



Središnja medicinska knjižnica

Skorić, Boško (2010) *Osobitosti otpornosti na antitrombocitne lijekove u bolesnika s akutnim infarktom miokarda sa ST-elevacijom liječenih standardnim dozama acetilsalicilne kiseline i klopidogrela*
[The characteristics of resistance to antiplatelet drugs in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction treated with standard doses of acetylsalicylic acid and clopidogrel]. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.

<http://medlib.mef.hr/861>

University of Zagreb Medical School Repository

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

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Boško Skorić

**Osobitosti otpornosti na
antitrombocitne lijekove u bolesnika s
akutnim infarktom miokarda sa ST-
elevacijom liječenih standardnim
dozama acetilsalicilne kiseline i
klopidogrela**

DISERTACIJA



Zagreb, 2010.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Boško Skorić

Osobitosti otpornosti na antitrombocitne lijekove

**u bolesnika s akutnim infarktom miokarda sa ST-elevacijom liječenih standardnim
dozama acetilsalicilne kiseline i klopidozela**

DISERTACIJA

Zagreb, 2010

Istraživanje na kojem se temelji ova doktorska disertacija provedeno je u Klinici za bolesti srca i krvnih žila Medicinskog Fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Ovaj rad financiran je od strane Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske kao dio znanstveno-istraživačkog projekta pod nazivom "Otpornost na antitrombocitne lijekove u ishemijskoj bolesti srca i mozga" čiji je voditelj Prof.dr.sc. Davor Miličić (Projekt br. 1636).

Mentor: Prof.dr.sc. Davor Miličić

Klinika za bolesti srca i krvnih žila
Medicinskog Fakulteta Sveučilišta u Zagrebu &
Kliničkog bolničkog centra Zagreb

Prije svega želim se zahvaliti profesoru Davoru Miličiću koji je usprkos svojim bezbrojnim obvezama kao Predstojnik Klinike za bolesti srca i krvnih žila i Dekan Medicinskog Fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pristao biti mentorom mojoj doktorskoj disertaciji. Zahvaljujem mu na neizrecivom povjerenju koje mi je ukazao uključivši me u svoj znanstveno-istraživački projekt, te akademskoj i prijateljskoj klimi koju neumorno podržava u našoj Klinici.

Veliko hvala dugujem i profesorici Jadranki Sertić koja je kao Predstojnica Kliničkog zavoda za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Zagreb ukazala veliko povjerenje i pružala neprekidnu podršku u usvajanju znanja i vještina laboratorijske dijagnostike uz postelju kardiološkog bolesnika.

Svim ljudima koji su izravno i neizravno sudjelovali u istraživanjima na kojima se temelji ova disertacija želim zahvaliti na trudu i dragocijenom vremenu koje su mi posvetili. Ipak, posebnu zahvalu dugujem mojem kolegi i prijatelju Danielu Lovriću s kojim sam započeo i završio ovaj istraživački izazov.

Naposlijeku, želim se zahvaliti roditeljima na trajnoj podršci svih ovih godina. Najveću zahvalu upućujem dragoj supruzi Kristini i klincima, Ivanu, Maji i Roku. Hvala vam na vašem strpljenju i razumjevanju koje ste mi pružili, kao i ljubavi kojom ste me okružili.

Sadržaj

| | |
|--|----|
| Popis uporabljenih kratica | 7 |
| 1. UVOD | 9 |
| 1.1. Akutni koronarni sindrom | 9 |
| 1.1.1. Akutni infarkt miokarda sa ST-elevacijom (STEMI) | 10 |
| 1.1.2. Akutni infarkt miokarda bez ST-elevacije (NSTEMI) | 11 |
| 1.1.3. Nestabilna angina pektoris | 12 |
| 1.2. Patofiziologija akutne koronarne aterotromboze | 15 |
| 1.3. Antitrombocitni lijekovi | 16 |
| 1.3.1. Acetilsalicilna kiselina | 17 |
| 1.3.2. Klopido-rel | 19 |
| 1.3.3. Ostali antitrombocitni lijekovi | 20 |
| 1.4. Reaktivnost trombocita i spontana rekanalizacija arterije odgovorne za STEMI | 22 |
| 1.5. Otpornost na antitrombocitne lijekove | 23 |
| 1.5.1. Otpornost na acetilsalicilnu kiselinu | 24 |
| 1.5.1.1. Učestalost otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu | 25 |
| 1.5.1.2. Laboratorijske metode u dijagnosticiranju otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu | 25 |
| 1.5.1.3. Uzroci otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu | 28 |
| 1.5.1.4. Studije kliničke važnosti otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu | 32 |
| 1.5.1.5. Reaktivnost trombocita i otpornost na acetilsalicilnu kiselinu u bolesnika s infarktom miokarda | 36 |
| 1.5.1.6. Pristup bolesniku s otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu | 37 |
| 1.5.2. Otpornost na klopido-rel | 39 |
| 1.5.2.1. Učestalost otpornosti na klopido-rel | 41 |
| 1.5.2.2. Laboratorijske metode u dijagnosticiranju otpornosti na klopido-rel | 41 |

| | |
|---|-----------|
| 1.5.2.3. Uzroci otpornosti na klopidogrel | 43 |
| 1.5.2.4. Studije kliničke važnosti otpornosti na klopidogrel | 46 |
| 1.5.2.5. Pristup bolesniku s otpornosti na klopidogrel | 51 |
| 1.5.3. Dvostruka otpornost na antitrombocitnu terapiju | 53 |
| 1.5.4. Reaktivnost trombocita i osjetljivost na antitrombocitno liječenje | 53 |
| 1.5.5. Dinamika antitrombocitnog učinka | 54 |
| 2. CILJEVI I SVRHA ISTRAŽIVANJA | 56 |
| 3. HIPOTEZE | 57 |
| 4. OSOBINE OTPORNOSTI NA ANTITROMBOCITNE LIJEKOVE I NJEZIN UTJECAJ NA DUGOROČNU PROGNOZU BOLESNIKA S AKUTNIM INFARKTOM MIOKARDA SA ST-ELEVACIJOM | 58 |
| 4.1. Metode | 58 |
| 4.1.1. Ispitanici | 58 |
| 4.1.2. Testovi agregacije trombocita | 58 |
| 4.1.3. Koronarografija i perkutana koronarna intervencija | 59 |
| 4.1.4. Kliničko praćenje i prikupljanje podataka | 60 |
| 4.1.5. Statistička obrada | 60 |
| 4.2. Rezultati | 61 |
| 4.2.1. Osobine ispitanika | 61 |
| 4.2.2. Dinamika osjetljivosti trombocita na acetilsalicilnu kiselinu i klopidogrel | 63 |
| 4.2.3. Varijabilnost prijeterapijske reaktivnosti trombocita | 64 |
| 4.2.4. Varijabilnost osjetljivosti trombocita na acetilsalicilnu kiselinu i klopidogrel | 64 |
| 4.2.5. Utjecaj prijeterapijske reaktivnosti trombocita na dugoročnu prognozu bolesnika s infarktom miokarda sa ST-elevacijom | 66 |
| 4.2.6. Povezanost osjetljivosti trombocita na acetilsalicilnu kiselinu i klopidogrel s dugoročnom prognozom bolesnika s infarktom miokarda sa ST-elevacijom | 68 |
| 4.2.7. Dvostruka otpornost na antiagregacijsku terapiju i njezin utjecaj na dugoročnu prognozu bolesnika s infarktom miokarda sa ST-elevacijom .. | 68 |

| | |
|---|------------|
| 4.3. Rasprava | 69 |
| 4.4. Zaključak | 71 |
| 5. POVEZANOST OTPORNOSTI NA ACETILSALICILNU KISELINU S POJAVOM SPONTANE REKANALIZACIJE KORONARNE ARTERIJE ODGOVORNE ZA INFARKT MIOKARDA SA ST-ELEVACIJOM U BOLESNIKA KOJI ACETILSALICILNU KISELINU TROŠE OD RANIJE | 73 |
| 5.1. Metode | 73 |
| 5.1.1. Ispitanici | 73 |
| 5.1.2. Testovi agregacije trombocita | 73 |
| 5.1.3. Koronarografija | 74 |
| 5.1.4. Statistička obrada | 74 |
| 5.2. Rezultati | 74 |
| 5.2.1. Osobine ispitanika | 74 |
| 5.2.2. Varijabilnost osjetljivosti trombocita na acetilsalicilnu kiselinu koju bolesnici s infarktom miokarda sa ST-elevacijom troše od ranije | 74 |
| 5.2.3. Varijabilnost TIMI protoka na inicijalnoj koronarografiji | 76 |
| 5.2.4. Povezanost otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu s pojavom spontane rekanalizacije koronarne arterije odgovorne za infarkt miokarda sa ST-elevacijom u bolesnika koji acetilsalicilnu kiselinu troše od ranije | 77 |
| 5.3. Rasprava | 77 |
| 5.4. Zaključak | 78 |
| 6. SAŽETAK | 79 |
| 7. SUMMARY | 81 |
| 8. LITERATURA | 83 |
| 9. ŽIVOTOPIS | 106 |

| | | |
|-----|----------------------------|-----|
| 10. | BIBLIOGRAFIJA | 108 |
|-----|----------------------------|-----|

Popis uporabljenih kratica

| | |
|----------------------|---|
| AA | arahidonska kiselina (engl. <i>arachidonic acid</i>) |
| ACS | akutni koronarni sindrom (engl. <i>acute coronary syndrome</i>) |
| ADP | adenozin difosfat (engl. <i>adenosin diphosphate</i>) |
| ASK | acetilsalicilna kiselina |
| BMS | običan metalni stent (engl. <i>bare metal stent</i>) |
| CABG | aortokoronarno premoštenje (engl. <i>coronary artery bypass graft</i>) |
| cAMP | ciklički adenzin monofosfat |
| CEPI | kolagen i adrenalin (engl. <i>collagen and epinephrine</i>) |
| CADP | kolagen i ADP (engl. <i>collagen and ADP</i>) |
| CK | kreatin-kinaza |
| CK-MB | MB izoenzim kreatin-kinaze |
| COX-1 | ciklooksigenaza-1 (engl. <i>cyclo-oxygenase-1</i>) |
| COX-2 | ciklooksigenaza-2 (engl. <i>cyclo-oxygenase-2</i>) |
| CT | vrijeme zatvaranja (engl. <i>closure time</i>) |
| cTnI | kardioselektivni troponin I |
| cTnT | kardioselektivni troponin T |
| CVI | cerebrovaskularni inzult |
| DAT | dvostruka antitrombocitna terapija (engl. <i>dual antiaggregation therapy</i>) |
| DES | stent koji izlučuje lijek (engl. <i>drug-eluting stent</i>) |
| 11-DTXB ₂ | 11-dehidrotromboksan B ₂ (engl. <i>11-dehydrothromboxane B₂</i>) |
| HbA1c | glikozilirani hemoglobin |
| HDL | lipoprotein visoke gustoće (engl. <i>high-density lipoprotein</i>) |
| hsCRP | visoko-osjetljivi C-reaktivni protein (engl. <i>high sensitivity C-reactive protein</i>) |
| Htc | hematokrit |
| IM | infarkt miokarda |
| IRA | arterija odgovorna za infarkt (engl. <i>infarct related artery</i>) |
| LDL | lipoprotein niske gustoće (engl. <i>low-density lipoprotein</i>) |
| LTA | svjetlosna agregometrija (engl. <i>light transmittance aggregometry</i>) |
| MACE | veliki nepovoljni kardiovaskularni događaji (engl. <i>major adverse cardiovascular events</i>) |
| MACCE | veliki nepovoljni kardiocerebrovaskularni događaji (engl. <i>major adverse cardiac and cerebrovascular events</i>) |
| MPV | srednji volumen trombocita (engl. <i>mean platelet volume</i>) |
| NSAR | nesteroidni antireumatik |
| NSTEMI | infarkt miokarda bez ST-elevacije (engl. <i>non-ST-segment elevation myocardial infarction</i>) |
| NSTE-ACS | akutni koronarni sindrom bez ST-elevacije (engl. <i>non-ST-segment elevation acute coronary syndrome</i>) |
| NT-proBNP | N-terminalni pro-B tip natriuretskog peptida |
| PCI | perkutana koronarna intervencija (engl. <i>percutaneous coronary intervention</i>) |
| PGE ₁ | prostaglandin E ₁ |
| pPCI | primarna perkutana koronarna intervencija (engl. <i>primary percutaneous coronary intervention</i>) |
| PFA-100® | Platelet Function Analyzer-100® |
| POC | uz krevet bolesnika (engl. <i>point-of-care</i>) |
| PRI | indeks reaktivnosti trombocita (engl. <i>platelet reactivity index</i>) |
| PRU | jedinice P2Y ₁₂ reaktivnosti (engl. <i>P2Y₁₂ reaction unit</i>) |
| STEMI | infarkt miokarda sa ST-elevacijom (engl. <i>ST-segment elevation myocardial infarction</i>) |

| | |
|------------------|--|
| TIA | tranzitorna ishemična ataka (engl. <i>transitory ischemic attack</i>) |
| TVR | ponovljena revaskularizacija ciljne koronarne arterije (engl. <i>target vessel revascularization</i>) |
| TXA ₂ | tromboksan A ₂ (engl. <i>thromboxan A₂</i>) |
| VASP-P | fosforilacija vazodilatatorom-stimuliranog fosfoproteina (engl. <i>vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation</i>) |
| vWF | von Willebrandov čimbenik |

Poglavlje 1

UVOD

1.1. Akutni koronarni sindrom

Akutni koronarni sindrom (ACS, engl. *acute coronary syndrome*) označava spektar kliničkih manifestacija naglo nastale ishemije miokarda u čijoj je podlozi zajednički patofiziološki supstrat – disrupcija aterosklerotskog plaka s popratnom koronarnom trombozom (1). Ovo ujedno predstavlja i temelj zajedničke dijagnostičko-terapijske osovine u kliničkom pristupu ovim bolesnicima.

Tipični i vodeći simptom u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom je snažna i akutna substernalna bol koja se često širi u donju čeljust, lijevo rame i/ili lijevu ruku. Uzrok opisanih tegoba je teška akutna ishemija miokarda najčešće nastala kao posljedica reducirane opskrbe srčanog mišića kisikom u sklopu okluzivne aterotrombotske bolesti koronarne arterije.

Potpuna trombotska okluzija koronarne arterije s posljedičnim razvojem opsežne zone nekroze pripadajućeg miokarda u pravilu uzrokuje trajnu elevaciju ST spojnice u EKG-u, što u praksi dijagnosticiramo kao infarkt miokarda sa ST-elevacijom (STEMI, engl. *ST-segment elevation myocardial infarction*). Bolesnicima koji u kliničkoj manifestaciji akutne ishemije miokarda nemaju elevaciju ST spojnice (ili je ona kratkotrajna, tj. kraća od 20 minuta), u početku postavljamo radnu dijagnozu akutnog koronarnog sindroma bez ST-elevacije (NSTEMI, engl. *non ST-segment elevation acute coronary syndrome*). Ovaj sindrom čine dva entiteta, nestabilna angina pectoris i infarkt miokarda bez ST-elevacije (NSTEMI, engl. *non ST-segment elevation myocardial infarction*) koje je moguće razlikovati tek naknadno i to na osnovu nalaza biokemijskih markera nekroze miocita koji u prvom slučaju ostaju negativni (2).

Bolesnici koji se prezentiraju s trajnom elevacijom ST spojnice i koja u pravilu znači potpunu trombotsku okluziju epikardijalne koronarne arterije su zato u praksi kandidati za neki od reperfuzijskih načina liječenja (fibrinoliza ili perkutane kateterske tehnike). Ostali, koji se ne prezentiraju sa ST-elevacijom nisu kandidati za farmakološku reperfuziju, već se liječe anti-ishemijskim lijekovima iza čega većinom slijedi perkutana koronarna intervencija (PCI). Antitrombocitna i antitrombinska terapija zajednički su oblici liječenja svih bolesnika s akutnim koronarnim sindromom sa ili bez-ST elevacije (3, 4).

1.1.1. Akutni infarkt miokarda sa ST-elevacijom (STEMI)

Akutni koronarni sindrom koji je u EKG-u praćen elevacijom ST spojnice u trajanju dužem od 20 minuta označava se kao akutni infarkt miokarda s elevacijom ST spojnice (STEMI, engl. *ST-segment elevation myocardial infarction*).

Gotovo svi slučajevi STEMI nastaju kao komplikacija ateroskleroze koronarnih arterija (5). Iako napredovanje aterosklerotskog plaka nerijetko dovodi i do potpunog začepjenja koronarne arterije, ono u pravilu ne uzrokuje akutni infarkt miokarda zahvaljujući popratnom razvoju kolateralne koronarne opskrbe. Suprotno, patofiziološku podlogu STEMI čini iznenadno nastala trombotska okluzija arterije na mjestu disrupcije do tada stabilnog i većinom hemodinamski neznčajnog aterosklerotskog plaka (6). Naime, disrupcija plaka izlaže struji krvi subendotelne strukture stijenke krvne žile čime se pokreću brojni hemostatski mehanizmi (aktivacija i agregacija trombocita, oslobađanje trombina i aktivacija koagulacijske kaskade) s posljedičnim formiranjem okluzivnog koronarnog tromba (7). Navedeno uzrokuje slabljenje dotoka krvi i sve veći poremećaj ravnoteže između opskrbe i potrošnje kisika pripadajućeg dijela miokarda, što u konačnici rezultira nekrozom kardiomiocita.

Usprkos golemom napretku u njegovom prepoznavanju i liječenju, STEMI ostaje veliki javnozdravstveni problem u svim zemljama svijeta pa tako i u Hrvatskoj (8). Dok je mortalitet u randomiziranim studijama u kojima su bolesnici liječeni najsuvremenijim metodama reperfuzije smanjen na 6.5-7%, epidemiološke studije pokazuju da je smrtnost STEMI u zajednici čak 15-20%, što se dijelom tumači i probirom bolesnika bez značajnih komorbiditeta u kliničke studije (9, 10). Polovica smrtnih ishoda uzrokovanih zloćudnim ventrikulskim aritmijama dogodi se unutar prvog sata od nastupa bolesti, tj. prije nego bolesnik uspije stići do potrebne liječničke pomoći (11).

Dijagnoza STEMI postavlja se na temelju kliničke slike i EKG-a s tipičnim promjenama (12). Bolesnik se mora zbrinuti u jedinici intenzivne koronarne skrbi s ciljem što hitnijeg reperfuzijskog liječenja jer se odgađanjem rekanalizacije začepljene koronarne arterije gubi sve više miokarda čime raste rizik od smrti i ostalih komplikacija infarkta, prije svega srčanog popuštanja. Tijekom ove rane faze bolesnik mora biti neprekidno monitoriran zbog visokog rizika od iznenadne smrti uzrokovane zloćudnim ventrikulskim aritmijama. Bolesnik u STEMI mora što prije dobiti acetilsalicilnu kiselinu (ASK) u dozi zasićenja od 300 mg. Već sama primjena ASK u bolesnika sa STEMI dokazano umanjuje smrtnost za čak četvrtinu. Izbor reperfuzijske strategije (fibrinoliza ili perkutana koronarna intervencija) ovisi o njihovoj dostupnosti, s dokazanom prednosti mehaničke reperfuzije koronarne arterije pred fibrinolizom ali ne i pod svaku cijenu. Naime, odgađajući koronarnu reperfuziju za svakih 30 minuta uzrokuje porast smrtnosti bolesnika za čak 8%, pa je prema postojećim smjernicama Europskog kardiološkog

društva dozvoljeno odgađanje početka reperfuzijskog liječenja zbog premještanja bolesnika u centar s mogućnošću perkutanog koronarnog liječenja smije iznositi do 120 minuta (u bolesnika s niskim rizikom od krvarenja i opsežnom zonom infarkta koji traje kraće od 2 h, dozvoljeno vrijeme odgode iznosi svega 90 minuta) (13).

Stanje perfuzije, kao i uspješnost rekanalizacije koronarne arterije odgovorne za infarkt (IRA, engl. *infarct related artery*) postupcima fibrinolize ili perkutane koronarne intervencije može se temeljem angiografskog nalaza opisati pomoću tzv. TIMI sustava bodovanja (prema sustavu bodovanja korištenom u TIMI studiji, engl. *Thrombolysis In Myocardial Infarction*). TIMI stupanj 0 označava potpunu okluziju ciljne arterije, stupanj 1 označava dijelomični prolaz kontrasta iza mjesta opstrukcije ali bez perfuzije distalnih dijelova arterije, stupanj 2 označava potpunu penetraciju kontrasta do periferije žile ali je ista odgođena u odnosu na normalne koronarne arterije i stupanj 3 označava prolaz kontrasta kao i u zdravim arterijama. Bolesnici s TIMI 0 i TIMI 1 stupnjem protoka imaju značajno viši mortalitet u usporedbi s onima kod kojih se postigne TIMI 2, a naročito TIMI 3 protok (14). Zanimljivo je da se 10-20% bolesnika sa STEMI na inicijalnom koronarogramu, dakle prije primarne perkutane koronarne intervencije (pPCI, engl. *primary percutaneous coronary intervention*) prezentira sa spontano otvorenom arterijom (TIMI 2 ili 3). Ovi bolesnici imaju dokazano bitno bolju prognozu u smislu preživljavanja i nastanka srčanog popuštanja (15).

1.1.2. Akutni infarkt miokarda bez ST-elevacije (NSTEMI)

Bolesnike s akutnim infarctom miokarda bez elevacije ST spojnice i one s nestabilnom anginom karakterizira odsustvo trajne ST-elevacije u EKG-u. Ovi bolesnici mogu imati prolaznu elevaciju ST spojnice (< 20 minuta), ali češće imaju depresiju ST spojnice, promijene u izgledu T-vala (izravnanje, inverzija ili pseudonormalizacija) ili uopće nemaju promijena u EKG-u (16).

