou I, et al. Intra-individual variability in clopidogrel responsiveness in coronary artery disease patients under long term therapy. *Platelets* 2010;21:503-7.
252. 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;45:1392-6.
253. Giles H, Smith REA, Martin JF. Platelet glycoprotein IIb-IIIa and size are increased in acute myocardial infarction. *Eur J Clin Invest* 1994;24:69-72.
254. Gawaz M, Neumann F-J, Ott I, Schiessler A, Schömig A. Platelet function in acute myocardial infarction treated with direct angioplasty. *Circulation* 1996;93:229–37.
255. Breet NJ, van Werkum JW, Bouman HJ, Kelder JC, Ruven HJ, Bal ET, et al. Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation. *JAMA* 2010;303:754-62.
256. Trenk D, Hochholzer W, Fromm MF, Chialda LE, Pahl A, Valina CM, et al. Cytochrome P450 2C19 681G>A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1925-34.
257. Gao C, Boylan B, Fang J, Wilcox DA, Newman DK, Newman PJ. Heparin promotes platelet responsiveness by potentiating alphaIIbbeta3-mediated outside-in signaling. *Blood* 2011;117:4946-52.

258. Barradas MA, Mikhailidis DP, Epemolu O, Jeremy JY, Fonseca V, Dandona P. Comparison of the platelet pro-aggregatory effect of conventional unfractionated heparins and a low molecular weight heparin fraction (CY 222). *Br J Haematol* 1987;67:451-7.
259. Lev EI, Alviar CL, Arikan ME, Dave BP, Granada JF, DeLao T, et al. Platelet reactivity in patients with subacute stent thrombosis compared with non-stent-related acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2007;153:41.e1-6.
260. Danenberg HD, Szalai AJ, Swaminathan RV, Peng L, Chen Z, Seifert P, et al. Increased thrombosis after arterial injury in human C-reactive protein-transgenic mice. *Circulation* 2003;108:512-5.
261. Anfossi G, Trovati M. Role of catecholamins in platelet function: pathophysiological and clinical significance. *Eur J Clin Invest* 1996;26:353-70.
262. Borna C, Lazarowski E, van Heusden C, Öhlin H, Erlinge D. Resistance to aspirin is increased by ST-elevation myocardial infarction and correlates with adenosine diphosphate levels. *Thromb J* 2005;3:10.
263. Ding YA, MacIntyre DE, Kenyon CJ, Semple PF. Angiotensin II effects on platelet function. *J Hypertens* 1985;S251-3.
264. Božina N, Granić P, Lalić Z, Tramišak I, Lovrić M, Stavljenić-Rukavina A. Genetic polymorphisms of cytochromes P450: CYP2C9, CYP2C19, and CYP2D6 in Croatian population. *Croat Med J* 2003;44:425-8.
265. Fontana P, Cattaneo M, Combescure C, Reny JL. Tailored Thienopyridine therapy: no urgency for CYP2C19 genotyping. *J Am Heart Assoc* 2013;2:e000131.
266. Holmes MV, Perel P, Shah T, Hingorani AD, Casas JP. CYP2C19 genotype, clopidogrel metabolism, platelet function, and cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2011;306:2704-14.
267. Bauer T, Bouman HJ, van Werkum JW, Ford NF, ten Berg JM, Taubert D. Impact of CYP2C19 variant genotypes on clinical efficacy of antiplatelet treatment with clopidogrel: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2011;343:d4588.
268. Zabalza M, Subirana I, Sala J, Lluís-Ganella C, Lucas G, Tomás M, et al. Meta-analyses of the association between cytochrome CYP2C19 loss- and gain-of-function polymorphisms and cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease treated with clopidogrel. *Heart* 2012;98:100-8.

269. Hochholzer W, Trenk D, Fromm MF, Valina CM, Stratz C, Bestehorn HP, et al. Impact of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and of major demographic characteristics on residual platelet function after loading and maintenance treatment with clopidogrel in patients undergoing elective coronary stent placement. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2427-34.
270. Bouman HJ, Harmsze AM, van Werkum JW, Breet NJ, Bergmeijer TO, Ten Cate H, et al. Variability in on-treatment platelet reactivity explained by CYP2C19*2 genotype is modest in clopidogrel pretreated patients undergoing coronary stenting. *Heart* 2011;97:1239-44.
271. Geisler T, Grass D, Bigalke B, Stellos K, Drosch T, Dietz K, et al. The Residual Platelet Aggregation after Deployment of Intracoronary Stent (PREDICT) score. *J Thromb Haemost* 2008;6:54-61.
272. Sibbing D, Koch W, Gebhard D, Schuster T, Braun S, Stegherr J, et al. Cytochrome 2C19*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement. *Circulation* 2010;121:512-8.
273. Straub N, Beivers A, Lenk E, Aradi D, Sibbing D. A model-based analysis of the clinical and economic impact of personalising P2Y12-receptor inhibition with platelet function testing in acute coronary syndrome patients. *Thromb Haemost* 2013;111:290-9.
274. Chirumamilla AP, Maehara A, Mintz GS, Mehran R, Kanwal S, Weisz G, et al. High platelet reactivity on clopidogrel therapy correlates with increased coronary atherosclerosis and calcification: a volumetric intravascular ultrasound study. *JACC Cardiovasc Imaging* 2012;5:540-9.
275. Schömig A, Sarafoff N, Seyfarth M. Triple antithrombotic management after stent implantation: when and how? *Heart* 2009;95:1280-5.

Poglavlje 11

BIOGRAFIJA

Rođen sam u Slavonskom Brodu 24. travnja 1983. godine gdje sam završio Osnovnu školu „Antun Mihanović“ i Klasičnu gimnaziju „Fra Marijan Lanosović“. Upisao sam Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu 2001. godine, a diplomirao 2007. godine. Nakon studija završio sam jednogodišnji pripravnički staž u Kliničkom bolničkom centru Zagreb te položio državni ispit. Od 2008. godine radim kao znanstveni novak na Medicinskom fakultetu u Zagrebu na znanstvenom projektu pod nazivom „Otpornost na antitrombocitne lijekove u ishemijskoj bolesti srca i mozga“ čiji je voditelj akademik Davor Miličić. Doktorski studij „Biomedicina i zdravstvo“ upisao sam 2009. godine. Od 2010. godine započinjem specijalizaciju iz interne medicine za Medicinski fakultet u Zagrebu. Član sam Hrvatskog liječničkog zbora, Hrvatskog kardiološkog društva i Europskog kardiološkog društva. Aktivno sam sudjelovao na više znanstvenih i stručnih skupova u Hrvatskoj i inozemstvu. Autor sam više znanstvenih publikacija u obliku originalnih znanstvenih članaka i sažetaka, te članaka u stručnim medicinskim časopisima i *Case-based learning* bazi Europskog kardiološkog društva. Sudjelovao sam kao istraživač u nekoliko multicentričnih kliničkih studija. Uža područja interesa u kardiologiji su mi akutni koronarni sindrom, zatajivanje srca, intenzivna kardijalna skrb i transplantacija srca.