Dok je STEMI većinom uzrokovan kompletnom akutnom okluzijom koronarne arterije, u bolesnika s nestabilnom anginom i akutnim infarctom miokarda bez ST-elevacije češće je prisutna teža koronarna opstrukcija bez potpune okluzije (17). Udio NSTEMI u skupini bolesnika s akutnim koronarnim sindromom bez ST-elevacije iznosi 40-60%. Prema podacima iz registara, sve je više bolesnika s ACS bez ST-elevacije u odnosu na bolesnike sa STEMI. I dok bolesnici s NSTEMI-ACS imaju nešto manji hospitalni mortalitet u odnosu na bolesnike sa STEMI (7 vs 5%), nakon četiri godine mortalitet prve skupine postaje čak dvostruko veći (18).

Jedan od razloga navedenom je i patofiziologija NSTEMI-ACS koja je složenija od one u STEMI. Iako je neposredni uzrok ovog sindroma akutna ishemija miokarda, u njezinom nastanku sudjeluje više mehanizama koji se često međusobno kombiniraju (19):

1. disrupcija plaka sa superponiranim koronarnim trombom (ovo je najčešći mehanizam)
2. dinamička koronarna opstrukcija (uzrokovana spazmom koronarne arterije, osobito izraženim u Prinzmetalovoj ili variant angini pectoris)
3. progresivno aterosklerotsko suženje koronarne arterije
4. stanja smanjenog zasićenja krvi kisikom (npr. u teškoj anemiji, respiratornoj insuficijenciji) ili izrazitog povećanja potrošnje kisika u miokardu (npr. u tahikardiji, arterijskoj hipertenziji, opstruktivnim valvularnim greškama, tireotoksikozi ...)

Razlučivanje navedenih uzročnih mehanizama potrebno je da bi se ovi bolesnici mogli uspješno liječiti.

Akutni događaj u većine bolesnika s NSTEMI-ACS jest disrupcija plaka s posljedičnom trombozom (koronarna aterotromboza) kao komplikacija dugotrajne aterosklerotske bolesti koronarnih arterija. Kao i u STEMI, upala plaka igra glavnu ulogu u njegovoj destabilizaciji, stanjujući kapu plaka i čineći ga sklonijim rupturi (20). Dok se angiografijom u STEMI češće nalaze crveni trombi, ovdje su češći tzv. bijeli trombi koji imaju veći udio trombocita (21).

Na koronarografiji bolesnika s akutnim koronarnim sindromom bez ST-elevacije (NSTEMI-ACS) značajnu stenozu definiranu kao suženje za više od polovice promjera zdravog segmenta arterije imalo je gotovo 90% bolesnika (34% na tri koronarne arterije, 28% na dvije i 26% na jednoj koronarnoj arteriji) (22). Žene su u prosjeku imale manje proširenu koronarnu bolest u odnosu na muškarce (23). Oko 15% bolesnika s NSTEMI-ACS nema značajnih stenoza na koronarnim arterijama i većinu ih čine žene. Međutim usprkos odsustvu značajnih stenoza na koronarografiji, u trećine ovih bolesnika se uočava porećaj protoka kontrasta što sugerira koronarnu bolest na razini mikrocirkulacije (24).

1.1.3. Nestabilna angina

Posebnu kategoriju bolesnika s akutnim koronarnim sindromom bez ST elevacije (NSTEMI-ACS) čine oni kod kojih ishemija miokarda nije uzrokovala nekrozu kardiomiocita što u praksi dokazujemo odsustvom porasta specifičnog biokemijskog biljega tj. kardiospecifičnog troponina T ili I (cTnT, cTnI). Mehanizmi nastanka ishemije slični su onima u infarktu miokarda s kojim se ovi bolesnici nerijetko i kompliciraju. Određena svojstva anginoznih tegoba omogućuju kliničko razlikovanje bolesnika s nestabilnom

anginom (engl. *unstable angina*) od onih sa stabilnom koronarnom bolesti, od kojih se razlikuju i prema bitno lošijoj prognozi (25):

1. produženog su trajanja (protrahirana angina)
2. javljaju se u mirovanju (dekubitalna angina)
3. novonastale anginozne tegobe koje su od početka težeg stupnja, što znači najmanje klasa III prema klasifikaciji Kanadskog kardiološkog društva (*de novo* angina)
4. pogoršanje ranijih anginoznih tegoba, što znači prelazak najmanje u klasu III prema klasifikaciji Kanadskog kardiološkog društva (*crescendo* angina)
5. angina koja se javlja nakon infarkta miokarda (postinfarktna angina)

Simptomi bolesnika s nestabilnom anginom kvalitativno se ne razlikuju od onih u bolesnika s infarktom miokarda, osim u dužini neprekinutog trajanja. Naime, ishemijska bol koja traje duže od 20 minuta vjerojatno će rezultirati nekrozom kardiomiocita, tj. infarktom miokarda.

Zanimljivo je da su među bolesnicima s nestabilnom anginom žene relativno češće (30-45%) u odnosu na populaciju bolesnika s akutnim infarktom miokarda, bilo sa (20%) ili bez ST-elevacije (25-30%) (23, 26). Također, ovi bolesnici u anamnezi češće navode podatke o preboljelom infarktu miokarda, prethodnoj koronarnoj revaskularizaciji ili nekoronarnoj vaskularnoj bolesti (27).

Kako je opisano ranije osnovna razlika u kliničkoj prezentaciji prema bolesnicima s elevacijom ST spojnice (STEMI) je u izgledu EKG-a. Naime, u bolesnika s NSTEMI-ACS u koje spadaju i oni s nestabilnom anginom, nema elevacije ST spojnice ili je ona tek prolazna (tj. traje kraće od 20 min). U polovici slučajeva nalazi se depresija ST spojnice i/ili promijena T vala. Drugim riječima, nije rijetkost da EKG ovih bolesnika izgleda normalno (28).

Dok se u svijetu bilježi smanjenje incidencije STEMI, učestalost infarkta miokarda bez ST-elevacije (NSTEMI) i nestabilne angine se povećava (29). Kratkoročna prognoza bolesnika s nestabilnom anginom bolja je nego u onih s infarktom miokarda sa ili bez ST-elevacije što je očekivano s obzirom da nekroza miokarda u infarktu donosi i veći rizik od popuštanja srca i hemodinamske nestabilnosti. Međutim, dugoročna prognoza bolesnika s nestabilnom anginom ili NSTEMI je lošija u usporedbi s bolesnicima nakon STEMI, što je posljedica veće proširenosti koronarne bolesti, češćeg infarkta u ranijoj anamnezi ali i češćih komorbiditeta koji prate one prve (18).

Bolesnici s multifokalnim koronarnim lezijama pokazuju sklonost ponavljanju ishemijskih ataka jer osim tzv. odgovornog plaka (engl. *culprit lesion*) imaju i više drugih aktivnih plakova kao potencijalnih budućih odgovornih lezija koji se mogu prikazati uporabom intravaskularnog ultrazvuka (IVUS, engl. *intravascular ultrasound*) ili angiostopski (30).

Povišene serumske vrijednosti C-reaktivnog proteina (CRP) i lipoprotein fosfolipaze A₂ (LP-PLA₂) dobro koreliraju s aktivnošću upale u ovim plakovima, a time i s prognozom ovih bolesnika glede budućih ishemijskih zbivanja (31, 32).

Liječenje bolesnika s NSTEMI-ACS razlikuje se od liječenja u STEMI samo u onom dijelu terapije koji se odnosi na tzv. invazivnu strategiju, tj. koronarnu revaskularizaciju. Budući da se u STEMI u pravilu nalazi potpuna okluzija koronarne arterije, koronarna reperfuzija je ovdje ne samo mandatna već ju je potrebno učiniti što hitnije. S druge strane, invazivna strategija (perkutana koronarna intervencija ili kardiokirurški zahvat aortokoronarnog premoštenja) u većine bolesnika s NSTEMI-ACS može se odgoditi barem za nekoliko sati. Budući da je etiologija akutne ishemije miokarda u ovih bolesnika heterogena, zaključak o potrebi i hitnosti takve strategije postavlja se nakon ocijene rizika koja se temelji na kliničkoj prezentaciji bolesnika, anamnestičkim pokazateljima povišenog kardiovaskularnog rizika, promijenama u EKG-u i porastu biokemijskih markera nekroze miokarda. Bolesnici kojih usprkos optimalnom medikamentnom liječenju i dalje imaju anginozne tegobe (refraktorna angina), izrazitu depresiju ST spojnice (≥ 2 mm) ili duboke inverzne T valove u EKG-u, razviju simptome srčanog popuštanja ili hemodinamske nestabilnosti, odnosno zloćudne ventrikulske aritmije zahtijevaju što hitniju revaskularizaciju zbog visokog rizika. S druge strane, oni koji po uvođenju medikamentne terapije nemaju povratka anginoznih tegoba, poremećaja EKG-a (kako početnog tako i kontrolnih snimki), porasta kardiospecifičnog troponina (na početku i u kontrolama) niti znakova srčanog popuštanja smatraju se bolesnicima niskog rizika, te se nakon normalnog testa opterećenja mogu nastaviti liječiti medikamentno uz kontrolu čimbenika kardiovaskularnog rizika. Svi ostali osim medikamentne terapije u pravilu se liječe i invazivno, iako ne nužno odmah već optimalno unutar prva tri dana. Medikamentno liječenje kao i u bolesnika sa STEMI uključuje tri osnovna smjera liječenja: antitrombotično, antikoagulacijsko i anti-ishemijsko (16).

1.2 Patofiziologija akutne koronarne aterotromboze

Disrupcija plaka kompleksno je multifaktorijalno zbivanje kojim započinje koronarna aterotromboza i koje rezultira akutnom ishemijom miokarda. Upalno zbivanje u plaku temeljni je poremećaj koji dovodi do promijene njegove arhitekture uzrokujući time i njegovu nestabilnost. U usporedbi s plakovima bolesnika sa stabilnom koronarnom bolesti, nestabilni plakovi u akutnom koronarnom sindromu sadrže znatno veći broj aktiviranih makrofaga i mastocita koji pojačano oslobađaju metaloproteinaze (33). Metaloproteinaze, koje čine kolagenaza, gelatinaza i stromelizin razgrađuju intersticijski matriks plaka pri čemu povećavaju njegovu sklonost disrupciji (5). Disrupcija obično

nastaje u tzv. ramenu plaka, tj. na mjestu gdje stanjena fibrozna kapa plaka prelazi u susjedni dio koronarne arterije (34). Disrupciju plaka u pravilu uzrokuju nagli porast intraluminalnog tlaka, vazomotornog tonusa koronarne arterije, brza ciklička izmjena rastezanja i opuštanja stijenke koronarne arterije u tahikardiji ili pak ruptura nutritivnih *vasa vasorum* što se većinom zbiva u ranim jutranjim satima, češće zimi i nakon prirodnih nepogoda (35, 36).

Aterosklerotski plakovi na kojima dolazi do tromboze u STEMI su nepravilnijeg oblika i složenije građe u usporedbi s ostalim plakovima u koronarnim arterijama. Na ovim plakovima često se uočavaju mjesta rupture ili erozije (37). Veći dio plaka čini fibrozno tkivo s popratnim trombom, dok lipidima prepunjene pjenaste stanice (eng. *foam cells*), kalcij i izvanstanični lipidni sadržaj čine preostalih 5-10%. Trombi su većinom dugi oko 1 cm i mogu se arterijom širiti proksimalno ili distalno od mjesta nastanka. Sastav koronarnih tromba može varirati čak i unutar samog tromba, pa neki slojevi mogu biti građeni po tipu bijelog tromba (trombociti, fibrin) ili crvenog tromba (eritrociti, fibrin, trombociti i leukociti). Koronarni trombi u ranoj fazi (tzv. mladi trombi) sastoje se većinom od trombocita (38).

Trombociti igraju glavnu ulogu u nastanku tromba nakon disrupcije aterosklerotskog plaka (39). Naime, disrupcija plaka omogućuje kontakt subendotelnih struktura koronarne arterije, poput kolagena i tkivnog faktora sa sastojcima cirkulirajuće krvi pri čemu ogoljeni kolagen veže molekule von Willebrandova faktora (vWF) što u nastavku omogućuje zaustavljanje brzo cirkulirajućih trombocita zahvaljujući interakciji s njihovim glikoproteinskim receptorima tipa Ib u procesu koje nazivamo adhezija trombocita (40). Niz kompleksnih biokemijskih i strukturalnih promjena trombocita koje potom slijede označavamo zajedničkim imenom aktivacija trombocita (41). Aktivacija trombocita uzrokuje degranulaciju alfa i gustih granula, pri čemu se oslobađaju biološki vrlo aktivne molekule poput tromboksana A₂ (TXA₂) i serotonina koje pojačavaju daljnje nakupljanje trombocita ali i uzrokuju vazokonstrukciju koronarne arterije što dodatno pogoršava njezinu protočnost. Glavna morfološka promijena u aktivaciji trombocita jest prijelaz iz do tada glatke diskoidne pločice u bodljikavu strukturu čime trombociti ostvaruju veću kontaktnu površinu s kojom mogu stupati u međusobne interakcije, ali koja omogućuje i sintezu trombina. Zahvaljujući aktivaciji, na površini trombocita se povećava broj glikoproteinskih receptora tipa IIb/IIIa koji omogućuju završni proces primarne hemostaze – agregaciju trombocita. Naime, aktivirani GpIIb/IIIa receptori vežući se za molekule fibrinogena ili vWF sa svake strane uzrokujući povezivanje trombocita u nakupine (42). Usporedno s aktiviranjem trombocita pokreću se i mehanizmi koagulacijske kaskade, tj. sekundarne hemostaze (43). Glavni poticaj ovom zbivanju je tkivni faktor koji se oslobađa iz subendotelnih struktura prilikom disrupcije aterosklerotskog plaka (44).

Složeni slijed koagulacijske kaskade rezultira aktiviranjem faktora X (F Xa) koji u nastavku omogućuje sintezu trombina (aktivirani faktor II) (45). Trombin (F IIa) ima osobito važno mjesto u trombozi jer:

1. omogućuje pretvorbu fibrinogena u fibrin u završnom procesu koagulacijske kaskade
2. izravno stimulira trombocite
3. aktivacijom faktora XIII omogućuje ukrižavanje fibrinskih niti u čvrsti ugrušak

Opstrukciju protoka krvi u području koronarne aterotromboze pojačava i vazokonstrikcija, koju uzrokuju upravo proizvodi aktivacije primarne i sekundarne hemostaze: tromboksan A₂, serotonin i trombin. Spazmu koronarne arterije doprinosi i gubitak normalne endotelne funkcije s posljedičnim slabijim otpuštanjem dušičnog oksida i prostaciklina kao i pojačana sinteza endotelina (46). Izražena simpatička aktivnost autonomnog živčanog sustava u stanjima psihičkog stresa ili prilikom izlaganja hladnoći mogu dodatno doprinijeti koronarnoj vazokonstrikciji (47).

1.3. Antitrombocitni lijekovi

Antitrombocitno liječenje usmjereno je na temeljne događaje u akutnom koronarnom sindromu – adheziju, aktivaciju i agregaciju trombocita koji uzrokuju kritično suženje koronarne arterije u području disrupcije od ranije prisutog aterosklerotskog plaka. Kako se ovi složeni procesi odvijaju istovremeno i u više smjerova, nije za očekivati da će terapijska strategija usmjerena na samo jedan od ovih putova biti dovoljno učinkovita u sprječavanju većine trombotskih komplikacija. Tri su glavna komplementarna mehanizma djelovanja i skupine antitrombocitnih lijekova koji omogućavaju učinkovitu inhibiciju patološke primarne hemostaze: inhibicija ciklooksigenaze-1 pomoću acetilsalicilne kiseline, inhibicija ADP-receptora pomoću tienopiridina i blokada GpIIb/IIIa receptora istoimenim blokatorima. Dokazana je korist od njihove uporabe u liječenju bolesnika sa akutnim ili preboljelim infarktom miokarda, preboljelim moždanim udarom ili prolaznom moždanom ishemijom (TIA, engl. *transient ischemic attack*) kao i u ostalih visokorizičnih kardiovaskularnih bolesnika. ATC (*Antithrombotic Trialists' Collaboration*) je metaanaliza gotovo 200 randomiziranih studija antitrombocitne terapije koja je dokazala relativno smanjenje smrtnosti, nefatalnog reinfarkta miokarda i moždanog udara za 22% uz uporabu ovih lijekova (48). Postignuta korist od antitrombocitne terapije očekivano je rasla proporcionalno visini kardiovaskularnog rizika bolesnika.

Važnost kombiniranja antitrombocitne i fibrinolitičke terapije u bolesnika sa STEMI proizilazi iz kompleksne interakcije fibrinolize i trombocita. Ne samo što fibrinoliza ne rješava problem prenapregnute primarne hemostaze, već ju paradoksalno i pojačava

(49). Naime, fibrinoliza uzrokuje oslobađanje trombina vezanog u ugrušku, koji izravno stimulira trombocite i time potiče stvaranje novog tromba. Također, na mjestu rekanalizirane arterije većinom zaostaje suženje s rupturiranim plakom na kojem uslijed pojačane turbulencije i snažnih sila smicanja krvi dolazi do ponovne aktivacije trombocita koja može dovesti i do ponovne okluzije arterije. S druge strane, aktivirani trombociti slabe učinak fibrinolitika zbog pojačanog otpuštanja molekula inhibitora 1 aktivatora plazminogena (PAI-1), alfa-2 inhibitora plazminogena i faktora XIII koji učvršćuje ugrušak čineći ga otpornijim na fibrinolizu (50). Osim u fibrinolizi, antitrombocitni lijekovi imaju sličnu ulogu i u perkutanim kateterskim tehnikama reperfuzije. Osim antagoniziranja primarne hemostaze u akutnom koronarnom zbivanju, oni pomažu u sprječavanju mogućih komplikacija vezanih uz postupak mehaničke reperfuzije – tromboze na mehanički ozlijeđenoj stijenci koronarne arterije i mikroembolizacije koja uzrokuje poremećaj mikrovaskularne perfuzije poznat kao *no reflow* fenomen (51).

1.3.1. Acetilsalicilna kiselina

Acetilsalicilna kiselina (ASK) je snažni ireverzibilni inhibitor enzima ciklooksigenaze. U niskim dozama koje koristimo u liječenju kardiovaskularnih bolesnika, ASK je relativno selektivna za izoenzim ciklooksigenazu-1 (COX-1) koja se dominantno nalazi u trombocitima. Učinak ASK traje 7-10 dana, tj. koliko i vijek trombocita budući da je blokiranje enzima ireverzibilno, a trombociti ne raspolažu jezgrom i DNA potrebnom za sintezu novog enzima (52). Zadovoljavajući antitrombocitni učinak za koji je potrebno blokirati oko 95% aktivnosti COX-1, uz pretpostavku normalnog obrtaja trombocita postiže se redovitom primjenom ASK jednom dnevno i to već u niskoj dozi od 30 mg nadalje (53). ASK blokira COX-1 acetiliranjem serinskog ostatka u sredini molekule čime onemogućuje vezanje supstrata, tj. molekule arahidonske kiseline. Navedeno sprječava pretvorbu arahidonske kiseline u prostaglandin G₂ i potom u prostaglandin H₂, iz kojeg djelovanjem enzima tromboksan sintetaze A₂ nastaje tromboksan A₂. Tromboksan A₂ (TXA₂) biološki je vrlo aktivna molekula koja uzrokuje snažnu aktivaciju trombocita, spazam krvne žile i ubrzava rast aterosklerotskog plaka poticanjem proliferacije njegovih glatkih mišićnih stanica (54).

Apsorpcija ASK nakon peroralnog unosa je brza i većinom se događa u želucu. Lijek se u krvi pojavljuje već nakon 10 minuta, dostižući vršnu koncentraciju nakon samo 30-40 minuta. U slučaju formulacije lijeka koji se otapa u tankom crijevu (engl. *enteric-coated*) ovo se događa znatno kasnije, zbog čega se takvi oblici ASK ne koriste u akutnom koronarnom sindromu gdje je potreban što brži antitrombocitni učinak (55). Zahvaljujući esterazama u krvi i jetri, ASK se brzo razgrađuje u inaktivni salicilat koji se može još

dugo detektirati u krvi i urinu bolesnika. Zbog navedenog se smatra da ASK postiže antitrombocitni učinak već u portalnoj cirkulaciji tj. prije nego se većim dijelom razgradi u jetri (56).

Čini se da ASK ostvaruje i dodatne učinke na funkciju trombocita, koagulacijski sustav i antioksidacijsku zaštitu LDL čestica mehanizmima koji su neovisni o inhibiciji COX-1, ali se drži da su oni znatno manje klinički važni (57).

Učinkovitost ASK dokazana je u brojnim kardiovaskularnim bolestima:

1. akutni koronarni sindrom (nestabilna angina pektoris, infarkt miokarda bez ST-elevacije, infarkt miokarda sa ST-elevacijom) (58-62)
2. stabilna angina pektoris (63)
3. tranzitorna moždana ishemija (64-66)
4. ishemijski moždani udar (67, 68)
5. stanje nakon operacije aortokoronarnog premoštenja (69-71)
6. stanje nakon operacije trombendarterektomije karotide (72)

ISIS-2 studija je najveća studija koja je dokazala sjajnu učinkovitost ASK u bolesnika sa STEMI (62). U ovih je bolesnika ASK u monoterapiji smanjila smrtnost za 23%, dok je u kombinaciji sa streptokinazom imala gotovo aditivni povoljni učinak. Naime, dok je sama fibrinoliza smanjila smrtnost za 25%, dodatak ASK uzrokovao je čak 42%-tno smanjenje smrtnosti i to bez povećanja rizika od krvarenja. No za razliku od fibrinolitika, korist od terapije ASK u STEMI nije slabila s vremenom. Smanjenje smrtnosti iznosilo je 25% u prva 4 h, 21% između 5. - 12. sata i 21% između 13. - 24. sata od početka infarkta. ASK se u akutnom koronarnom sindromu daje u tzv. dozi zasićenja (engl. *loading*) od 160-325 mg radi postizanja što bržeg i potpunijeg antitrombocitnog učinka, a nastavlja se uzimati doživotno u dozi od 75-100 mg dnevno (13).

Općenito, ASK dokazano smanjuje rizik od nepovoljnih kardiovaskularnih događaja prosječno za jednu četvrtinu. Učestalost nefatalnog infarkta miokarda smanjuje za trećinu, nefatalnog moždanog udara za četvrtinu i smrtnost za šestinu. No uprkos njenoj redovitoj primjeni, u 10-20% bolesnika ponovit će se akutni trombotski kardiovaskularni događaj što je potaknulo kliničare na proširenje antitrombocite terapije (48). Naime, dok acetilsalicilna kiselina inhibira trombocite blokirajući samo jedan put njihove aktivacije, ostali mehanizmi koji su neovisni o ciklooksigenazi-1 ostaju intaktni (aktivacija trombocita uzrokovana ADP-om, adrenalinom, trombinom, kolagenom ili izravnim učinkom snažnih sila smicanja krvi u području plaka).

1.3.2. Klopidoĝrel

Klopidoĝrel je tienopiridinski derivat koji postaje aktivan tek nakon biotransformacije u jetri zahvaljujući djelovanju citokroma P450 (CYP450) i to većinom izoenzima 3A4, 3A5, 2B6 i 2C19, a manjim dijelom izoenzima 1A1 i 1A2. Ovim procesima nastaje sulfhidrilna skupina kojom se lijek selektivno i ireverzibilno veže za cisteinski ostatak molekule ADP-receptora tipa P2Y₁₂, inhibirajući tako funkciju trombocita koja kao i u slučaju ASK traje koliko i njihov životni vijek tj. 7-10 dana (73). Maksimalni antiagregacijski učinak klopidoĝrel postiže za 4-6 sati nakon doze zasićenja od 300 mg, dok nakon 600 mg isto postiže već za 2 h (74,75). Klopidoĝrel se u nastavku liječenja daje jednom dnevno u dozi od 75 mg. Veća klinička učinkovitost dodatka klopidoĝrela acetilsalicilnoj kiselini u tzv. dvostrukoj antiagregacijskoj terapiji (DAT, engl. *dual antiaggregation therapy*) objašnjava se njihovim komplementarnim antitrombocitnim učincima.

CURE studija (*Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events*) dokazala je da dodatak klopidoĝrela acetilsalicilnoj kiselini smanjuje smrtnost, pojavu nefatalnog infarkta miokarda i moždanog udara za 20% u bolesnika s nestabilnom anginom ili NSTEMI. Klinička korist od klopidoĝrela (inicijalno u dozi 300 mg i zatim 75 mg dnevno) uočena je već nakon dva sata (76). Smanjenje incidencije nepovoljnih kardiovaskularnih događaja za 31% postignuto je primjenom dvojne antiagregacijske terapije i kod bolesnika s NSTEMI-ACS liječenih perkutanom koronarnom intervencijom u PCI-CURE studiji (77). Korist od dvojne antiagregacijske terapije u bolesnika nakon elektivne PCI, te prednost produžene uporabe dvostruke antitrombocitne terapije u trajanju od 12 mjeseci u odnosu na samo mjesec dana dokazala je CREDO studija (78).

Iako je najmanje ispitivan u bolesnika sa STEMI, klopidoĝrel se smatra obveznim dijelom njihova liječenja. Studije CLARITY i COMMIT dokazale su korist od primjene klopidoĝrela u dozi zasićenja od 300 mg kao i nastavka liječenja dnevnom dozom od 75 mg u bolesnika sa STEMI liječenih fibrinolizom. Dodatkom klopidoĝrela znatno je smanjena smrtnost od infarkta, ali i učestalost reinfarkta i ponovne ishemije koja zahtjeva hitnu revaskularizaciju, bez porasta učestalosti tzv. velikih krvarenja (79, 80). Kod bolesnika sa STEMI u kojih se planira primarna PCI (rekanalizacija koronarne arterije bez prethodne primjene fibrinolize), klopidoĝrel se nekoliko zadnjih godina primjenjuje u većoj dozi zasićenja od 600 mg, jer se u usporedbi s 300 mg takvim doziranjem postiže brža i potpunija antiagregacija (13).

1.3.3. Ostali antitrombocitni lijekovi

Tiklopidin je najstariji tienopiridin (tienopiridin prve generacije) koji je zamjenjen klopidoĝrelom nedugo nakon njegovog otkrića, kako zbog lošijih farmakokinetičkih

svojstava tako i zbog znatno češćih nuspojava (81). Međutim, relativno spori metabolizam klopidogrela u dvije faze i brza razgradnja aktivnog metabolita navela su farmaceute na sintezu tienopiridina treće generacije sa superiornim farmakodinamskim profilom – prasugrela. Poput klopidogrela, i prasugrel ireverzibilno blokira ADP-om posredovanu aktivaciju trombocita vežući se svojom sulfhidrilnom skupinom na P2Y₁₂ receptore. Međutim, prasugrel postiže raniji i snažniji antitrombocitni učinak što je posljedica brže aktivacije lijeka za koju je potrebna samo jedna kemijska reakcija i veće stabilnosti aktivnog metabolita što mu omogućuje ciklopropil-ketonska skupina čineći ga otpornijim na djelovanje esteraza (82). Prasugrel u dozi zasićenja od 60 mg već nakon 30 minuta postiže jači antitrombocitni učinak u odnosu na maksimalni učinak klopidogrela nakon doze od 600 mg tijekom prvih 24 sata (83). Prednost prasugrela pred klopidogrelom dokazana je u studiji TRITON TIMI-38 na bolesnicima koji su bili podvrgnuti PCI u akutnom koronarnom sindromu, pri čemu je postignuto relativno smanjenje kombiniranog kardiocerebrovaskularnog ishoda (MACCE, engl. *major adverse cardiac and cerebrovascular events*) za 19% (84).

Ireverzibilna blokada trombocita ovim lijekovima nerijetko uzrokuje problem u kliničkoj praksi. Naime, iako indicirana, kardiokirurška revaskularizacija se u mnogih bolesnika nakon davanja tienopiridina mora odgoditi za barem 5 dana ili se u slučaju urgencije ista izvodi odmah ali pod znatno povišenim rizikom od velikih krvarenja. Osim toga nisu rijetke situacije u kojima se bolesnicima nakon implantacije stenta na neko vrijeme prekida antitrombocitno liječenje radi izvođenja nekardiokirurškog zahvata, što može ugroziti ove bolesnike osobito ako su im implantirani tzv. stentovi koji otpuštaju lijek (DES, engl. *drug eluting stent*) zbog povećane sklonosti trombozi. Ovo je dovelo do sinteze reverzibilnih blokatora P2Y₁₂ receptora – kangrelora i tikagrelora (AZD6140). Ova skupina antitrombocitnih lijekova nazvana ciklopentil-triazolo-pirimidini ostvaruje antitrombocitni učinak izravnom inhibicijom, tj. bez potrebe prethodne aktivacije. Čini se da osim povoljnog antitrombocitnog učinka možemo očekivati i dodatnu korist od ove skupine blokatora P2Y₁₂ receptora. Naime za razliku od tienopiridina, ovi lijekovi uspijevaju blokirati i P2Y₁₂ receptore glatkih mišićnih stanica krvnih žila ostvarujući time dodatni povoljni vazodilatacijski učinak koji može rezultirati i poboljšanjem perfuzije miokarda. Iako djeluje na isti receptor, klopidogrel ne postiže takav učinak jer brzom razgradnjom u jetri ne održava zadovoljavajuću sustavnu aktivnost. Dok je tikagrelor (AZD6140) oralni inhibitor P2Y₁₂ receptora, kangrelor je lijek za intravensku primjenu. Prvi rezultati kliničkih studija učinkovitosti i sigurnosti ovih lijekova su vrlo obećavajući (85, 86).

U rutinskoj kliničkoj primjeni, osim ASK i klopidogrela koriste se i intravenski inhibitori glikoproteinskih receptora IIb/IIIa: abciximab, tirofiban i eptifibatid. Neovisno čime je

potaknuta, aktivacija trombocita u konačnici uzrokuje ekspresiju glikoproteinskih GpIIb/IIIa receptora na njihovoj površini koji se vežu za niz proteina u plazmi, od kojih je najvažniji fibrinogen zbog svoje visoke koncentracije. Upravo zahvaljujući GpIIb/IIIa receptorima trombociti se međusobno povezuju u nakupine spajajući se na suprotne krajeve molekule fibrinogena u procesu koji se naziva agregacija trombocita. Za razliku od fibrinogena, ostali ligandi poput fibronektina, vWF i vitronektina koji se nalaze u subendotelnom sloju krvne žile, vezanjem na GpIIb/IIIa receptore pomažu u stabilizaciji adhezije trombocita.

Zahvaljujući blokiranju konačnog zajedničkog puta (engl. *final common pathway*) primarne hemostaze, inhibitori GpIIb/IIIa receptora predstavljaju najmoćnije antitrombotične lijekove. Danas ih uspješno koristimo tijekom i neposredno nakon perkutane koronarne intervencije kod bolesnika sa stabilnom koronarnom bolesti, a osobito u onih s akutnim koronarnim sindromom (87, 88). Iako teoretski atraktivan, koncept kombinirane farmakološke reperfuzije GpIIb/IIIa inhibitorom i fibrinolitikom u bolesnika sa STEMI izjalovio se u praksi zbog neprihvatljivo čestih i ozbiljnih hemoragijskih komplikacija. Iako uz smanjenje učestalosti reinfarkta, učestalost krvarenja ostala je znatna čak i nakon prepolovljenja doze fibrinolitika (8). Kako nije imala povoljnog učinka na mortalitet, ovakva strategija liječenja nije naišla na preporuku u postojećim kardiološkim smjernicama (13).

1.4. Reaktivnost trombocita i spontana rekanalizacija arterije odgovorne za infarkt miokarda

Aktivacija trombocita ima središnje mjesto u patofiziologiji akutnog koronarnog sindroma jer je neposredno odgovorna za kritično suženje ili okluziju koronarne arterije, uvodeći tako miokard u stanje ishemije i posljedične nekroze.

Stupanj aktivacije trombocita ili reaktivnost trombocita (PR, engl. *platelet reactivity*) nije jednaka kod svih bolesnika s koronarnom bolesti i dokazano je da korelira s težinom kliničke prezentacije (stabilna angina, nestabilna angina, NSTEMI, STEMI) (89). Tako je prosječna reaktivnost trombocita izmjerena u bolesnika s infarktom sa ST-elevacijom veća nego u bolesnika s infarktom miokarda bez ST-elevacije ili stabilnom anginom pektoris (90). Reaktivnost trombocita povezana je i s pojavom spontane rekanalizacije koronarne arterije u akutnom STEMI koja se nalazi u oko 10-20% bolesnika. Spontana rekanalizacija ciljne arterije u STEMI dragocijena je pojava povezana s bitno boljom kliničkom prognozom u smislu manje veličine infarkta, niže incidencije kasnijeg popuštanja srca ali i manje kratkoročne i dugoročne smrtnosti u usporedbi s bolesnicima koji na inicijanoj koronarogramu imaju okluziju koronarne arterije (15).

Bolesnici sa STEMI koji se na koronarografiji inicijalno prezentiraju okluzijom imaju u odnosu na one sa spontano rekanaliziranom arterijom znatno veću koncentraciju topljivog trombocitnog glikoproteina V (engl. *soluble platelet glycoprotein V*), koji je specifični blijeg aktivacije trombocita (91). Maden i sur našli su značajno manji srednji volumen trombocita (MPV, engl. *mean platelet volume*) kod bolesnika sa spontano otvorenom koronarnom arterijom u odnosu na one s trombotskom okluzijom (92).

Stupanj reaktivnosti trombocita također se pokazao proporcionalnim veličini nekroze miokarda u infarktu. Osim što uzrokuju okluziju krvne žile, aktivirani trombociti sudjeluju i u reperfuzijskoj ozljedi miokarda koja nastaje nakon rekanalizacije prethodno akutno okludirane ciljane koronarne arterije. Ovo se tumači činjenicom da aktivirani trombociti pridonose rasplamsavanju upalnog odgovora u ishemičnom miokardu ulazeći u interakcije s leukocitima i endotelom koji pri tome otpuštaju brojne proupalne molekule (93). Također, sintezom i otpuštanjem serotonina, tromboksana A₂ i slobodnih radikala kisika trombociti potiču vazospazam, a stvarajući mikročepove uzrokuju i neposrednu opstrukciju koronarne mikrocirkulacije (94). Opisani učinci trombocita mogu dovesti u pitanje korist od uspješno rekanalizirane velike epikardijalne koronarne arterije u postupku fibrinolize ili primarne perkutane koronarne intervencije.

Još prije 20 godina Trip i sur su prvi izvjestili o prognostičkoj važnosti reaktivnosti trombocita (95). Veća reaktivnost trombocita kod prezentacije (engl. *baseline platelet reactivity*) bolesnika sa akutnim STEMI povezana je sa slabijim uspjehom reperfuzije miokarda nakon primarne PCI koja je bila kvantificirana angiografski kao stupanj imbibicije miokarda kontrastom (MBG, engl. *myocardial blush grade*) i elektrokardiografski kao stupanj rezolucije ST spojnice u kontrolnom EKG-u. Također je nađena povezanost s većim oštećenjem sistoličke funkcije lijevog ventrikula kao i povećanom učestalosti neželjenih kardiovaskularnih događaja (kardiovaskularna smrt, ponovni infarkt miokarda, ponovna revaskularizacija ciljane koronarne arterije) u dugoročnom praćenju ovih bolesnika (96). Frossard i sur našli su da pojačana reaktivnost trombocita mjerena metodom PFA-100[®] u bolesnika sa STEMI dobro korelira s težinom nekroze miokarda procijenjene vršnim vrijednostima srčanog troponina T i CK-MB (90).

Dok je visoka bazalna reaktivnost trombocita kod bolesnika sa STEMI bila povezana s čak 11 puta većim rizikom od nepovoljnog dugoročnog kliničkog ishoda (kardiovaskularna smrt, ponovni infarkt, ponovna revaskularizacija ciljane arterije), reaktivnost trombocita izmjerena prije njihovog otpusta iz bolnice (7±3 dana nakon hospitalizacije) nije imala utjecaja na njihovu prognozu (97). Za razliku od bolesnika sa STEMI, Gurbel i sur su u PREPARE POST-STENTING studiji našli da reaktivnost trombocita izmjerena u vrijeme otpusta (minimalno 24 h nakon postupka) jasno korelira s

kliničkim ishodom u bolesnika sa stabilnom koronarnom bolesti koji su liječeni elektivnom perkutanom koronarnom intervencijom (98).

1.5. Otpornost na antitrombocitne lijekove

Zbog središnje uloge trombocita u patofiziologiji akutnog koronarnog sindroma, znatna korist od antitrombocitnog liječenja ovih bolesnika je i očekivana. Međutim, usprkos njihovoj primjeni, oko 15% bolesnika s koronarnom bolesti srca razvit će neki od nepovoljnih kardiovaskularnih događaja za koje se drži da su većinom uzrokovani aterotrombozom: infarkt miokarda, moždani udar, kardiovaskularna smrt ili pogoršanje ishemijske miokarda koja zahtjeva ponovnu hospitalizaciju i neki od revaskularizacijskih postupaka. Ako je pored koronarnih arterija ateroskleroza istovremeno zahvatila karotide i arterije donjih ekstremiteta, učestalost takvog ishoda iznosi gotovo 30% (99). Ovakav terapijski "neuspjeh" doveo je nastanka koncepta otpornosti ili rezistencije na antitrombocitne lijekove.

Obzirom da je ateroskleroza složeni multifaktorijalni proces, nije za očekivati da ćemo kontrolom jednog, pa makar i ključnog segmenta kao što je agregacija trombocita uspjeti u cijelosti spriječiti njene komplikacije. Sličnu paralelu možemo povući s primjenom lijekova u liječenju arterijske hipertenzije ili hiperlipidemije. Međutim, dok učinak statina i antihipertenziva rutinski provjeravamo mjerenjem serumske koncentracije lipida i krvnog tlaka te prema tome mijenjamo dozu ili vrstu lijeka, to nije slučaj kod primjene antitrombocitnih lijekova. Paradoks je tim veći pošto je dokazana značajna razlika u individualnom odgovoru trombocita na uobičajene doze ASK, klopidogrela pa čak i blokatora glikoproteinskih IIb/IIIa receptora (100-102). Kao i drugi biološki sustavi koji su definirani poligenim i okolišnim čimbenicima, reaktivnost trombocita i odgovor na antitrombocitno liječenje pokazuju normalnu distribuciju s pojedincima na oba kraja krivulje koji su potencijalno skloniji dijametralno suprotnim komplikacijama ateroskleroze i njenog liječenja - trombozi i krvarenju (103).

1.5.1. Otpornost na acetilsalicilnu kiselinu

Pod pojmom otpornosti ili rezistencije na ASK više ne podrazumijevamo "neuspjeh" ovog lijeka u prevenciji trombotskih vaskularnih komplikacija (opsolna epidemiološka definicija) (104). Naravno da ovakva «neučinkovitost» nije osobitost liječenja ASK, već je svakodnevno vidimo i uz primjenu drugih lijekova poput hipolipemika ili antihipertenziva. Brojni su razlozi neuspjeha u liječenju ovih bolesnika koji se ne mogu spriječiti antitrombocitnim učinkom ASK, poput povećane potrošnje kisika u miokardu,

vazospazma, embolije sadržaja aterosklerotskog plaka, disekcije koronarne arterije ili aorte, vaskulitisa, embolije u endokarditisu aortalne valvule, paradoksalne embolije i sl. Aspirinskom rezistencijom danas u pravilu označavamo pojavu slabijeg antitrombocitnog učinka izmjerenog laboratorijskim testovima funkcije trombocita (biološka definicija aspirinske rezistencije), iako se otpornost na ASK u najužem značenju odnosi na dokaz nepotpune blokade COX-1 i posljedično očuvane sinteze TXA₂ u trombocitima bolesnika liječenih ASK-om (farmakološka definicija aspirinske rezistencije). Umjesto naziva aspirinska rezistencija, u literaturi se sve više koriste nazivi: neosjetljivost na ASK (engl. *aspirin non-responsiveness*), slabija osjetljivost na ASK (engl. *aspirin hyporesponsiveness*), visoka poslijeterapijska ili rezidualna reaktivnost trombocita (engl. *high post-treatment/residual platelet reactivity*) i povećana reaktivnost trombocita usprkos terapiji (engl. *elevated platelet reactivity despite treatment*) (105). Iako je aspirinska rezistencija opširno proučavana, još uvijek nedostaju precizna definicija, formalni dijagnostički kriteriji i jasan stav prema ovoj pojavi u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

1.5.1.1. Učestalost otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu

Upravo zbog nedostataka općeprihvaćene definicije, kao i različitih laboratorijskih metoda kojima se mjeri jačina antitrombocitnog učinka ASK, objavljena učestalost aspirinske rezistencije u literaturi vrlo varira i kreće se od 5-60%. Najmanja učestalost nađena je primjenom svijetlosne agregometrije nakon dodatka arahidonske kiseline, dok je najveća izmjerena korištenjem manje specifične metode PFA-100® (106). Prosječno je 28% bolesnika liječenih ASK-om slabije osjetljivo na njezin antitrombocitni učinak (100). Veliki raspon objavljene učestalosti aspirinske rezistencije moguće je objasniti nizom razloga: različitim definicijama granice normalnog antitrombocitnog učinka, različitim populacijama ispitanika (stabilna koronarna bolest, akutni koronarni sindrom), različitim laboratorijskim metodama i/ili vrstama i koncentracijama agonista agregacije trombocita koji su korišteni u ovim testovima.

1.5.1.2. Laboratorijske metode u dijagnosticiranju otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu

Iako su u početku korišteni u dijagnosticiranju bolesnika s hemoragijskom dijatezom, testovi funkcije trombocita svoju primjenu danas sve više nalaze u ispitivanju jačine antitrombocitne terapije. Dvije su osnovne skupine metoda za mjerenje jačine antitrombocitnog učinka ASK:

1. *Biokemijske metode* koje mjere preostalu aktivnost njenog farmakološkog cilja, tj. ispituju postignuti stupanj inhibicije COX-1 mjereći metabolite TXA₂ u serumu ili urinu.
2. *Funkcijske metode* koje mjere učinak ASK «distalno» od njenog farmakološkog cilja, tj. ispituju preostalu agregacijsku sposobnost trombocita nakon davanja lijeka. U ovim testovima preporučljivo je koristiti arahidonsku kiselinu jer je ona specifični agonist agregacije trombocita ovisne o COX-1, koja je upravo i meta farmakološkog učinka ASK.

Desetak je različitih metoda kojima se mjeri antitrombocitni učinak ASK od kojih neke još nisu dovoljno validirane (107). Nažalost, nije nađena zadovoljavajuća podudarnost između rezultata dobivenih najčešće korištenim metodama u otkrivanju aspirinske rezistencije (svijetlosna agregometrija, PFA-100[®], VerifyNow-Aspirin[®], 11-dehidrotromboksan B₂ u urinu) (108). Ovo je na neki način i očekivano uzme li se u obzir složenost višestrukih putova aktivacije trombocita koju svaki test funkcije promatra sa svog aspekta.

Svijetlosna ili optička agregometrija (LTA, engl. *light transmittance aggregometry*) još uvijek se smatra metodom “zlatnog standarda” u testiranju funkcije trombocita pa je i najčešće korištena u studijama aspirinske rezistencije (109). Temelji se na mjerenju porasta propusnosti za svjetlo suspenzije posebno pripremljene plazme bogate trombocitima (PRP, engl. *platelet-rich plasma*) do čega dolazi nakon dodatka agonista agregacije koji uzrokuje taloženje trombocita u obliku agregata. Jačina agregacije trombocita izračunava se kao maksimalni postotak porasta u propuštanju svjetla u odnosu na bazalnu vrijednost, koristeći plazmu bogatu trombocitima kao referentni uzorak (turbidimetrijska metoda prema Bornu).

Kao agonisti agregacije koriste se adenzin difosfat (ADP), adrenalin, kolagen ili trombin. Ipak, za testiranje antitrombocitnog učinka ASK najspecifičnijim agonistom smatra se arahidonska kiselina (AA) pošto potiče agregaciju trombocita upravo putem enzima COX-1. Međutim, svjetlosna agregometrija ima niz nedostataka: dugo traje, zahtjeva iskusnog laboranta, a složenom pripremom uzorka izdvajaju se prirodni sastojci krvi poput eritrocita, neutrofila i monocita čime se isključuje njihov doprinos agregaciji trombocita u ispitivanom uzorku.

VerifyNow-Aspirin[®] (Accumetrics Inc., San Diego, CA, USA) je metoda uz postelju bolesnika (POC, engl. *point-of-care*) koja poput svjetlosne agregometrije mjeri veličinu agregacije trombocita lumiagregacijski. Dodatak pune krvi u testnu kazetu u kojoj se nalaze fibrinogenom obložene mikročestice i AA kao agonist agregacije trombocita dovest će do aglutinacije ovih mikročestica. Proporcionalno jačini agregacije u

ispitivanom uzorku raste njegova propusnost za prolaz svjetlosti, koju uređaj mjeri i izražava u jedinicama aspirinske reakcije (ARU, engl. *aspirin reaction units*) (110).

Platelet function analyzer[®] (PFA-100[®], Siemens Healthcare Diagnostics, Inc., Deerfield, IL, USA) jedina je laboratorijska metoda koja u testiranju funkcije trombocita oponaša snažne sile smicanja kojima su trombociti prirodno izloženi u struji krvi na mjestu ozljede endotela (111). Ovom metodom uz krevet bolesnika mjerimo tzv. vrijeme zatvaranja (CT, engl. *closure time*) koje je potrebno da nastane okluzivni trombocitni čep na mikroskopskom otvoru (150 μm) membrane jednokratne kazete obložene mješavinom agonista agregacije: kolagena i adrenalina (CEPI) ili kolagena i ADP (CADP). Za ispitivanje antitrombocitnog učinka ASK koriste se kazete s kolagenom i adrenalinom iako niti jedan od ovih agonista nije specifičan za COX-1 zbog čega se PFA-100[®] ubraja u manje specifične metode za ispitivanje osjetljivosti na antitrombocitni učinak ASK. Za razliku od svjetlosne agregometrije, ova metoda je jednostavna za uporabu, vrijeme analize je kratko i dovoljan je vrlo mali uzorak pune krvi. Nedostatci su skupoća, te ovisnost rezultata o hematokritu i koncentraciji vWF u plazmi.

Tromboksan B₂ u serumu i 11-dehidrotromboksan B₂ u urinu. Metodama ELISA (engl. *enzyme linked immunosorbent assay*) i tekućinskom kromatografijom visoke djelotvornosti (HPLC, engl. *high pressure liquid chromatography*) možemo izmjeriti količinu tromboksana B₂ u serumu (TXB₂) ili njegovog metabolita 11-dehidrotromboksana B₂ u urinu (dTXB₂) (107). Navedeni spojevi posljedice su razgradnje tromboksana A₂ i tako su odraz aktivnosti enzima COX-1. Međutim, niti ove metode nisu sasvim specifične za mjerenje antitrombocitnog učinka ASK jer ne razlikuju metabolite TXA₂ nastale aktivnošću COX-1 u trombocitima od drugih staničnih izvora. Također, nemoguće je razlikovati metabolite TXA₂ koji su nastali djelovanjem enzima ciklooksigenaze-2 koja je za razliku od COX-1 slabo osjetljiva na uobičajene doze ASK. Osim toga, izmjerena koncentracija 11-dehidrotromboksana B₂ u urinu znatno ovisi o ekskrecijskoj funkciji bubrega što dodatno opterećuje interpretaciju dobivenih rezultata. Prednosti ove metode su neinvazivnost prikupljanja urina u odnosu na vađenje krvi i mogućnost dugotrajnog pohranjivanja uzoraka do trenutka testiranja.

Impedancijska agregometrija (engl. *impedance aggregometry*) mjeri porast otpora prolazu struje između dviju elektroda uronjenih u uzorak pune krvi (engl. *whole blood aggregometry*) nakon dodatka AA u koncentraciji 1.6 mM (ChronoLog Aggregometer 560, PA, USA) (112).

Multiple platelet function analyzer[®] (Multiplate[®] ASPI-test, Dynabyte medical, Munich, GER) novija je metoda uz krevet bolesnika koja mjeri antitrombocitni učinak ASK također na principu impedancije, tj. mjeri promjenu otpora u provođenju struje između

dvije elektrode uronjene u uzorak pune krvi nakon dodatka AA što uzrokuje agregaciju trombocita, koji ljepeći se na površinu elektroda povećavaju njihov otpor. Prednost ove metode je u jednostavnosti i automatiziranosti postupka te u činjenici da može mjeriti agregaciju trombocita istovremeno u pet uzoraka (MEA, engl. *multiplate electrode aggregometry*) (113, 114).

Granične vrijednosti za postavljanje dijagnoze otpornosti na ASK razlikuju se ponešto ovisno o studiji, odnosno o njihovim autorima (tablica 1). Nažalost ROC analiza (engl. *receiver operator curve*) nije dokazala da navedene granice ovih laboratorijskih mjerenja predstavljaju ujedno i prag povećanog kliničkog rizika od budućih trombotskih komplikacija.

| Metoda | Agonist agregacije | Granica otpornosti | Reference |
|------------------------------------|----------------------------|---|--------------------|
| LTA (svijetlosna agregometrija) | AA 0.5 mg/mL | ≥ 20% | 135, 146 |
| | AA 0.5 mg/mL | > 75 ^{te} percentile agregacije (najviša kvartila agregacije) | 136, 153 |
| | ADP 5 μmol/L | ≥ 70% | 146 |
| | ADP 10 μmol/L | ≥ 70% | 135 |
| VerifyNow Aspirin™ | AA | ≥ 550 ARU | 138, 144, 146, 147 |
| PFA-100® | Kolagen i adrenalin (CEPI) | < 165 s | 148 |
| | | < 186 s | 141 |
| | | <190 s | 151, 154 |
| | | ≤ 193 s | 150 |
| | | < 203 s | 139 |
| 11-DTXB ₂ u urinu | - | > 75 ^{te} percentile konc. 11-dehidrotromboksana B2 u urinu (najviša kvartila koncentracije) | 134 |

Tablica 1. Najčešće laboratorijske metode i kriteriji korišteni za dijagnosticiranje otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu

1.5.1.3. Uzroci otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu

Slabija osjetljivost trombocita na ASK češća je u bolestima kardiovaskularnog sustava ali i u stanjima koja povećavaju rizik od njihove pojave poput starosti, pretilosti, pušenja i šećerne bolesti (110, 115-118). U tablici 2. navedena su stanja koja povećavaju rizik od pojave aspirinske rezistencije.

Akutni koronarni sindrom
Stabilna koronarna bolest
Šećerna bolest
Pretilost
Starija dob
Pušenje
Hiperkolesterolemija

Tablica 2. Najčešća stanja povezana s većom učestalosti otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu

Ne postoji samo jedan uzrok suboptimalne antiagregacijske učinkovitosti ASK. Prema mehanizmu nastanka, aspirinska rezistencija može biti farmakodinamička, farmakokinetička ili tzv. pseudorezistencija (tablica 3).

Farmakodinamička aspirinska rezistencija posljedica je promijena na samom cilju djelovanja ASK, dakle na molekuli COX-1. Nesteroidni antireumatici (NSAR) poput ibuprofena ili indometacina natječu se s ASK za isto vezno mjesto na ovom enzimu čime sprječavaju ireverzibilno vezanje ASK i tako slabe njezin antiagregacijski učinak. Diklofenak i paracetamol imaju prednost pred ostalim NSAR jer ne interferiraju s djelovanjem ASK (119). Nasljedna promjena farmakološkog cilja prisutna je kod nekih polimorfizama gena za COX-1 (120).

Dodatno davanje ASK testiranom uzorku krvi u ovim slučajevima neće pojačati njezin antiagregacijski učinak (121).

Farmakokinetička aspirinska rezistencija posljedica je smanjene dostupnosti ASK na mjestu djelovanja, tj. nedostatne količine lijeka u cirkulaciji. Ovo se javlja kod neredovitog i/ili nedostatnog doziranja, smanjene apsorpcije kao kod uporabe tableta koje se otapaju u tankom crijevu (engl. *enteric-coated*) ili u stanjima pojačanog stvaranja novih i hiperaktivnih trombocita čija se COX-1 jednostavno ne stigne blokirati uobičajenim jednokratnim doziranjem lijeka (122, 123). Naime, jednokratno davanje ASK čije je poluvrijeme života u plazmi ($t_{1/2}$) svega 15-20 min nedovoljno je da bi uspjelo inhibirati nove trombocite koji se u takvim stanjima ubrzano oslobađaju u cirkulirajuću krv

(56). Bioraspoloživost lijeka u uobičajenom doziranju obrnuto je proporcionalna starosti i tjelesnoj težini bolesnika, a smanjuje je istovremena primjena inhibitora protonske pumpe zbog lošije apsorpcije odnosno pojačane inaktivacije ASK pomoću esteraza gastrointestinalne sluznice. Dodatno davanje ASK uzorcima krvi kod ovih mehanizama aspirinske rezistencije trebalo bi dovesti do poboljšanja antiagregacijskog učinka u testovima funkcije trombocita (121, 124).

Pseudorezistencijom označavamo ona stanja gdje slabiji antiagregacijski učinak ASK nije uzrokovan mehanizmima koji ovise o njenom farmakološkom cilju, tj. o COX-1. Ovo se događa u stanjima ubrzanog obrtaja trombocita, npr. nakon operacija poput aortokoronarnog premoštenja, krvarenja, u infekcijama ili upalnim bolestima u kojima se povećava broj nezrelih trombocita i koje zbog velike količine COX-2 ne uspjevamo adekvatno inhibirati uobičajenim dozama ASK (125). Izvor znatne sinteze TXA₂ može biti i izvan trombocita zahvaljujući aktivnosti COX-2 u monocitima/makrofazima i endotelu. Ovakav način sinteze potiču proupalne molekule što je osobito važno u stanjima pojačane upalne aktivnosti u nestabilnom aterosklerotskom plaku (126).

Tzv. transcelularnim metabolizmom trombociti su u stanju sintetizirati znatne količine TXA₂ usprkos potpunoj blokadi njihove COX-1. Naime, stanice poput endotelnih ili monocita/makrofaga zbog intaktne aktivnosti COX-2 nastavljaju sintezu prostaglandina H₂ i njime opskrbljuju susjedne trombocite koji ga u nastavku pretvaraju u TXA₂ pomoću enzima tromboksan-sintaze koji je neosjetljiv na ASK (127). Zauzvrat, aktivirani trombociti mehanizmom pozitivne povratne sprege pojačavaju ekspresiju gena za COX-2 u leukocitima i endotelnim stanicama stimulirajućih ih tako na dodatnu sintezu PGH₂. U mehanizme pseudorezistencije ubrajamo i stimulirajući učinak eritrocita u policitozi, te učinak proizvoda oksidativnog stresa poput molekula 8-isoprostana i lipidnih peroksida čija se sinteza pojačava u šećernoj bolesti, hiperkolesterolemiji, pušenju i srčanom popuštanju (128-132). Izoprostani su molekule nalik prostaglandinu F₂ i imaju sposobnost izravnog vezanja i aktiviranja tromboksanskih receptora. ASK na njih nema učinka pošto su ovi procesi neovisni o aktivnosti COX-1.

Drži se da je jedan od važnijih iako često neprepoznatih uzroka aspirinske rezistencije nesuradljivost bolesnika (engl. *non-compliance*) u svakodnevnom uzimanju lijeka. Na ovo osobito utječe potreba istovremenog uzimanja više lijekova, nuspojave liječenja a nerijetko i nedovoljna obaviještenost bolesnika o razlozima trajnog propisivanja ASK (133).

| Mehanizam otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu | Uzroci | Pristup bolesniku |
|--|--|---|
| FARMAKODINAMIČKI | <ol style="list-style-type: none"> 1. Polimorfizam gena za COX-1 2. Istovremena terapija NSAR-om (ibuprofen, indometacin ...) | <ol style="list-style-type: none"> 1. Alternativni antitrombocitni lijek ? 2. Izbjegavanje NSAR ili alternativni NSAR (diklofenak, paracetamol) |
| FARMAKOKINETIČKI | <ol style="list-style-type: none"> 1. Nedovoljno doziranje ASK 2. Slabija apsorpcija lijeka 3. Ubrzano stvaranje novih trombocita (operacije, infekcije, upalna stanja ...) | <ol style="list-style-type: none"> 1. Povećanje dnevne doze ASK 2. Zamjena <i>enteric-coated s</i> običnom formulacijom ASK 3. Izbjegavanje inhibitora protonske pumpe 4. Doziranje ASK u više dnevnih doza ? |
| PSEUDOREZISTENCIJA | <ol style="list-style-type: none"> 1. Ubrzano stvaranje novih trombocita bogatih COX-2 enzimom (operacije, infekcije, upalna stanja ...) 2. Izvantrombocitni izvori sinteze tromboxana A₂ (upala) 3. Transcelularna sinteza tromboxana A₂ (upala) | <ol style="list-style-type: none"> 1. Alternativni antitrombocitni lijek ? 2. Povećanje dnevne doze ASK ? 3. Liječenje osnovne bolesti (infekcija, upala ...) |
| OSTALO | <ol style="list-style-type: none"> 1. Neredovito uzimanje lijeka zbog nedostatka suradljivosti bolesnika (<i>non-compliance</i>) | <ol style="list-style-type: none"> 1. Povećati obavještenost bolesnika o potrebi redovitog uzimanja lijeka |

Tablica 3. Mehanizmi nastanka otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu

Prema preporuci Radne skupine za trombozu Europskog kardiološkog društva, u ispitivanju jačine antitrombotičnog učinka ASK trebalo bi koristiti COX-1 specifične testove poput agregometrije nakon dodatka arahidonske kiseline ili mjeriti metabolite TXA₂ u serumu ili urinu. Nalaz suboptimalnog antitrombotičnog učinka trebalo bi prema ovim autorima označiti kao “visoka reaktivnost trombocita usprkos liječenju” (engl. *elevated platelet reactivity despite treatment*), a dodavanje ASK *in vitro* uzorku krvi pomoglo bi razlikovati farmakodinamičke od farmakokinetičkih uzroka ove pojave. Dijagnoza aspirinske rezistencije u pravilu bi se smjela postaviti samo u slučaju perzistiranja suboptimalnog antitrombotičnog učinka i nakon dodavanja ASK (105). Međutim, navedene preporuke nisu zaživjele u svakodnevnoj praksi.

1.5.1.4. Studije kliničke važnosti otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu

Relativno je veliki broj kliničkih studija koje su ispitivale povezanost slabijeg antitrombotičnog učinka ASK i prognoze kardiovaskularnih bolesnika liječenih ovih lijekovima. Nedostatak većine ovih studija je relativno mali broj ispitanika, a time i mali broj tzv. velikih nepovoljnih kardiovaskularnih događaja (MACE, engl. *major adverse cardiovascular events*) u njihovu praćenju, što otežava donošenje čvrstih zaključaka o kliničkom značenju ove “laboratorijske” pojave. Dodatne probleme u interpretaciji rezultata predstavlja i činjenica da se aspirinska rezistencija češće javlja u šećernoj bolesti, arterijskoj hipertenziji ili kod pušača što samo po sebi povećava kardiovaskularni rizik, ali i nedostatak sigurnog načina provjere suradljivosti bolesnika u uzimanju ASK kao jednog od mogućih razloga lošijeg antitrombotičnog učinka. Relativno brojne studije aspirinske rezistencije pokazale su da je suboptimalni antiagregacijski učinak povezan s nepovoljnim kliničkim ishodom, iako je malo onih prospektivnog tipa koje su uključile više od 100 ispitanika (tablica 4).

U podstudiji poznate HOPE studije (engl. *Heart Outcomes Prevention Evaluation*), Eikelboom i sur su našli da bolesnici visokog kardiovaskularnog rizika svrstani u gornju kvartilu prema koncentraciji 11-dehidro-tromboksana B₂ u urinu, dakle oni kod kojih je ASK najslabije inhibirala sintezu TXA₂ pokazuju 1.8 puta veći rizik od infarkta miokarda, moždanog udara ili kardiovaskularne smrti u odnosu na bolesnike u najnižoj kvartilu (134). Slabiji antitrombotični učinak ASK mjeren metodom svjetlosne agregometrije kod bolesnika sa stabilnom koronarnom bolesti bio je u studiji Guma i sur povezan sa značajno većom učestalosti nepovoljnih kardiovaskularnih događaja u odnosu na bolesnike s povoljnim antiagregacijskim statusom (24% vs. 10%) (135). Slične rezultate objavili su Ohmori i sur mjereći jačinu antitrombotičnog odgovora na standardnu terapiju ASK pomoću svjetlosne agregometrije i određivanjem veličine trombotičnih agregata, te

su našli da oni u gornjoj kvartili agregacije i s velikim trombocitnim agregatima imaju čak 8 puta veći rizik od kasnije pojave infarkta miokarda, moždanog udara ili kardiovaskularne smrti (136). Također, bolesnici koji su nakon angioplastike iliofemoralnih arterija pokazali slabiji antiagregacijski odgovor na ASK imali su za čak 87% veći rizik od ponovne okluzije dilatirane arterije (137). Slabiji antiagregacijski učinak ASK izmjeren metodom VerifyNow-Aspirin® bio je povezan sa značajno većim porastom serumskih markera mionekroze nakon elektivne PCI (138). Prognostičku važnost aspirinske rezistencije u bolesnika s akutnim infarktom miokarda dokazali su Marcucci i sur, koji su antiagregacijski učinak određivali metodom PFA-100® unutar 12-15 h od primarne PCI. Oni sa slabijim odgovorom na ASK imali su gotovo trostruko više nepovoljnih kardiovaskularnih događaja tijekom jedne godine praćenja (139). Mjereći veličinu agregacije trima različitim metodama, Poston i sur su našli da slabiji antitrombocitni učinak ASK donosi povećani rizik od rane tromboze venskih prenosnica poslije operacije aorto-koronarnog premoštenja (140). Za razliku od prethodnih studija, Pamukcu i sur nisu uspjeli dokazati da je aspirinska rezistencija mjerena metodom PFA-100® imala utjecaj na klinički ishod kod 234 bolesnika sa stabilnom koronarnom bolesti tijekom višemjesečnog praćenja (141).

| Studija | Osobine ispitanika | Broj ispitanika | Metode za otkrivanje osjetljivosti na ASK | Rezultati |
|-----------------------|---|-----------------|---|--|
| Eikelboom i sur (134) | Bolesnici visokog kardiovaskularnog rizika liječeni ASK u dozi 75-325 mg dnevno. Polovica ispitanika imala je infarkt miokarda, CVI ili kardiovaskularnu smrt (slučajevi), a druga polovica bolesnika nije imala nijedan od ovih ishoda (dobno i spolno odgovarajuće kontrole). | 976 | Mjerali su 11-dehidrotromboksana B ₂ u mokraći. Rezistencija na aspirin definirana je kao najviša kvartila koncentracije 11-dehidrotromboksana B ₂ u mokraći. | Ispitanici su praćeni preko 5 godina. Incidencija kombiniranog ishoda rasla je sa svakom kvartilom koncentracije 11-DTXB ₂ u mokraći (p=0.009). Kvartila najviše koncentracije (rezistentni na ASK) imala je 2 puta veći rizik od IM (p=0.06) i 3.5 puta veći rizik od kardiovaskularne smrti (p<0.001) u odnosu na kvartilu najniže koncentracije. Nije postojala korelacija s rizikom od CVI. |
| Gum i sur (135) | Bolesnici sa stabilnom koronarnom bolesti liječeni ASK u dozi 325 mg dnevno. | 326 | Aspirinska rezistencija mjerena je LTA i definirana kao agregacija trombocita: <ul style="list-style-type: none"> • ≥ 70% s 10 μM ADP, • ≥ 20% s 0.5 mg/mL AA | Srednje vrijeme praćenja trajalo je 1.8 godina. Čak 24% rezistentnih na ASK je doživjelo kombinirani ishod (kardiovaskularna smrt, IM, CVI) prema samo 10% ispitanika s normalnim odgovorom na ASK (p=0.03). Nije bilo značajne korelacije sa svakom pojedinačnom komponentom ovog ishoda. |
| Ohmori i sur (136) | Bolesnici sa stabilnom kardiovaskularnom bolesti. | 136 | Aspirinska rezistencija definirana je kao gornja kvartila agregacije mjerene pomoću LTA. | Ispitanici su praćeni 12 mjeseci. Bolesnici u gornjoj kvartili agregacije (rezistentni) imali su 7.76 puta veći rizik od IM, CVI ili kardiovaskularne smrti (p=0.008). |

| | | | | |
|----------------------|---|-----|--|---|
| Mueller i sur (137) | Bolesnici s bolesti perifernih arterija nakon elektivne perkutane transluminalne angioplastike ilio-femoralnih arterija na terapiji od 100 mg ASK dnevno. | 96 | Impedancijska agregometrija. | Bolesnici rezistentni na ASK imali su za 87% češću ponovnu okluziju arterije nakon PTA u usporedbi s onima osjetljivima na njezin učinak. |
| Chen i sur (138) | Bolesnici liječeni elektivnom perkutanom koronarnom intervencijom (PCI) i ASK u dozi 80-320 mg. | 151 | Aspirinska rezistencija definirana je kao ≥ 550 ARU u VerifyNow™ Aspirin. | Aspirin rezistentni bolesnici imali su 2.9 puta češći porast serumskih markera mionekroze nakon PCI. U 51.7% aspirin rezistentnih bolesnika došlo je do porasta CK-MB u usporedbi s 24.6% osjetljivih na ASK. U 65.5% aspirin rezistentnih ispitanika došlo je do porasta cTnI u usporedbi s 38.5% osjetljivih na učinak ASK ($p=0.012$). |
| Marcucci i sur (139) | Bolesnici s akutnim infarktom miokarda liječenih perkutanom koronarnom intervencijom. | 146 | Aspirinska rezistencija ispitana je 12-15 h nakon PCI metodom PFA-100® i definirana kao CEPI-CT < 203 s. | Aspirin rezistentni bolesnici imali su 2.9 puta veći rizik od kasnije pojave nepovoljnih kardiovaskularnih događaja (smrt, IM, ponovna revaskularizacija ciljane arterije) u odnosu na aspirin osjetljive bolesnike ($p<0.05$). |
| Poston i sur (140) | Bolesnici koji su liječeni "off-pump" aortokoronarnim premoštenjem (CABG) i ASK u dozi 325 mg. | 225 | Aspirinska rezistencija definirana je u slučaju pozitivnog nalaza barem 2 od 3 testa: 1. tromboelastografija 2. impedancijska agregometrija (kolagen) 3. 11-DTXB ₂ | Praćeni su tijekom 30 dana. Rano zatvaranje venskih graftova nakon CABG bilo je povezano s nalazom aspirinske rezistencije (45% rezistentnih bolesnika među onima s okluzijom venskih premosnica vs. 20% rezistentnih među onima s prohodnim venskim premosnicama, $p<0.05$). |
| Pamukcu i sur (141) | Bolesnici sa stabilnom koronarnom bolesti liječeni s ASK u dozi 100-300 mg dnevno. | 234 | Aspirinska rezistencija definirana je kao CEPI-CT < 186 s mjereno metodom PFA-100®. | Vrijeme praćenja iznosilo je 20.6 ± 6.9 mjeseci. Nije bilo razlike u učestalosti nepovoljnih kardiovaskularnih događaja (15.4% u aspirin rezistentnih bolesnika vs. 11.0% aspirin osjetljivih bolesnika; $p=0.269$). |
| Chen i sur (144) | Bolesnici sa stabilnom koronarnom bolesti liječeni ASK u dozi 81-325 mg dnevno. | 468 | Aspirinska rezistencija mjerena je metodom VerifyNow™ Aspirin i definirana kao ≥ 550 ARU. | Vrijeme praćenja trajalo je 379 ± 200 dana. Rezistentni bolesnici su češće imali nepovoljan ishod (kardiovaskularna smrt, IM, TIA, CVI ili nestabilna angina) (15.6% vs. 5.3 %, HR=3.12; $p<0.001$). |
| Zhang i sur (145) | Bolesnici sa stabilnom koronarnom bolesti liječeni elektivnom PCI i ASK u dozi od 100 mg dnevno. | 256 | | Aspirin rezistentni bolesnici imali su znatno češću postproceduralnu mionekrozu definiranu kao porast CK-MB ili cTnI (OR=2.5). |
| Lev i sur (146) | Bolesnici liječeni elektivnom PCI i ASK u dozi od 81-325 mg dnevno. | 150 | Aspirinska rezistencija definirana je postojanjem minimalno 2 od 3 kriterija: 1. VerifyNow™ Aspirin ≥ 550 ARU 2. LTA s $5 \mu\text{mol/L}$ ADP $\geq 70\%$ agregacije 3. LTA s AA 0.5 mg/mL $\geq 20\%$ agregacije u | Bolesnici koji su bili rezistentni na ASK imali su znatno češći postproceduralni porast CK-MB u odnosu na one osjetljive na učinak ASK (38.9% vs. 18.3%, $p=0.04$). |

| | | | | |
|---------------------------|---|---|--|--|
| Pinto Slottow i sur (147) | Bolesnici kojima je prije ≥ 18 mjeseci ugrađen stent koji izlučuje lijek (DES). Prvu skupinu čine 26 bolesnika koji su preživjeli trombozu u stentu a drugu skupinu čini 21 bolesnik koji nisu imali trombozu tijekom praćenja od ≥ 18 mjeseci nakon PCI. | 47 | Aspirinska rezistencija definirana je kao ≥ 550 ARU u VerifyNow™ Aspirin. U drugoj skupini bolesnika agregacija je mjerena prosječno 402 dana nakon tromboze u stentu. | Učestalost aspirinske rezistencije nije se razlikovala između bolesnika s i bez preboljele tromboze u DES-u (23% vs. 5%, p=NS). Međutim, srednji broj ARU bio je viši u bolesnika koji su doživjeli trombozu u stentu u odnosu na kontrolnu skupinu. |
| Grundmann (148) | Bolesnici koji su preboljeli cerebralnu ishemiju i liječe se ASK u dozi 100 mg dnevno. | 53 (18 nije imalo recidiv cerebralne ishemije, 35 bolesnika ponovno je razvilo cerebralnu ishemiju) | Aspirinska rezistencija definirana je kao CEPI-CT < 165 s mjereno metodom PFA-100®. | Među bolesnicima koji su uz terapiju ASK ponovili cerebrovaskularni incident bilo je 34% aspirin rezistentnih, dok među onima bez novih incidenata nije bilo aspirin rezistentnih (p=0.0006). |
| Buchanan i sur (149) | Bolesnici nakon operacije aortokoronarnog premoštenja. | 289 | Vrijeme krvarenja. | Vrijeme praćenja 2 godine. Nije bilo značajne razlike u učestalosti nepovoljnih kardiovaskularnih događaja između rezistentnih i osjetljivih na učinak ASK (9.5% vs. 6.9%, p=0.526). |
| Yilmaz i sur (150) | Bolesnici nakon operacije CABG. | 28 | Aspirinska rezistencija definirana je kao CEPI-CT ≤ 193 s mjereno metodom PFA-100®. | Vrijeme proteklo od operacije CABG iznosilo je 6.5 ± 2.5 godine. U skupini sa zatvorenim prenosnicom bilo je 50% rezistentnih na ASK, dok je u skupini s prohodnim prenosnicama ova učestalost bila znatno manja (7.1%, p=0.033). |
| Gianetti i sur (151) | Bolesnici sa stabilnom koronarnom bolesti ili akutnim koronarnim sindromom (NSTEMI i STE) liječeni PCI. | 175 (94 sa stabilnom anginom, 73 s NSTEMI, 9 sa STEMI) | Odgovor na ASK mjereno je 30 ± 8 h nakon PCI metodom PFA-100® i aspirinska rezistencija definirana kod CEPI-CT < 190 s ili kao kvartila najslabijeg produženja CADP-CT (< 82 s). | Vrijeme praćenja 6 mjeseci. Bolesnici sa aspirinskom rezistencijom i prema CEPI-CT i CADP-CT imali su znatno veći rizik od pojave nepovoljnih kardiovaskularnih događaja (HR 8.5 i 22.9). |
| Pamukcu i sur (152) | Bolesnici s akutnim koronarnim sindromom (nestabilna angina, NSTEMI i STEMI) liječeni PCI. | 105 (41 s nestabilnom anginom, 31 s NSTEMI, 33 sa STEMI) | Aspirinska rezistencija mjerena je nakon PCI metodom PFA-100® i definirana kod CEPI-CT < 186 s. | Vrijeme praćenja 12 mjeseci. Bolesnici s aspirinskom rezistencijom imali su češće pojavu nepovoljnih kardiovaskularnih događaja u odnosu na aspirin-osjetljive (45% vs. 11.7%, p=0.001). |
| Cuisset i sur (153) | Bolesnici s akutnim koronarnim sindromom bez ST-elevacije liječenih PCI. | 106 | Aspirinska rezistencija mjerena je nakon uvođenja antitrombotične terapije i neposredno prije PCI pomoću LTA. Definirana je kao najviša kvartila agregacije nakon dodatka AA u konc. 0.5 mg/mL ($> 30\%$). | Vrijeme praćenja 1 mjesec. Rezistentni bolesnici su u odnosu na osjetljive (ostale tri kvartile agregacije) imali značajno češću pojavu nepovoljnih kardiovaskularnih događaja (OR=22.4). |
| Malek i sur (154) | Bolesnici s akutnim koronarnim sindromom liječenih PCI. | 91 (62 sa STEMI, 29 sa NSTEMI-ACS) | Aspirinska rezistencija mjerena je nakon PCI metodom PFA-100® i definirana kao kombinacija CEPI-CT < 190 s i CADP-CT < 104 s. | Rezistentni bolesnici imali su znatno češću pojavu nepovoljnih kardiovaskularnih događaja tijekom vrlo ranog post-PCI perioda (RR=9.0). Medijan praćena bolesnika iznosio je 6 dana (3-12 dana). |

Tablica 4. Studije otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu

Metaanalizom 20 studija aspirinske rezistencije, kojom je obuhvaćeno 2.930 kardiovaskularna bolesnika, Krasopoulos i sur našli su znatno povećan rizik od kardiovaskularne smrti, akutnog koronarnog sindroma, tromboze aorto-koronarnih prenosnica i cerebrovaskularnih događaja u bolesnika s lošijim antitrombocitnim učinkom ASK. Ukupni kardiovaskularni rizik ovih bolesnika bio je gotovo 4 puta veći (OR=3.85) (100). I nedavna metaanaliza 11 prospektivnih studija na gotovo 2 000 bolesnika sa stabilnom koronarnom bolesti i akutnim koronarnim sindromom liječenih perkutanom koronarnom intervencijom potvrdila je aspirinsku rezistenciju kao čimbenik nepovoljnog kliničkog ishoda neovisan o vrsti koronarne bolesti, trajanju praćenja, dozi ASK ili laboratorijskim metodama koje su korištene za mjerenje jačine antiagregacijskog učinka (142).

Ipak, zbog nepostojanja jedinstvene definicije aspirinske rezistencije i različitih metoda koje se koriste za njeno dijagnosticiranje, rezultati ovih studija još uvijek nisu doveli do općeg prihvaćanja aspirinske rezistencije kao klinički relevantne pojave.

Najvažnije pitanje glede kliničke implikacije varijabilnosti antitrombocitnog učinka ASK još uvijek je bez odgovora. Naime, nije jasno da li se modificiranjem antitrombocitne terapije s ciljem optimiziranja antiagregacijskog statusa bolesnika na krajevima Gausove krivulje može utjecati na njihov klinički ishod, tj. smanjiti učestalost trombotskih ili hemoragijskih komplikacija. Randomizirana studija 3T/2R provedena na 263 bolesnika liječenih elektivnom PCI, pokazala je da dodatak tirofibana uobičajenoj antiagregacijskoj terapiji bolesnicima s lošijim antitrombocitnim učinkom ASK i/ili klopidogrela značajno smanjuje učestalost periproceduralnog infarkta miokarda i velikih nepovoljnih kardiovaskularnih događaja (21.2% vs 36.6%, $p=0.0065$) (143).

1.5.1.5. Reaktivnost trombocita i otpornost na acetilsalicilnu kiselinu u bolesnika s infarktom miokarda

Visoka bazalna reaktivnost trombocita izmjerena svjetlosnom agregometrijom ili metodom PFA-100[®] u bolesnika sa STEMI povezana je s lošijim reperfuzijskim uspjehom primarne PCI, kao i povećanom sklonošću popuštanju lijeve klijetke odnosno češćom pojavom nepovoljnih kardiovaskularnih događaja (96). Campo i sur također su dokazali da je visoka bazalna reaktivnost trombocita povećala rizik od ponavljanja infarkta i potrebe za ponavljanom revaskularizacijom ciljne koronarne arterije (TVR, engl. *target vessel revascularisation*), kao i dugoročni mortalitet ovih bolesnika (97). U odnosu na bolesnike s NSTEMI, a osobito one sa stabilnom koronarnom bolesti, bolesnici sa STEMI imali su značajno slabiju osjetljivost trombocita na ASK (155).

Aspirinska rezistencija kod bolesnika liječenih s PCI u akutnom koronarnom sindromu bez ST-elevacije (NSTEMI-ACS) također je bila povezana s većim stupnjem mionekroze kao i većom učestalosti ponavljanja nepovoljnih kardiovaskularnih događaja u budućnosti (139, 156, 157).

1.5.1.6. Pristup bolesniku s aspirinskom rezistencijom

Tromboembolijske komplikacije kardiovaskularnih bolesti do kojih dolazi kod jednog dijela bolesnika usprkos redovitoj uporabi antiagregacijske terapije ne iznenađuju uzme li se u obzir složenost fiziologije trombocita kao i multifaktorijalna narav arterijske tromboze. Ovakva "neučinkovitost" u liječenju nije uvijek posljedica slabijeg antitrombotičnog učinka, te je potrebno misliti i na druge uzroke poput nekontrolirane upale u aterosklerotskom plaku, loše suradljivosti u uzimanju lijekova (engl. *non-compliance*), nedovoljne ekspanzije stenta ili neprepoznate disekcije arterije na mjestu perkutane koronarne intervencije (158-160).

Eksperti Europskog kardiološkog društva i Međunarodnog društva za trombozu i hemostazu drže nepotrebnim rutinski testirati antiagregacijski učinak ASK, kao i modificirati uobičajenu shemu antitrombotične terapije (161, 162). Za razliku od svojih kolega iz Europe, američki eksperti preporučuju povećanje dnevne doze ASK kod onih bolesnika kojima se nakon PCI dokaže otpornost na ASK iako nisu precizirali vrstu metode niti kriterije za njeno dijagnosticiranje (163). Riječ je o preporukama klase IIb i razine C, tj. iste se temelje na konsenzusu eksperata ali ne i na rezultatima randomiziranih kliničkih studija.

Obzirom na brojne mehanizme slabije osjetljivosti trombocita na antiagregacijski učinak ASK ne postoji jedinstveni terapijski pristup ovoj pojavi. Bolji antitrombotični učinak nerijetko možemo postići informiranjem bolesnika o potrebi redovitog uzimanja lijeka u primjerenom dozi, izbjegavanjem istovremenog uzimanja ASK i lijekova koji kompromitiraju njegovu farmakodinamiku ili farmakokinetiku (npr. umjesto ibuprofena ili indometacina bolesniku s reumatskim tegobama treba savjetovati uzimanje diklofenaka ili paracetamola; izbjegavati nepotrebno uzimanje inhibitora protonske pumpe). Suboptimalni učinak ASK mogao bi se popraviti redukcijom težine u pretilih osoba, prestankom pušenja, korekcijom hiperglikemije i hiperkolesterolemije, odnosno liječenjem srčanog popuštanja, upalnih procesa i infekcija. Snažniji antitrombotični učinak ASK često se može postići povećanjem njezine dnevne doze, osobito u bolesnika s akutnim koronarnim sindromom, nakon operacije aortokoronarnog premoštenja ili tijekom infekcija (164). Ipak, primjena visokih doza ASK nije bez rizika pa ovdje treba

racionalno postupiti uzimajući u obzir individualnu sklonost takvim nuspojavama, naročito onima sa strane gastrointestinalnog sustava (165, 166).

Zanimljivo je da bolesnici sa STEMI i slabijim antitrombocitnim učinkom ASK imaju visoku razinu ADP u krvi (155). Također, mnogi ispitanici sa stabilnom koronarnom bolesti i slabijim učinkom ASK bili su u isto vrijeme jače osjetljivi na učinak klopidogetela (167). Čini se da bi u nekim slučajevima osim povećanja dnevne doze ASK, upravo dodatak drugog antitrombocitnog lijeka poput blokatora trombocitnih ADP-receptora bio logičan pristup u liječenju bolesnika s aspirinskom rezistencijom. Studija CHARISMA koja je provedena na 15,603 bolesnika nije uspjela dokazati da primjena dvostruke antiagregacijske strategije u populaciji povećanog kardiovaskularnog rizika smanjuje učestalost velikih nepovoljnih kardiovaskularnih događaja ili broj hospitalizacija zbog simptomatske ishemije u odnosu na bolesnike koji su uz ASK dobivali placebo (168). Međutim, kad su se *post hoc* analizom izdvojili oni s anamnezom preboljelog infarkta miokarda, moždanog udara ili simptomatskom bolesti perifernih arterija (ukupno 9.478 bolesnika) našlo se je da istovremena primjena ASK i klopidogetela u ovih bolesnika vrlo visokog rizika značajno smanjila rizik od kardiovaskularne smrti, ponavljanja infarkta miokarda i moždanog udara (169). Obzirom da i kod bolesnika liječenih klopidogetelom postoji znatna individualna varijabilnost u antitrombocitnom učinku koja rezultira određenim brojem liječenih s lošijim antiagregacijskim statusom što označavamo klopidogetelskom rezistencijom, moguće je da bi primjena novijih antagonista trombocitnih P2Y₁₂ receptora poput prasugrela ili tikagrelora mogla biti bolja alternativa. Međutim, još uvijek nema studija koje bi potvrdile korist od ovakve strategije u liječenju bolesnika s lošijim odgovorom na ASK.

Varijabilnost antitrombocitnog učinka ASK osim laboratorijskog zapažanja čini se da predstavlja i važan klinički problem. Unatoč inflaciji radova na temu otpornosti na ASK i njenom nepovoljnom utjecaju na klinički ishod, uporaba i doziranje ASK u kardiovaskularnih bolesnika do daljnega ostaju temeljni i nepromijenjeni. Također, za sada ne postoje preporuke za rutinsko testiranje učinka ASK, kao niti za prilagođavanje antiagregacijske terapije u slučaju nepovoljnog agregometrijskog nalaza. Prema mišljenju Radne skupine za trombozu pri Europskom kardiološkom društvu individualiziranje antiagregacijske terapije shodno nalazima testova agregacije preporučuje se samo kod visokorizičnih bolesnika kao što su oni nakon tromboze u stentu ili u centrima izvrsnosti koji se bave testiranjem funkcije trombocita u okviru svojih istraživačkih aktivnosti (105). Osobit problem u kliničkoj primjeni dosadašnjih spoznaja o aspirinskoj rezistenciji leži u nedostatku jedinstvene definicije ove pojave, odnosno različitim laboratorijskim testovima i graničnim vrijednostima (*cut-off*). Idealni laboratorijski test za dijagnosticiranje otpornosti na ASK u kliničkoj praksi trebao bi biti

reproducibilan, jednostavan, brz i po mogućnosti jeftin. Osnovno pitanje na koje u budućnosti treba odgovoriti jest da li se prilagodbom s ciljem optimiziranja antiagregacijskog statusa bolesnika (npr. povećanjem dnevne doze ASK, dodatkom ili zamjenom s nekim od tienopiridina i sl.) može povoljno utjecati na njihov kardiovaskularni ishod.

1.5.2. Otpornost na klopidogrel

Veća učinkovitost dvojne antitrombocitne terapije (DAT, engl. *dual antiaggregation treatment*) pred monoterapijom acetilsalicilnom kiselinom objašnjava se komplementarnim učincima ovih lijekova na inhibiciju trombocita. No dio koristi od dodavanja klopidogrela također je moguće pripisati slabijem učinku ASK, tj. otpornosti na ovaj lijek što se javlja u dijela liječenih. Usprkos nedvojbenoj koristi od dodavanja klopidogrela, gotovo u 9% liječenih dolazi do ponavljanja trombotskih komplikacija što je kao i u slučaju ASK dovelo do nastanka koncepta otpornosti na klopidogrel (77, 78). Ovo je očekivano, obzirom da antitrombocitni učinak klopidogrela pokazuje znatnu interindividualnu varijabilnost s normalnom raspodjelom i prosječnom inhibicijom od 40-50% (170, 171).

Iako preciznija u odnosu na aspirinsku rezistenciju, niti definicija klopidogrelske rezistencije nije jedinstvena. U istraživanjima se najčešće koristila definicija temeljena na veličini redukcije agregacije mjerene metodom svjetlosne agregometrije prije i nakon dodatka klopidogrela, i to kao apsolutna razlika (prijeterapijska agregacija – poslijeterapijska agregacija) ili kao relativna razlika prijeteparijske i poslijeterapijske agregacije trombocita ($[(\text{prijeterapijska agregacija} - \text{poslijeterapijska agregacija}) / \text{prijeterapijska agregacija} \times 100 \text{ \%}]$) (146, 170, 172-178). Drugi autori kao granicu otpornosti koriste 75^{tu} percentilu apsolutne vrijednosti agregacije izmjerene u kontrolnoj populaciji (98, 173) ili relativne redukcije agregacije nakon uvođenja klopidogrela (179). Ostale metode agregometrije poput VerifyNow P2Y12 koriste svoje arbitrarne granice klopidogrelske rezistencije (180-182) (tablica 5).

| Metoda | Definicija otpornosti | Koncentracija agonista agregacije | Granica otpornosti | Reference |
|--------------------------------|--|---|--|--------------------|
| LTA (svjetlosna agregometrija) | Razlika agregacije prije uvođenja klopidogrela (prijeterapijska agregacija) i nakon uvođenja klopidogrela (poslijeterapijska agregacija). | ADP 5 $\mu\text{mol/L}$ | $\leq 10\%$ | 146, 170, 173, 174 |
| | | ADP 20 $\mu\text{mol/L}$ | $< 30\%$ | 175 |
| | Kvartile relativnog smanjenja agregacije u odnosu na prijeterapijsku agregaciju i (zmjerenu prije uvođenja klopidogrela) | ADP 5 $\mu\text{mol/L}$ | Kvartila najmanjeg smanjenja agregacije (Q1) | 179 |
| | Kvartila apsolutne veličine agregacije trombocita nakon uvođenja klopidogrela | ADP 20 $\mu\text{mol/L}$ | Kvartila najveće agregacije trombocita (Q4) | 98 |
| | Apsolutna veličina agregacije trombocita | ADP 5 $\mu\text{mol/L}$ 10 $\mu\text{mol/L}$ 20 $\mu\text{mol/L}$ | $> 50\%$ $\geq 70\%$ $> 60\%$ | 80, 153, 212 |
| VerifyNow P2Y ₁₂ | Apsolutna veličina agregacije trombocita | ADP 20 nmol + PGE ₁ 22 nmol | ≥ 235 PRU ≥ 240 PRU | 180-182 |
| VASP-P | Stupanj fosforilacije VASP proteina kao odraz inhibicije P2Y ₁₂ ADP receptora na trombocitima. Izražava se kao indeks reaktivnosti trombocita (PRI, engl. <i>platelet reactivity index</i>). | | $> 48-53\%$ | 183-185 |

Tablica 5. Najčešće laboratorijske metode i kriteriji za dijagnosticiranje otpornosti na klopidogrel

Precizna definicija klopidogrelske rezistencije trebala bi se odnositi na dokaz neuspješne inhibicije specifičnog farmakološkog cilja ovog lijeka, tj. P2Y₁₂ tipa ADP-receptora na trombocitima što je moguće ispitati testom mjerenja fosforilacije vazodilatatorom-stimuliranog fosfoproteina (VASP-P, engl. *vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation*) (183-185). Međutim, većina autora i studija koriste manje specifične laboratorijske metode poput svjetlosne agregometrije ili VerifyNow P2Y₁₂.

1.5.2.1. Učestalost otpornosti na klopidogrel

Prema nedavnim metat analizama učestalost rezistencije na klopidogrel prisutna je u prosječno 21% liječenih, sa širokim rasponom od 5-44% (176, 177, 186). U studijama koje su koristile visokospecifičnu metodu VASP-P, prevalencija klopidogrelske rezistencije iznosila je oko 30% (187). Ovako velika razlika u učestalosti može se pripisati brojnim razlozima: uporabom metoda različite specifičnosti za mjerenje preostale agregacije trombocita ovisne o P2Y₁₂ ADP-receptorima, uporabom različitih definicija klopidogrelske rezistencije, ispitivanjima različitih populacija kardiovaskularnih bolesnika (stabilna koronarna bolest vs akutni koronarni sindrom), različitim dozama klopidogrela (uz kroničnu terapiju održavanja ili nakon davanja doze zasićenja od 300 ili 600 mg) i različitom vremenskom razmaku proteklom od davanja doze zasićenja klopidogrela do mjerenja njegovog antiagregacijskog učinka (170, 177, 188, 189).

1.5.2.2. Laboratorijske metode u dijagnosticiranju otpornosti na klopidogrel

Nema standardnog testa za ispitivanje klopidogrelske rezistencije. Dvije su skupine metoda koje se koriste i niti jedna nije idealna:

1. *Biokemijske metode* mjere preostalu aktivnost, a time i uspješnost blokade P2Y₁₂ ADP-receptora na trombocitima kao neposrednog farmakološkog cilja klopidogrela.
2. *Funkcijske metode* koje mjereći preostalu agregacijsku sposobnost trombocita ispituju učinak klopidogrela distalno od njegova farmakološkog cilja. Iako za izazivanje agregacije koriste ADP, ove metode nisu potpuno specifične za ispitivanje preostale agregacijske sposobnosti trombocita ovisne o P2Y₁₂ ADP-receptoru.

Nekoliko je testova koji se koriste u studijama klopidogrelske rezistencije. Iako se još uvijek smatra metodom "zlatnog standarda", svjetlosna agregometrija nije prikladna za rutinsku kliničku uporabu, osobito u hitnim stanjima kada je potrebna brza procijena antiagregacijskog učinka što je slučaj kod bolesnika u akutnom infarktu miokarda (190).

Svjetlosna ili optička agregometrija (LTA, engl. *light transmittance aggregometry*) je složena laboratorijska metoda koja oduzima mnogo vremena i zahtjeva posebnu pripremu uzorka. Princip metode opisan je u prethodnom poglavlju o aspirinskoj rezistenciji. Za mjerenje jačine antiagregacijskog učinka klopidogrela kao specifični agonist agregacije koristi se ADP u različitim koncentracijama (5, 10 ili 20 μmol/L) (191).

VerifyNow-P2Y12[®] (Accumetrics Inc., San Diego, CA, USA) je metoda uz krevet bolesnika koja specifičnije mjeri agregaciju trombocita ovisnu o P2Y₁₂ tipu ADP-

receptora. Naime, testna kasetna osim 20 mmol ADP sadrži i 22 nmol prostaglandina E₁ čime se u ovom testu smanjuje doprinos za klopidogetrel nespecifičnih P2Y₁ receptora u agregaciji trombocita ovisnoj o ADP-u. Uređaj mjeri porast propusnosti ispitivanog uzorka pune krvi za svijetlo do čega dolazi nakon što ADP uzrokujući agregaciju trombocita omogućuje aglutinaciju i taloženje mikročestica obloženih fibrinogenom. Veličina agregacije izražava se u arbitrarnim jedinicama (PRU, engl. *P2Y₁₂ reaction unit*), pri čemu veći broj PRU označava veću preostalu o ADP ovisnu agregaciju trombocita. Ova metoda je jednostavna za uporabu i brzo daje rezultate koji dobro koreliraju s LTA (192, 193).

Mjerenje fosforilacije vazodilatatorom-stimuliranog fosfoproteina metodom protočne citometrije (VASP-P) je visokospecifična metoda za ispitivanje antitrombocitnog učinka klopidogetrela jer izravno mjeri stupanj blokiranosti ciljnih P2Y₁₂ receptora. Vežući se na ove receptore, ADP uzrokuje inhibiciju adenilat ciklaze preko G_i proteina. Suprotno, blokiranjem ovih receptora, klopidogetrel uzrokuje stimulaciju adenilat ciklaze i sintezu cAMP što pojačava aktivnost protein kinaze A koja u nastavku fosforilira vazodilatatorom-stimulirani fosfoprotein (VASP, engl. *vasodilator-stimulated phosphoprotein*). Drugim riječima, ADP potiče defosforilaciju, a klopidogetrel fosforilaciju VASP-a. Kao rezultat analize dobivamo indeks reaktivnosti trombocita (PRI, engl. *platelet reactivity index*) koji se prema formuli računa kao postotak defosforilacije VASP-a. Drugim riječima, što je veći postotak indeksa reaktivnosti trombocita (PRI) to je i veći stupanj neblokiranih P2Y₁₂ receptora što znači i slabiji antiagregacijski učinak klopidogetrela. Iako je zbog visoke specifičnosti mnogi smatraju metodom "zlatnog standarda" za mjerenje učinka inhibitora P2Y₁₂ receptora, ova metoda oduzima dosta vremena, zahtjeva iskusno laboratorijsko osoblje i nije rutinski dostupna, što je čini nepraktičnom u svakodnevnom kliničkom radu (187, 194).

Impedancijska agregometrija (engl. *impedance aggregometry*) mjeri preostalu agregacijsku sposobnost trombocita kao porast otpora prolasku struje između dvije elektrode uronjene u uzorak pune krvi do kojeg dolazi nakon dodatka ADP (WBA, engl. *whole blood aggregometry*) (195).

Multiple platelet function analyzer[®] (Multiplate[®] ADP-test, Dynabyte medical, Munich, GER) također mjeri antitrombocitni učinak klopidogetrela na principu impedancije, tj. promijene otpora u provođenju struje između dvije elektrode uronjene u uzorak pune krvi nakon dodatka ADP. Može mjeriti agregaciju trombocita istovremeno u pet uzoraka (MEA, engl. *multiplate electrode aggregometry*) (196, 197).

1.5.2.3. Uzroci otpornosti na klopidogrel

Do sada je nekoliko bolesti, čimbenika kardiovaskularnog rizika ili lijekova povezano sa slabijim antitrombocitnim učinkom klopidogrela (tablica 6).

Akutni koronarni sindrom

Šećerna bolest

Pretilost

Starija dob

Hiperkolesterolemija

Upalne bolesti

Statini

Inhibitori protonске pumpe

Tablica 6. Najčešća stanja povezana s većom učestalosti otpornosti na klopidogrel

Klopidogrel ne uspijeva značajnije inhibirati trombocite aktivirane dodatkom trombinu-sličnog aktivirajućeg peptida (TRAP, engl. *thrombin-related activating peptide*) što može objasniti slabiji antitrombocitni učinak ovog lijeka u stanjima pojačane sinteze trombina poput akutnog koronarnog sindroma (75, 198). Kao i u slučaju aspirinske rezistencije slabiji antitrombocitni učinak klopidogrela nalazimo u dijabetičara, starijih i bolesnika s hiperkolesterolemijom (146, 178, 199, 200). No za razliku od povećane sklonosti otpornosti na ASK, čini se da pušenje pojačava antitrombocitni učinak klopidogrela što su Matetzky i sur pokazali u studiji na bolesnicima sa STEMI (179). Ovo se uklapa u ranije zapažanje da su štakori čija je koncentracija nikotina u plazmi bila slična onoj u kroničnih pušača, imali pojačanu aktivnost citokroma P450 koji je odgovoran za pretvorbu klopidogrela u aktivni metabolit (201). Pretile osobe u pravilu pokazuju slabiji antiagregacijski učinak klopidogrela, pa se ipak u svakodnevnoj kliničkoj praksi njegovo doziranje ne prilagođava tjelesnoj težini bolesnika za razliku od doziranja heparina ili blokatora GpIIb/IIIa receptora (117, 199).

Lipofilni statini poput atorvastatina i simvastatina natječu su se s klopidogrelom za isti citokrom P450. Primjena omeprazola u bolesnika na terapiji klopidogrelom bila je povezana sa značajno slabijom inhibicijom P2Y₁₂ trombocitnih receptora u VASP-P testu (202). Rezultati opservacijih studija dali su različite zaključke glede sklonosti nepovoljnim kardiovaskularnim događajima u bolesnika liječenih inhibitorima protonске pumpe zajedno s klopidogrelom (203, 204). Međutim, na posljednjem TCT kongresu održanom u rujnu 2009.g. u San Franciscu prezentirana je COGENT studija, do sada jedina velika

randomizirana kontrolirana studija koja je dokazala da nema klinički relevantnog rizika od istovremenog uzimanja klopidogrela i omeprazola. Naprotiv, bolesnici liječeni omeprazolom u ovoj studiji imali su znatno manje nepovoljnih gastrointestinalnih komplikacija (<http://www.tctmd.com/Show.aspx?id=85972>).

Prema mehanizmu nastanka, rezistencija na klopidogrel može se podijeliti na farmakodinamičku i farmakokinetičku (tablica 7).

Farmakodinamička klopidogrelska rezistencija posljedica je promijena farmakološke mete klopidogrela, tj. na nivou P2Y₁₂ receptora, a uzrokovana je nekim varijantama gena za ovaj receptor (SNPs, engl. *single nucleotide polymorphisms*) (205). Koncentracija aktivnog metabolita klopidogrela u serumu ovih bolesnika je zadovoljavajuća.

Farmakokinetička klopidogrelska rezistencija posljedica je slabije raspoloživosti aktivnog metabolita klopidogrela potrebnog za blokadu njegovog farmakološkog cilja. Ovo može biti posljedica lošije apsorpcije lijeka, nedovoljnog doziranja, poremećene biotransformacije lijeka u jetri ili stanja poput akutnog koronarnog sindroma gdje dolazi do pojačanog otpuštanja mladih trombocita s velikom gustoćom P2Y₁₂ receptora u cirkulaciju (179). Rezultati nedavne CURRENT/OASIS-7 studije u bolesnika s akutnim infarktom miokarda pokazali su značajnu dugoročnu korist od dvostruke dnevne doze klopidogrela tijekom prvih tjedan dana liječenja (206). Lošija biotransformacija klopidogrela u aktivni metabolit zbog slabije aktivnosti citokroma CYP3A4 češća je u pretilih osoba, ali može biti i posljedica nekih polimorfizama gena odgovornih za sintezu specifičnih jetrenih citokroma P450 (207, 208). Dok inzulin pokazuje antitrombocitni učinak inhibirajući P2Y₁₂ ovisan put agregacije trombocita, slabiji učinak klopidogrela u šećernoj bolesti posljedica je smanjene osjetljivosti trombocita na inzulin (tzv. inzulinska rezistencija) što uzrokuje porast broja P2Y₁₂ receptora na trombocitima ovih bolesnika (146, 209). Ostali mehanizmi suboptimalnog učinka klopidogrela u dijabetičara uključuju povećanu koncentraciju ADP u serumu, veću koncentraciju kalcija u citosolu kao i brži obrtaj trombocita u ovih bolesnika (210).

Nesuradljivost (engl. *non-compliance*) bolesnika u redovitom uzimanju klopidogrela smatra se uzrokom "rezistencije" na klopidogrel u oko 15% slučajeva (211). Prema mišljenju Radne skupine za trombozu Europskog kardiološkog društva dijagnoza otpornosti na klopidogrel trebala bi se postaviti samo u slučajevima gdje se visokospecifičnim VASP-P testom dokaže postojanje suboptimalne blokade P2Y₁₂ receptora, te ako se ovaj poremećaj ne uspije korigirati dodatnim davanjem direktnog antagonista ovih receptora u testirani uzorak. Drugim riječima, prema ovim preporukama dijagnoza klopidogrelske rezistencije trebala bi se ograničiti samo na farmakodinamičke

slučajeve dok bi se svi ostali suboptimalni rezultati trebali označiti kao “povišena reaktivnost trombocita usprkos terapiji” (105).

| Mehanizam otpornosti na klopidogrel | Uzroci | Pristup bolesniku |
|-------------------------------------|--|---|
| FARMAKODINAMIČKI | 1. Polimorfizam gena za P2Y ₁₂ tip ADP trombocitnih receptora | 1. Alternativni antitrombocitni lijek (cilostazol, dipiridamol) ? |
| FARMAKOKINETIČKI | 1. Nedovoljno doziranje klopidogrela 2. Slabija apsorpcija lijeka 3. Slabiji metabolizam klopidogrela u jetri 4. Ubrzano stvaranje novih trombocita (akutni koronarni sindrom, operacije, infekcije, upalna stanja ...) | 1. Povećanje dnevne doze klopidogrela 2. Redukcija viška tjelesne težine 3. Davanje klopidogrela u više dnevni doza ? |
| OSTALO | 1. Neredovito uzimanje lijeka zbog nedostatka suradljivosti bolesnika (<i>non-compliance</i>) | 1. Povećati informiranost bolesnika o potrebi redovitog uzimanja lijeka |

Tablica 7. Mehanizmi nastanka otpornosti na klopidogrel

1.5.2.4. Studije kliničke važnosti otpornosti na klopidogrel

Pitanje kliničke važnosti individualne varijabilnosti antitrombocitnog učinka klopidogrela još uvijek je predmet znanstvenih istraživanja iako već postoji dosta dokaza da bolesnici sa slabijim antitrombocitnim učinkom klopidogrela pokazuju povećanu sklonost aterotrombotskim komplikacijama poput ponavljanja infarkta miokarda, periproceduralne mionekroze, tromboze u stentu, moždanog udara ili kardiovaskularne smrti (tablica 8).

Nekoliko studija upozorilo je na povezanost suboptimalnog učinka klopidogrela i pojave tromboze u stentu (98, 212-214). Tromboza u stentu može se dogoditi u bilo koje vrijeme nakon implantacije stenta, a predstavlja jednu od najvažnijih i najopasnijih komplikacija liječenja bolesnika perkutanom koronarnim intervencijama, osobito u eri stentova koji otpuštaju lijekove i koji su revolucionarno smanjili učestalost ponovnih

stenozu. Da se ne radi o sekundarnom porastu agregabilnosti trombocita uslijed nekroze uzrokovane akutnom ishemijom miokarda zbog trombotske okluzije arterije u stentu, već je riječ o neovisnom čimbeniku rizika pojave tromboze u stentu dokazali su Price i sur. Prospektivno mjereći agregacijski status bolesnika liječenih klopidogetrelom našli su da je slabiji antiagregacijski učinak ovog lijeka jasno povezan sa rizikom od budućih nepovoljnih kardiovaskularnih događaja, uključujući trombozu u stentu (180).

Cuisset i sur objavili su da je kod bolesnika s akutnim koronarnim sindromom bez ST-elevacije, učestalost nepovoljnih kardiovaskularnih događaja tijekom mjesec dana praćenja bila znatno veća kod onih sa slabijim antitrombocitnim učinkom klopidogetrela mjerenim neposredno prije perkutane koronarne intervencije (153).

Otpornost na klopidogetrel najmanje je proučena u bolesnika s infarktom miokarda sa ST-elevacijom. Svrstavši bolesnike sa STEMI u kvartile prema postotku klopidogetrelom uzrokovane redukcije ADP-ovisne agregacije, Matetzky i sur su našli da su se gotovo svi nepovoljni kardiocerebrovaskularni događaji (MACCE, engl. *major adverse cardiac and cerebrovascular events*) tijekom šest mjeseci praćenja dogodili kod bolesnika u kvartili najslabijeg antitrombocitnog učinka klopidogetrela. S druge strane jedina dva slučaja teškog krvarenja (engl. *major bleeding*) zabilježena su među bolesnicima s najjačim odgovorom trombocita na klopidogetrel (179).

| Studija | Osobine ispitanika | Broj ispitanika | Metode za otkrivanje osjetljivosti na klopidogetrel | Rezultati |
|-------------------|---|---|---|---|
| Gurbel i sur (98) | Bolesnici liječeni pomoću PCI i klopidogetrelom u dozama zasićenja od 300 ili 600 mg, te u nastavku dnevnom dozom od 75 mg. | 192 (145 bolesnika sa stabilnom anginom, 36 s nestabilnom anginom, 11 s NSTEMI) | Osjetljivost na klopidogetrel mjerena je pomoću LTA s ADP u koncentraciji od 5 i 20 $\mu\text{mol/L}$, te tromboelastografijom. Rezistentnim na učinak klopidogetrela smatrani su oni u gornjoj kvartili izmjerene agregacije. | Vrijeme praćenja trajalo je 6 mjeseci. Bolesnici u gornjoj kvartili agregacije imali su značajno više nepovoljnih kardiovaskularnih događaja. Granica koja je bila s lošijim kliničkim ishodom iznosila je oko 50% uz stimulaciju ADP u koncentraciji od 20 $\mu\text{mol/L}$. |
| Lev i sur (146) | Bolesnici liječeni elektivnom PCI i klopidogetrelom u dozi zasićenja od 600 mg odmah nakon PCI, te u nastavku 75 mg dnevno. | 150 | Klopidogetrelska rezistencija definirana je kao redukcija agregacije trombocita za $\leq 10\%$ mjerene LTA nakon dodatka ADP u konc. 5 i 20 $\mu\text{mol/L}$. Visoka post-terapijska reaktivnost trombocita usprkos primjeni klopidogetrela definirana je kao kao kvartila najviše agregacije u odgovoru na 20 $\mu\text{mol/L}$ ADP. | Bolesnici koji su bili rezistentni na klopidogetrel imali su tendenciju češćem postproceduralnom porastu CK-MB u odnosu na one osjetljive na učinak ovog lijeka (32.4% vs. 17.3%, $p=0.06$). Također, bolesnici s dvostrukom rezistencijom na antitrombocitnu terapiju pokazali su značajno češću pojavu postproceduralne mionekroze (44.4% vs. 15.8%, $p=0.05$). |

| | | | | |
|---------------------------|---|--|--|--|
| Pinto Slottow i sur (147) | Bolesnici nakon PCI tijekom koje su implantirani DES (obloženi sirolimusom ili paklitakselom). Prije PCI dobili su dozu zasićenja od 300 ili 600 mg, te u nastavku dnevnu dozu od 75 mg. Prvu skupinu čine 26 bolesnika koji su preživjeli trombozu u stentu a drugu skupinu čini 21 bolesnik koji nisu imali trombozu tijekom praćenja od ≥ 18 mjeseci nakon PCI. | 47 | Odgovor na klopidogrel mjereno je metodom VerifyNow P2Y ₁₂ [™] i metodom mjerenja fosforilacije vazodilatatorom-stimuliranog fosfoproteina (VASP-P) pomoću protočne citometrije. U drugoj skupini bolesnika agregacija je mjerena prosječno 402 dana nakon tromboze u stentu. Rezistencija na klopidogrel definirana je kao: 1. ≥ 264 PRU u VerifyNow P2Y ₁₂ [™] testu 2. $\geq 48\%$ PRI u VASP-P | Rezistencija na klopidogrel dokazana metodom VerifyNow P2Y ₁₂ [™] bila je prisutna u 40% bolesnika koji su razvili trombozu u stentu i u 14% kontrola (p=0.02). Nije bilo značajne razlike ako se za detekciju rezistencije koristila metoda VASP-P (90% vs. 67%, p=NS). Srednja veličina agregacije u testu VerifyNow P2Y ₁₂ [™] bila je značajno veća kod bolesnika koji su nakon implantacije DES razvili ranu trombozu u odnosu na one koji nisu (265 \pm 102 vs. 184 \pm 76, p=0.01). |
| Cuisset i sur (153) | Bolesnici s akutnim koronarnim sindromom bez ST elevacije liječeni PCI-om. Ako klopidogrel nisu uzimali min. 5 dana prije PCI u dozi od 75 mg, onda su min. 12 h prije PCI dobili dozu zasićenja od 300 mg. | 106 | Metodom LTA nakon stimulacije ADP u konc. 10 μ mol/L u uzorku uzetom neposredno prije PCI (poslijeterapijska reaktivnost trombocita). Rezistentnim na učinak klopidogrela smatrani su oni u gornjoj kvartili (Q4) izmjerene agregacije. | Vrijeme praćenja iznosilo je 30 dana. Bolesnici u najvišoj kvartili agregacije (tj. rezistentni na klopidogrel) imali su značajno veći rizik od pojave nepovoljnih kardiovaskularnih događaja (OR=22.4). |
| Geisler i sur (175) | Bolesnici liječeni PCI-om nakon doze zasićenja od 600 mg. | 379 (206 bolesnika sa stabilnom koronarnom bolešću i 173 bolesnika s akutnim koronarnim sindromom) | LTA nakon dodatka ADP u koncentraciji 20 μ mol/L. Uzorci krvi testirani su 34.8 \pm 25.9 h nakon doze zasićenja (post-terapijska i postproceduralna reaktivnost trombocita). Rezistencija je definirana kao gornja kvartila agregacije (> 70 %). | Vrijeme praćenja trajalo je 3 mjeseca. Bolesnici s rezistencijom na klopidogrel češće su imali nepovoljan kardiovaskularni ishod u odnosu na one sa zadovoljavajućim odgovorom na terapiju (22.7 vs. 5.6%, OR=4.9, p=0.004). |
| Matetzky i sur (179) | Bolesnici u akutnom STEMI liječeni primarnom PCI nakon klopidogrela u dozi zasićenja od 300 mg i 75 mg dnevno u nastavku. | 60 | Klopidogrelska rezistencija mjerila se metodom LTA nakon dodatka ADP u koncentraciji od 5 μ mol/L. Bolesnici su stratificirani u kvartile ovisno o postotku smanjenja agregacije trombocita nakon 6 dana od uvođenja klopidogrela u terapiju. Prva kvartila redukcije agregacije smatrana je rezistentnom na klopidogrel. | Vrijeme praćenja u trajanju 6 mjeseci. Bolesnici u prvoj kvartili redukcije agregacije (rezistentni bolesnici) imali su znatno češće nepovoljni kardiovaskularni ishod u odnosu na ostale (40% vs. 6.7%; p=0.007). |

| | | | | |
|----------------------|--|--|--|---|
| Price i sur (180) | Bolesnici liječeni PCI-om s implantacijom DES (sirolimus). | 380 (94% sa stabilnom koronarnom bolesti) | Odgovor na klopidogrel mjereno je metodom VerifyNow P2Y ₁₂ ™ nakon klopidogrela u dozi zasićenja od 600 mg i u nastavku 75 mg dnevno (post-terapijska reaktivnost trombocita). ROC analizom nađeno je da najoptimalnija granica poslijeterapijske reaktivnosti trombocita povezana s nepovoljnim kliničkim ishodom iznosi ≥ 235 PRU, što ujedno odgovara gornjoj tercili agregacije (231 PRU). | Vrijeme praćenja trajalo je 6 mjeseci. Visoka post-terapijska reaktivnost trombocita povezana je s lošijim kardiovaskularnim ishodom: kardiovaskularna smrt (2.8 vs. 0%, $p=0.04$), tromboza u stentu (4.6 vs. 0%, $p=0.004$) i kombiniranim ishodom (kardiovaskularna smrt, IM, tromboza u stentu; 6.5 vs. 1.0%, $p=0.008$). Optimalna granica rezistencije povezana s ovakvim ishodom iznosi ≥ 235 PRU. |
| Marcucci i sur (181) | Bolesnici sa akutnim koronarnim sindromom liječeni PCI s implantacijom BMS ili DES, te klopidogrelom u dozi zasićenja od 600 mg, odnosno dnevnoj dozi održavanja od 75 mg. | 683 (28% bolesnika sa STEMI) | Odgovor na klopidogrel mjereno je metodom VerifyNow P2Y ₁₂ ™ unutar 24 h nakon davanja klopidogrela u dozi zasićenja od 600 mg. | Vrijeme praćenja trajalo je 12 mjeseci. Pomoću ROC analize nađeno je PRU ≥ 240 predstavlja optimalnu granicu za predviđanje kardiovaskularne smrti (HR 2.55) ili nefatalnog IM (HR 3.36). |
| Patti i sur (182) | Bolesnici liječeni PCI, uključujući i one s akutnim koronarnim sindromom koji su min. 5 dana liječeni klopidogrelom u dozi održavanja od 75 mg ili su dobili dozu zasićenja od 600 mg približno 6 h prije PCI. | 160 (54% s akutnim koronarnim sindromom) | Odgovor na klopidogrel mjereno je metodom VerifyNow P2Y ₁₂ ™ prije PCI, te nakon 8 i 24 h. Rezistentnim na učinak klopidogrela smatrani su oni u gornjoj kvartili izmjerene agregacije. | Vrijeme praćenja trajalo je 30 dana. U usporedbi s kvartilom najjačeg antitrombotičnog učinka klopidogrela, bolesnici u gornjoj kvartili prije-proceduralne agregacije trombocita imali su znatno češće nepovoljni kardiovaskularni ishod kojeg je u cijelosti činila pojava peri-proceduralnog IM (20% vs. 3%, $p=0.034$). ROC analizom nađeno je da optimalna granica agregacije u ovom testu za pojavu nepovoljnog KV-ishoda predstavlja onu od ≥ 240 PRU. |
| Gurbel i sur (212) | Bolesnici nakon PCI i doze zasićenja klopidogrela od 300 mg, te u nastavku s dnevnom dozom od 75 mg. | 120 (20 bolesnika s dokazanom trombozom u stentu vs. 100 bolesnika koji nakon PCI nisu imali trombozu u stentu) | 1. LTA s ADP u koncentraciji od 5 i 20 $\mu\text{mol/L}$. 2. VASP-P test 3. mjerenje ekspresije GpIIb/IIIa receptora na površini trombocita nakon stimulacije ADP-om. Definicija klopidogrelske rezistencije: $> 75^{\text{te}}$ percentile mjerenja u kontrolnoj grupi bez stent tromboze. | Bolesnici s trombozom u stentu imali su više vrijednosti agregacije trombocita u svim testovima njihove funkcije ($p < 0.05$). |
| Barragan i sur (213) | Bolesnici liječeni PCI-om i klopidogrelom u dozi od 75 mg ili tiklopidinom u dozi 250 mg dvaput dnevno. | 46 (16 bolesnika s trombozom u stentu i 30 bolesnika bez tromboze u stentu) | Korištena je metoda mjerenja fosforilacije vazodilatatorom-stimuliranog fosfoproteina (VASP-P) pomoću protočne citometrije. | Indeks reaktivnosti trombocita bio je značajno veći među bolesnicima koji su tijekom 30 dana praćenja razvili trombozu u stentu u odnosu na one koji nisu ($63.28 \pm 9.56\%$ vs. $39.8 \pm 10.9\%$; $p < 0.0001$). |

| | | | | |
|------------------------|--|---|--|--|
| Hochholzer i sur (214) | Bolesnici liječeni elektivnom PCI i klopidogrelom u dozi zasićenja od 600 mg najmanje 2 h prije zahvata, te u nastavku u dozi 75 mg dnevno. | 802 | LTA s ADP u koncentraciji od 5 $\mu\text{mol/L}$ neposredno prije PCI, ali nakon uvođenja klopidogrela (post-terapijska reaktivnost trombocita). | Vrijeme praćenja trajalo je 30 dana. Bolesnici s post-terapijskom agregacijom trombocita iznad medijana imali su 6.7 puta veći rizik od pojave nepovoljnog kardiovaskularnog ishoda (kardiovaskularna smrt, IM, ponovljena revaskularizacija ciljne lezije). |
| Buonamici i sur (215) | Bolesnici nakon perkutane koronarne intervencije (PCI) s implantacijom stentova koji luče lijek (sirolimus ili paklitaksel), te liječeni klopidogrelom u dozi zasićenja od 600 mg i u nastavku 75 mg dnevno. | 804 (25 bolesnika sa stent trombozom i 779 bolesnika bez stent tromboze) | LTA s ADP u koncentraciji od 10 $\mu\text{mol/L}$. Definicija rezistencije kod nalaza agregacije $\geq 70\%$. Uzorci krvi za ispitivanje agregacije uzeti su 12-18 h nakon doze zasićenja klopidogrela (post-terapijska reaktivnost trombocita) ili 6. dan nakon PCI ako su periintervencijski liječeni inhibitorima GpIIb/IIIa receptora. | Vrijeme praćenja trajalo je 6 mjeseci. Tromboza u stentu je bila značajno češća u rezistentnih bolesnika nego u onih s zadovoljavajućim odgovorom na klopidogrel (8.6 vs. 2.3%, $p < 0.001$). Rezistencija na klopidogrel neovisno je povećala rizik od tromboze u DES-u za čak 3 puta. |
| Bliden i sur (216) | Bolesnici sa stabilnom koronarnom bolesti liječeni elektivnom PCI i klopidogrelom u dnevnoj dozi održavanja od 75 mg. | 100 | LTA nakon dodatka ADP u koncentraciji 5 $\mu\text{mol/L}$ i tromboelastogram (TEG) nakon dodatka 2 $\mu\text{mol ADP}$. Rezistencija na klopidogrel definirana je kao agregacija $\geq 50\%$ u LTA nakon 5 $\mu\text{mol/L ADP}$ ili $\geq 70\%$ u TEG. | Vrijeme praćenja trajalo je 12 mjeseci. Rezistencija na klopidogrel bila je jedina varijabla značajno povezana s nepovoljnim kardiovaskularnim ishodom ovih bolesnika ($p < 0.001$ za oba testa osjetljivosti na klopidogrel). |
| Mobley i sur (217) | Bolesnici liječeni pomoću PCI i klopidogrelom nakon doze zasićenja od 300 mg i u nastavku 75 mg dnevno. | 50 (~ 30% s nestabilnom anginom pectoris) | Korištene su tri metode (sve nakon dodatka ADP u koncentraciji od 1 $\mu\text{mol/L}$): 1. LTA 2. tromboelastogram 3. PlateletWorks Redukcija agregacije za $< 10\%$ u odnosu na bazalnu smatrala se pokazateljem rezistencije na klopidogrel. | Nije nađena povezanost lošijeg odgovora na klopidogrel s kliničkom prognozom ovih bolesnika. |
| Ajzenberg i sur (218) | Bolesnici liječeni elektivnom ili hitnom PCI i klopidogrelom u dozi zasićenja od 300 mg, odnosno 75 mg dnevno u nastavku). | 32 (10 bolesnika s trombozom u stentu vs. 22 bolesnika bez stent tromboze) | Odgovor na klopidogrel mjeren je kao veličina agregacije trombocita uzrokovane silama smicanja (SIPA, engl. <i>shear-induced platelet aggregation</i>). | Značajno veća agregacija trombocita izmjerena je u bolesnika koji su preboljeli trombozu u odnosu na ostale. |

| | | | | |
|---------------------|--|---|--|---|
| Gurbel i sur (219) | Bolesnici sa stabilnom koronarnom bolesti liječeni elektivnom PCI nakon doze zasićenja klopidogrela od 300 ili 600 mg ± eptifibatid (50% bolesnika je randomizirano na terapiju eptifibatidom). | 120 | Metodom LTA nakon stimulacije ADP u koncentraciji od 5 μ mol/L izmjerena je agregacija trombocita tijekom prvih 24 h. | Bolesnici s periproceduralnom mionekrozom imali su značajno više vrijednosti post-terapijske agregacije trombocita u usporedbi s onima bez periproceduralnog IM. |
| Cuisset i sur (220) | Bolesnici s akutnim koronarnim sindromom bez ST-elevacije liječeni PCI i klopidogrelom u dozi zasićenja od 300 mg ili 600 mg. | 292 (polovica je liječena dozom zasićenja od 300 mg, a druga dozom od 600 mg) | Korištena je metoda LTA nakon stimulacije ADP-om u koncentraciji od 10 μ mol/L. Uzorci krvi testirani su 12 h prije PCI. Visoka post-terapijska reaktivnost trombocita (HPPR, engl. <i>high post-treatment platelet reactivity</i>) definirana je kao agregacija > 70%. | Vrijeme praćenja trajalo je 30 dana. Visoka poslijeterapijska reaktivnost trombocita bila je značajno češća nakon doze od 300 mg nego nakon doze od 600 mg (15% vs. 25%, p=0.03). Pojava nepovoljnih kardiovaskularnih događaja bila je značajno češća kod bolesnika s visokom post-terapijskom reaktivnosti trombocita uz oba doziranja klopidogrela (OR=13.82, p< 0.0001). |
| Levi i sur (221) | Bolesnici nakon PCI, od kojih prvu skupinu čine bolesnici koji su preboljeli subakutnu trombozu u stentu (SAT), drugu skupinu bolesnici sa STEMI i treću skupinu bolesnici liječeni elektivnom PCI u stabilnoj koronarnoj bolesti koji nisu razvili SAT. | 60 (svaka skupina imala je 20 bolesnika) | Osjetljivost na klopidogrel mjerena je metodom LTA nakon dodatka ADP u koncentraciji od 5 i 20 μ mol/L. U prve dvije grupe bolesnika mjerena je \geq 3 dana, a u trećoj grupi \geq 3 mjeseca nakon PCI. | Bolesnici sa SAT i oni sa STEMI imali su značajno višu poslijeterapijsku reaktivnost trombocita u odnosu na one bez SAT nakon elektivne PCI. |
| Wang i sur (222) | Bolesnici sa stabilnom koronarnom bolesti liječeni elektivnom PCI s implantacijom DES (sirolimus u 92% i zotarolimus u 8% bolesnika). | 386 | Osjetljivost na klopidogrel mjerena je pomoću LTA nakon dodatka ADP u koncentraciji od 20 μ mol/L. Rezistencija na klopidogrel definirana je kao apsolutna redukcija agregacije za \leq 10% u odnosu na bazalnu (prije-terapijsku) agregaciju. | Vrijeme praćenja u trajanju od 12 mjeseci. Incidencija ukupnog nepovoljnog kardiovaskularnog ishoda (smrt, nefatalni IM, tromboza u stentu i CVI) bila je znatno veća u rezistentnih (16.9% vs. 6.2%, p=0.010). Učestalost definitivne ili vjerojatne tromboze u stentu iznosila je 9.2% u rezistentnih na klopidogrel u odnosu na 2.5% u nerezistentnih bolesnika (p=0.018). |
| Gori i sur (234) | Bolesnici iz RECLOSE studije liječeni PCI s implantacijom DES (sirolimusom ili paklitakselom obloženi stentovi) zbog stabilne angine, nestabilne angine ili infarkta miokarda. Nakon doze zasićenja klopidogrela od 600 mg nastavljeno je liječenje u dnevnoj dozi od 75 mg. Dnevna doza ASK iznosila je 325 mg. | 746 | Osjetljivost na aspirin i klopidogrel mjerena je 12-18 h nakon zasićenja s 600 mg klopidogrela metodom LTA. Aspirinska rezistencija definirana je kao agregacija \geq 20% uz 1 mM AA, a klopidogrelska rezistencija kao agregacija \geq 70% uz 10 μ M ADP. | Vrijeme praćenja u trajanju od 6 mjeseci. Učestalost incidencije dvostruke rezistencije iznosila je 6%. Učestalost tromboze u DES bila je najveća u bolesnika s dvostrukom rezistencijom na antitrombocitnu terapiju (11.1%) u usporedbi s bolesnicima bolesnicima osjetljivima na oba lijeka (2.1%, p<0.001), onima rezistentnim samo na klopidogrel (2.2%, p<0.05) ili rezistentnim samo na ASK (2.3%, p<0.05). Dvostruka antitrombocitna rezistencija bila je neovisan prediktor tromboze u DES (HR =3.18) i ukupne kardiovaskularne smrti i DES tromboze (HR = 2.94). |

Tablica 8. Studije otpornosti na klopidogrel

1.5.2.5. Pristup bolesniku s otpornosti na klopidogrel

Već je duže poznata prednost primjene velikih doza zasićenja klopidogrela. ARMYDA-2 studija dokazala je da doza klopidogrela od 600 mg u odnosu na 300 mg u bolesnika sa stabilnom anginom pectoris i NSTEMI-ACS smanjuje učestalost pojave periproceduralne mionekroze tj. infarkta miokarda za više od 50% bez porasta rizika od krvarenja (223). Nije nađeno da klopidogrel u dozi od 900 mg ima dodatnu korist u odnosu na 600 mg, što je vjerojatno posljedica ograničenosti njegove apsorpcije u crijevima (224). Modifikacija doze klopidogrela u visokorizičnih skupina bolesnika pokazala se u više slučajeva korisnom. Ponavljanjem doze zasićenja klopidogrela do maksimalno tri puta s ciljem optimiziranja antitrombotičnog učinka klopidogrela mjenjenog prije perkutane koronarne intervencije pomoću metode VASP-P (ciljni PRI < 50%) uspjelo se znatno smanjiti učestalost ishemijskih događaja tijekom idućih mjeseci i to većinom na račun tromboze u stentu (225). CURRENT-STEMI PCI studija dokazala je prednost većih doza zasićenja i održavanja tijekom akutne faze STEMI bez popratnog porasta učestalosti krvarenja. Naime, u bolesnika sa STEMI koji su nakon početne doze zasićenja od 600 mg tijekom slijedećih 7 dana liječeni dvostrukom dozom održavanja (150 mg) postignuta je relativna redukcija kombiniranog nepovoljnog ishoda za 30% u odnosu na ispitanike liječene dozom zasićenja od 300 mg i uobičajenom dozom održavanja klopidogrela od 75 mg (redukcija učestalosti tromboze u stentu iznosila je čak 50% ako se izdvojeno analizirala grupa bolesnika liječenih stentovima koji otpuštaju lijek) (206). Korist od optimiziranja periproceduralnog antiagregacijskog statusa pomoću glikoproteinskog IIb/IIIa blokatora tirofibana kod bolesnika s nalazom suboptimalnog antiagregacijskog odgovora na terapiju ASK i/ili klopidogrelom ispitana je u studiji 3T/2R. Za razliku od uobičajene antitrombotične sheme u bolesnika liječenih s PCI, bolesnici čija je antiagregacijska terapija prilagođena prema nalazu agregometrije "uz postelju bolesnika" imali su znatno rjeđe periproceduralni infarkt kao i ostale nepovoljne kardiovaskularne događaje (143). Uskoro će biti objavljeni i rezultati GRAVITAS studije koja ispituje korist i sigurnost od povećavanja doze klopidogrela prema nalazima POC mjerenja u bolesnika liječenih perkutanom koronarnom intervencijom (226).

Usprkos primjeni snažnih antitrombotičnih lijekova u značajnog broja bolesnika još uvijek dolazi do ponavljanja aterotrombotičkih komplikacija. Međutim ne smijemo zaboraviti da niti antitrombotični lijekovi u cijelosti "brišu" sposobnost agregacije trombocita niti je agregacija trombocita jedini uzrok nepovoljnih kardiovaskularnih događaja.

Iako autori europskih smjernica ne preporučuju rutinsko određivanje jačine antitrombotičnog odgovora na standardnu terapiju, eksperti AHA/ACC smatraju da se ono treba razmotriti u slučaju bolesnika kod kojih tromboza u stentu može biti pogubna, poput onih nakon stentiranja nezaštićenog glavnog stabla lijeve koronarne arterije

(LMCA, engl. *left main coronary artery*) ili jedine preostale prohodne koronarne arterije (preporuka IIbC) (29). Ovi autori preporučuju da se bolesnicima s manje od 50% inhibicije agregacije trombocita udvostruči dnevna doza održavanja klopidogrela na 150 mg. Međutim nigdje se ne navodi niti metoda kojom se dolazi do navedenog postotka agregacije trombocita niti se precizira mjeri li se apsolutna veličina agregacije ili njezino relativno smanjenje u odnosu na vrijednost prije uvođenja klopidogrela (227).

Prema ekspertima Radne skupine za trombozu Europskog kardiološkog društva, individualiziranje antitrombotične terapije preporučuje se samo u akademskim centrima izvrsnosti koji imaju iskustvo u mjerenju agregacije trombocita u okviru kliničkih istraživanja, pri čemu posebnu pozornost treba posvetiti bolesnicima s preboljelom trombozom u stentu ili višestrukim rizicima za ponavljanje trombotičkih komplikacija (105).

Pored nedostatka jasnih preporuka za dijagnosticiranje otpornosti na klopidogrel, ne postoje niti definitivne preporuke za njeno "liječenje". Preporuke s kojima se susrećemo u literaturi uključuju:

1. periproceduralna primjena blokatora trombocitnih GpIIb/IIIa receptora (143)
2. udvostručenje dnevne doze održavanja klopidogrela na 150 mg (228)
3. zamjena klopidogrela s tiklopidinom - tienopiridinom starije generacije (164, 229)
4. zamjena klopidogrela s prasugrelom - tienopiridinom novije generacije (230) ili
5. dodatak trećeg antitrombotičnog lijeka – cilostazola (231, 232).

1.5.3. Dvostruka otpornost na antitrombotičnu terapiju

Posebnu kategoriju bolesnika sa slabijim odgovorom na antitrombotičnu terapiju čine oni koji istovremeno pokazuju suboptimalni odgovor na ASK i klopidogrel, što označavamo kao *dvostruka rezistencija* (164, 233). Oni čine oko 6% bolesnika na dvostrukoj antitrombotičnoj terapiji, iako su Lev i sur našli znatno veći udio dvostruko rezistentnih bolesnika među populacijom bolesnika sa stabilnom anginom pectoris pri čemu su žene i pretili bili su značajno skloniji ovoj pojavi (146, 234).

Razlog dvostruke rezistencije nije razjašnjen i moguće je da se radi o kombinaciji uzroka rezistencije na ASK i klopidogrel, iako se čini da je riječ o pojedincima s trombocitima općenito pojačane reaktivnosti (146, 233). Tako su Cuisset i sur pokazali da trombociti ovih osoba pokazuju ne samo pojačanu agregaciju nakon dodatka ADP i arahidonske kiseline kao specifičnih agonista putova aktivacije osjetljivih na ASK i klopidogrel, već i nakon dodatka kolagena (199).

Kombinacija antitrombotične rezistencije čini ove bolesnike još sklonijima pojavi nepovoljnih trombotičkih komplikacija tj. lošijem kliničkom ishodu (146, 234). S druge

strane ovo predstavlja značajan terapijski problem, čije se rješenje vjerojatno krije u zamjeni drugim antitrombocitnim lijekom povoljnije farmakokinetike poput prasugrela ili sasvim drugog mehanizma djelovanja (cilostazol, dipiridamol ...).

1.5.4. Reaktivnost trombocita i osjetljivost na antitrombocitno liječenje

Najčešće korištena definicija klopidogetske rezistencije je ona koja se odnosi na relativno smanjenje agregacije trombocita izmjerene prije i poslije uvođenja ovog lijeka. Dva su problema koja se nameću kod ovakvog definiranja slabijeg antitrombocitnog učinka klopidogeta. Prvi se odnosi na poteškoće u određivanju prijeterapijske reaktivnosti trombocita, tj. na testiranje uzorka krvi prije davanja klopidogeta što u uvjetima hitnosti i česte nedostupnosti agregometrijskih metoda tijekom 24 sata dnevno kroz 7 dana tjedno predstavlja značajan praktični problem. Drugi problem proizilazi iz činjenice da zadovoljavajući odgovor na terapiju promatran kao određeni postotak redukcije agregacije trombocita nakon uvođenja klopidogeta ne znači automatski da je u datog bolesnika postignuta zadovoljavajuće niska poslijeterapijska razina reaktivnosti trombocita, što u praktičnom smislu ipak može značiti visoki ostatni rizik za pojavu budućih trombotskih komplikacija. Samara i sur su pokazali da je među ispitanicima s dobrim odgovorom na klopidoget (engl. *responders*) većina imala umjerenu ili čak visoku prijeterapijsku reaktivnost trombocita, dok primjerice niti jedan bolesnik sa slabijim odgovorom na klopidoget (engl. *non-responder*) nije imao visoku prijeterapijsku reaktivnost (236). S druge strane, dok su svi bolesnici s niskom prijeterapijskom reaktivnosti trombocita zadržali nisku reaktivnost trombocita nakon uvođenja klopidogeta, 16% ispitanika visoke i 17% umjerene prijeterapijske reaktivnosti nije uspjelo postići nisku poslijeterapijsku reaktivnost trombocita.

Dakle, ako za definiciju rezistencije koristimo relativnu redukciju agregacije, ovo može dovesti do precijenjivanja trombotskog rizika u bolesnika s klopidogetskom rezistencijom i niskom prijeterapijskom reaktivnosti trombocita, ali se isto tako može podcijeniti rizik kod bolesnika s dobrim odgovorom na klopidoget i visokom poslijeterapijskom reaktivnosti trombocita. Za razliku od prethodnika, Serebruany i sur nisu našli povezanost između prijeterapijske reaktivnosti trombocita i jačine odgovora na klopidoget (171). Studija Gurbela i sur iz 2005.g. pokazala je da su poslijeterapijska reaktivnost trombocita i osjetljivost na klopidoget dvije različite, iako povezane pojave (173). Naime, iako su na klopidoget rezistentni većinom bolesnici s visokom poslijeterapijskom reaktivnosti trombocita, jedan dio rezistentnih imaće nisku poslijeterapijsku reaktivnost kao što će i jedan dio bolesnika osjetljivih na klopidoget imati visoku poslijeterapijsku reaktivnost trombocita. Ipak, nitko od bolesnika koji su

visoku poslijeterapijsku reaktivnost trombocita zadržali čak i nakon 600 mg klopidogrela nije bio osjetljiv na klopidogrel.

1.5.5. Dinamika antitrombocitnog učinka

Iako je gotovo u svim studijama antiagregacijski učinak ASK ili klopidogrela mjeren samo u jednoj vremenskoj točki, postoji koncept prema kojem reaktivnost trombocita i njihova osjetljivost na antitrombocitnu terapiju tijekom vremena mogu znatno varirati i u istog pojedinca (89, 170, 237, 238, 239). Tako je nađeno da je antitrombocitni učinak ASK mjeren metodom PFA-100[®] nakon mjesec dana snažniji u odnosu na rano mjerenje učinjeno oko 30 sati nakon perkutane koronarne intervencije kod bolesnika s akutnim koronarnim sindromom ili stabilnom anginom. Tijekom navedenog perioda udio rezistentnih bolesnika gotovo se prepolovio, što se tumači pojačanom upalom i protrombotskim uvjetima koji su prisutni u peri-intervencijskom periodu (240, 242). Saw i sur nisu našli da se antitrombocitni učinak ASK i klopidogrela mijenja između prvog mjeseca i prve godine nakon perkutane koronarne intervencije (242).

Otežana interpretacija rezultata, kao i složenost te skupoća praćenja antitrombocitnog učinka lijekova tijekom vremena vjerojatno su doprinijela slabijem razumijevanju ovog s kliničkog stajališta potencijalno vrlo važnog problema, posebice u kontekstu saznanja o povećanom riziku od tzv. kasne i vrlo kasne tromboze kod bolesnika liječenih implantacijom stentova koji otpuštaju lijek.

Poglavlje 2

CILJEVI I SVRHA ISTRAŽIVANJA

Cilj ove disertacije je ispitati osobitosti agregacije trombocita i njihovu osjetljivost na standardne doze acetilsalicilne kiseline i klopidogrela koje koristimo u liječenju bolesnika s akutnim infarktom miokarda sa ST-elevacijom (STEMI) tijekom ranog peri-intervencijskog perioda i 30 dana od početka infarkta. Ispitat ćemo dinamiku antitrombocitnog učinka ASK i klopidogrela, odnosno njegovu ovisnost o vremenu proteklom od početka infarkta što nije poznato iz dosadašnjih istraživanja. Također ćemo analizirati povezanost otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu i/ili klopidogrel u naših ispitanika s konvencionalnim čimbenicima kardiovaskularnog rizika (hiperlipidemija, šećerna bolest, arterijska hipertenzija, pušenje, pretilost, hiperhomocisteinemija itd), veličinom infarkta i koncentracijom NT-proBNP u serumu kao biokemijskog pokazatelja težine srčanog popuštanja.

Nadalje, istražiti ćemo povezanost jačine antitrombocitnog učinka ASK s pojavom spontane rekanalizacije ciljne koronarne arterije u onih bolesnika sa STEMI koji ASK koriste od ranije.

Najvažniji dio ovog istraživanja odnosi se na ispitivanje povezanosti različite jačine agregacije trombocita te osjetljivosti na standardnu terapiju acetilsalicilnom kiselinom i klopidogrelom s dugoročnom kliničkom prognozom bolesnika sa STEMI, u smislu pojave nepovoljnih kardiovaskularnih događaja koji uključuju kardiovaskularnu smrt, ponavljanje infarkta miokarda, trombozu u stentu, potrebu ponovne koronarne revaskularizacije i ishemijski moždani udar.

Rezultati ovog istraživanja mogu koristiti u svakodnevnoj kliničkoj praksi za prepoznavanje bolesnika sa STEMI koji zbog slabijeg odgovora na standardnu antitrombocitnu terapiju imaju povećanu sklonost lošijem kliničkom ishodu. Takvi bolesnici bi mogli biti kandidati za «agresivniju» antitrombocitnu terapiju u smislu povećanja doza postojećih ili uvođenja alternativnih antitrombocitnih lijekova poput prasugrela, tikagrelora, dipiridamola ili cilostazola, sve dok se ne postigne optimalni antitrombocitni status bolesnika i što će zasigurno biti predmetom budućih studija u ovom vrlo živom segmentu istraživanja u kardiologiji.

Poglavlje 3

HIPOTEZE

1. Standardne doze acetilsalicilne kiseline i klopidogrela nemaju podjednak antitrombotični učinak u bolesnika s akutnim infarktom miokarda sa ST-elevacijom (STEMI) zbog značajne interindividualne razlike u osjetljivosti prema ovim lijekovima.
2. Antitrombotični učinak standardnih doza navedenih lijekova tijekom akutne faze STEMI je promijenljiv, tj. pokazuje značajnu intraindividualnu varijabilnost. Budući da je perakutna faza infarkta miokarda izrazito protrombotičko stanje, pretpostavka jest da je intraindividualna varijabilnost antiagregacijskoga učinka najizrazitija upravo na početku liječenja.
3. Bolesnici koji se u STEMI prezentiraju s višim stupnjem reaktivnosti trombocita prije davanja doze zasićenja acetilsalicilne kiseline i klopidogrela (tzv. prijeterapijska reaktivnost trombocita) imaju lošiju dugoročnu prognozu u odnosu na bolesnike s nižim stupnjem prijeterapijske reaktivnosti trombocita.
4. Bolesnici koji u STEMI uz standardnu antiagregacijsku terapiju postignu manji stupanj smanjenja reaktivnosti trombocita (relativno smanjenje reaktivnosti trombocita kao pokazatelj osjetljivosti na antitrombotični lijek) imaju lošiji dugoročni ishod u odnosu na bolesnike s većim stupnjem smanjenja reaktivnosti trombocita.
5. Bolesnici sa STEMI koji pokazuju jači antitrombotični učinak acetilsalicilne kiseline koju troše od ranije češće se na koronarografiji prezentiraju spontano otvorenom koronarnom arterijom odgovornom za infarkt.

Poglavlje 4

OSOBINE OTPORNOSTI NA ANTITROMBOCITNE LIJEKOVE I POVEZANOST SA DUGOROČNOM PROGNOZOM BOLESNIKA S AKUTNIM INFARKTOM MIOKARDA SA ST-ELEVACIJOM

4.1. Metode

4.1.1. Ispitanici

Istraživanje je provedeno u Klinici za bolesti srca i krvnih žila Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkog bolničkog centra Zagreb. U istraživanje je uključeno 90 konsekutivnih bolesnika sa STEMI kod kojih je učinjena uspješna primarna perkutana koronarna intervencija.

Dijagnoza STEMI postavljena je na temelju akutnih bolova u prsištu i elevacije ST spojnice za ≥ 0.1 mV u dva susljedna odvoda EKG-a u trajanju ≥ 20 minuta, praćenih porastom aktivnosti MB izoenzima kreatin-kinaze (CK-MB) i/ili koncentracije kardioselektivnog troponina T (cTnT) u serumu.

Isključni kriteriji bili su: ranija terapija ASK, klopidogrelom, nesteroidnim antireumaticima, heparinom i inhibitorima glikoproteinskih receptora IIb/IIIa, anamneza hemoragijske dijateze, broj trombocita $\leq 100 \times 10^9/L$, hematokrit ≤ 0.30 i zatajivanje bubrega sa serumskim kreatininom $\geq 140 \mu\text{mol/L}$.

Svi ispitanici su nakon postavljanje dijagnoze STEMI dobili standardne doze zasićenja acetilsalicilne kiseline (300 mg) i klopidogrela (600 mg), nakon čega je nastavljeno liječenje ovim lijekovima u dozi od 100 mg odnosno 75 mg dnevno.

Istraživanje je provedeno prema propisima Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkog bolničkog centra Zagreb. Svi ispitanici potpisali su informirani pristanak.

4.1.2. Testovi agregacije trombocita

Agregacija trombocita ispitivana je u uzorku pune krvi metodom Multiplate[®]. Uzorak krvi je uzet iz antekubitalne vene u hepariniziranu epruvetu, te je prema preporuci proizvođača testiran u vremenu između 30 min i 3 h nakon vađenja uzorka.

Multiplate[®] (Dynabyte medical, Munich, GER) jest potpuno kompjuterizirani uređaj za mjerenje jačine agregacije trombocita uz postelju bolesnika (POC, engl. *point-of-care*) koji radi na načelu mjerenja porasta impedancije, odnosno otpora prolasku

struje između dviju srebrom obloženih bakrenih elektroda uronjenih u ispitivani uzorak krvi do kojeg dolazi uslijed adhezije trombocita aktiviranih dodatkom agonista agregacije. Multiplate® ASPI-test nakon dodatka 0.5 mM arahidonske kiseline ispituje agregaciju trombocita ovisnu o aktivnosti ciklooksigenaze-1, čime se mjeri jačina antitrombocitnog učinka acetilsalicilne kiseline koja ireverzibilno blokira ovaj enzim. Multiplate® ADP-test dodatkom adenzin-difosfata (ADP) u konačnoj koncentraciji od 6.4 mM mjeri veličinu agregacije ovisne o aktivnosti ADP-receptora, dakle mjeri jačinu antiagregacijskog učinka klopidogrela koji ireverzibilno blokira ovaj tip receptora. Veličina agregacije izražava se kao površina ispod krivulje (AUC, engl. *area under the curve*) u dogovorenim jedinicama (U). Dva para elektroda u svakoj testnoj kiveti omogućuju dvostruko mjerenje agregacije trombocita u istom uzorku i u isto vrijeme, te se konačni rezultat prikazuje kao srednja vrijednost oba mjerenja. Usporedbom podataka s oba para elektroda mjeri se Pearsonov koeficijent korelacije, a testiranje uzorka je potrebno 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.

Prijeterapijsku ili bazalnu reaktivnost trombocita prikazali smo kao apsolutnu veličinu agregacije (U) izmjerenu u ASPI- i ADP-testu prije davanja antitrombocitnih lijekova, te smo prema dobivenim vrijednostima bolesnike podijelili u kvartile. Visoka prieterapijska reaktivnost trombocita definirana je kao 75^{ta} percentila agregacije u ASPI- ili ADP-testu.

Osjetljivost trombocita na ASK u ASPI-testu i na klopidogrel u ADP-testu prikazali smo kao apsolutnu veličinu agregacije izmjerene nakon uvođenja antitrombocitnih lijekova (U), te kao relativno smanjenje agregacije u odnosu na veličinu prieterapijske agregacije trombocita do kojeg dolazi nakon uvođenja antitrombocitnih lijekova. Bolesnike u kvartili najmanje redukcije agregacije u ASPI- odnosno ADP-testu (prva kvartila, Q1) smatrali smo otpornima na terapiju ASK odnosno klopidogrelom.

4.1.3. Koronarografija i perkutana koronarna intervencija

Svi su bolesnici nakon doza zasićenja ASK i klopidogrela podvrgnuti koronarnoj angiografiji transfemoralnim pristupom u čijem je nastavku učinjena uspješna pPCI s implantacijom jednog ili više stentova.

Angiografski filmovi snimljeni su na uređaju GE Advantx LX u DICOM formatu pri brzini 12.5 sličica u sekundi.

Tijekom pPCI svi su bolesnici dobili uobičajenu dozu nefrakcioniranog heparina, a 63% ih je prema neovisnom izboru intervencijskog kardiologa dobilo eptifibatid u

trajanju od 8 ± 3 h. Direktna implantacija stenta korištena je gdje god je to bilo moguće. Postdilatacija je učinjena ako je to bilo potrebno, tj. prema diskrecijskoj odluci intervencijskog kardiologa.

4.1.4. Kliničko praćenje i prikupljanje podataka

Svim ispitanicima je prije davanja doza zasićenja ASK i klopidogrela, odnosno prije odlaska u Laboratorij za kateterizaciju srca na postupak pPCI uzeto dodatnih 5 mL krvi za agregometrijska mjerenja (dan 1). Radi praćenja dinamike reaktivnosti trombocita, odnosno jačine antitrombocitnog učinka agregometrijska testiranja su provedena tijekom idućih pet dana bolničkog liječenja (dan 2-6) i ambulantno nakon 30 dana (dan 30).

Uzorci krvi za agregometrijsko testiranje vađeni su ujutro i natašte zbog izbjegavanja cirkadijanog i postprandijalnog variranja agregacije trombocita.

Svim ispitanicima određeni su: broj trombocita, srednji volumen trombocita (MPV), kreatinin, ukupni kolesterol, LDL-kolesterol, trigliceridi, glukoza, glikozilirani hemoglobin (HbA1c), visoko-osjetljivi C-reaktivni protein (hsCRP), N-terminalni pro-B tip natriuretskog peptida (NT-proBNP) i homocistein. Dnevnim mjerenjem aktivnosti kreatinkinaze (CK) i troponina T (cTnT) određen je njihov maksimalni porast kao odraz veličine infarkta (243, 244, 246). Bolesnici su ambulantno pregledani nakon mjesec dana i potom telefonski intervjuirani nakon godine dana od preboljelog infarkta miokarda u smislu pojave nepovoljnih kardiocerebrovaskularnih događaja (kardiovaskularna smrt, tromboza u stentu, ponovljeni infarkt miokarda, ponovljena revaskularizacija ciljne koronarne arterije, ishemijski moždani udar). Ispitivači koji su obavljali ove intervjuje nisu znali za rezultate agregacijskih mjerenja. Suradljivost bolesnika u uzimanju ASK i klopidogrela nakon otpusta iz bolnice provjerena je tijekom ambulantnog pregleda i telefonskim intervjuom. Podaci o smrti ili pojavi drugih nepovoljnih kardiocerebrovaskularnih događaja u praćenih bolesnika provjereni su uvidom u njihovu bolničku medicinsku dokumentaciju, nalaze obdukcije ili medicinsku dokumentaciju liječnika obiteljske medicine.

4.1.5. Statistička obrada

Za prikaz rezultata i statističku analizu upotrebljeni su programi Microsoft Excel XP i MedCalc v. 7.2.1.0. S obzirom da je u ispitivanju korišten mali uzorak unaprijed su za statističku analizu odabrane neparametrijske metode s odgovarajućim načinom prikaza rezultata. Kontinuirane varijable prikazane su pomoću medijana i interkvartilnog raspona, a kategoričke varijable kao apsolutna i relativna frekvencija.

Agregacija trombocita u ASPI- i ADP-testu prikazana je kao apsolutna vrijednost u pojedinačnom mjerenju (U), te kao relativno smanjenje u odnosu na prijetarapijsko mjerenje $\left[\frac{\text{prijetarapijska agregacija} - \text{poslijetarapijska agregacija}}{\text{prijetarapijska agregacija}} \times 100\%\right]$.

Za usporedbu skupina korišteni su Wilcoxonov test (za neovisne i ovisne uzorke prema potrebi) i Kruskal-Wallis test za kontinuirane varijable, odnosno χ^2 -test za kategorijske varijable. Za izračunavanje korelacije korišten je Spearmanov test. Statistička značajnost postavljena je na $\alpha=0.05$.

4.2. Rezultati

4.2.1. Osobine ispitanika

Od ukupno uključenih 90 bolesnika, kod njih 87 uspjeli smo u cijelosti završiti praćenje agregacijskog statusa trombocita tijekom prvih šest dana liječenja i nakon 30 dana, te obavili njihovo kliničko praćenje tijekom prve godine nakon STEMI.

Medijan dobi ispitanika iznosio je 59 godina (raspon 35-88 godina). Šezdest ispitanika (69%) bili su muškarci. Ostale demografske i kliničke osobine ispitanika u studiji navedene su u tablici 9.

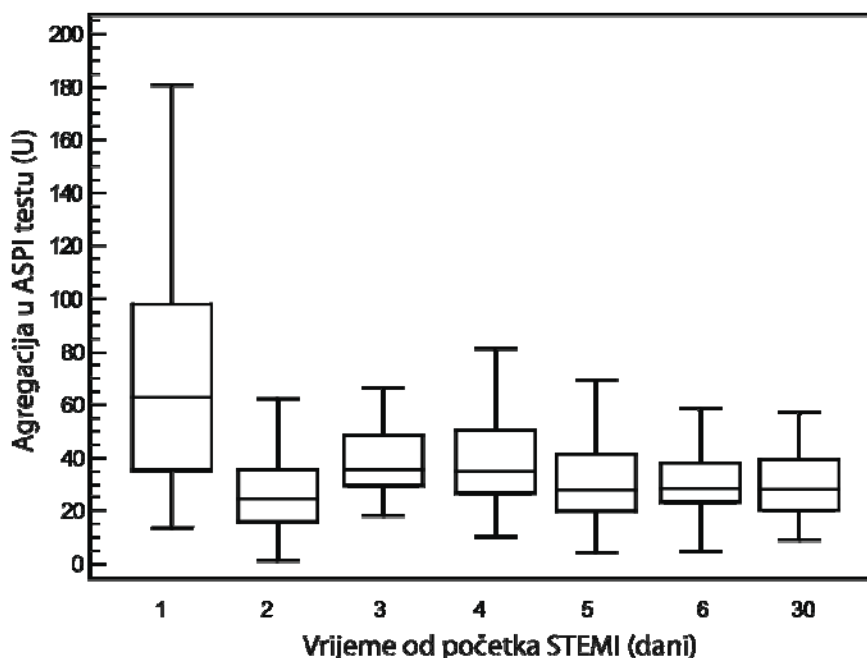
| | Svi ispitanici (n=87) | ASPI redukcija Dan1-Dan5 1.kvartila (Q1) | ASPI redukcija Dan1-Dan5 2.-4.kvartila (Q2-Q4) | Q1 vs Q2-Q4 ASPI redukcije | ADP redukcija Dan1-Dan5 1.kvartila (Q1) | ADP redukcija Dan1-Dan5 2.-4.kvartila (Q2-Q4) | Q1 vs Q2-Q4 ADP redukcije |
|--------------------------------|-----------------------|--|--|----------------------------|---|---|---------------------------|
| Dob, godine | 59 (35-88) | 59 (37-87) | 59 (35-88) | P=0.773 | 64 (37-87) | 58 (35-88) | P=0.248 |
| Muškarci, n (%) | 60 (68.9%) | 18 | 8 | P=0.618 | 50 | 16 | P=0.739 |
| Prethodni IM, n (%) | 6 (8%) | 4 | 2 | P=0.987 | 4 | 2 | P=0.043 |
| Šećerna bolest, n (%) | 20 (22.9%) | 12 | 7 | P=0.311 | 14 | 5 | P=0.958 |
| Arterijska hipertenzija, n (%) | 57 (65.5%) | 16 | 42 | P=0.663 | 41 | 17 | P=0.184 |
| Pušenje, n (%) | 35 (40.2%) | 8 | 28 | P=0.762 | 9 | 27 | P=0.993 |

| | | | | | | | |
|--|--|---------------------|---------------------|-------------------------------|---------------------|---------------------|-------------------------------|
| Prethodna terapija lijekovima, n (%): - Statini - ACE inhibitori - β -blokatori | 83 (95.4%) 19 (21.8%) 18 (20.7%) | 62 14 13 | 21 4 4 | P=0.977 P=0.975 P=0.900 | 63 11 11 | 20 7 6 | P=0.960 P=0.183 P=0.377 |
| Broj trombocita, $\times 10^9/L$ | 234 (112-467) | 259 (161-363) | 245 (112-467) | P=0.527 | 269 (186-363) | 241 (112-467) | P=0.027 |
| MPV, fL | 8.7 (6.8-12.8) | 8.6 (7.8-11.1) | 8.8 (6.8-12.8) | P=0.688 | 8.6 (7.8-10.1) | 8.8 (6.8-12.8) | P=0.983 |
| HbA1c, % | 5.5 (3.7-10.1) | 5.5 (4.8-10.1) | 5.5 (3.7-10.0) | P=0.766 | 6.1 (3.9-8.6) | 5.5 (3.7-10.1) | P=0.222 |
| Glukoza (mmol/L) | 6.1 (3.3-17.5) | 5.9 (5.0-17.5) | 6.3 (3.3-13.2) | P=0.927 | 6.8 (5.1-13.0) | 5.9 (3.3-17.5) | P=0.048 |
| Kolesterol (mmol/L) | 5.3 (3.1-9.3) | 5.3 (4.2-8.8) | 5.4 (3.1-9.3) | P=0.518 | 5.4 (3.8-8.8) | 5.3 (3.1-9.3) | P=0.484 |
| LDL kolesterol (mmol/L) | 3.3 (1.2-6.9) | 3.3 (2.1-6.8) | 3.4 (1.2-6.9) | P=0.524 | 3.3 (2.1-6.8) | 3.4 (1.2-6.9) | P=0.969 |
| HDL kolesterol (mmol/L) | 1.2 (0.8-1.9) | 1.2 (0.8-1.8) | 1.2 (0.8-1.9) | P=0.962 | 1.1 (0.8-1.5) | 1.2 (0.7-1.9) | P=0.705 |
| Htc, % | 43.6 (30.8-50.4) | 43.9 (35.3-49.4) | 43.6 (30.8-50.4) | P=0.967 | 43.5 (31.4-50.2) | 43.7 (30.8-50.4) | P=0.868 |
| Homocistein ($\mu\text{mol/L}$) | 16.7 (6.1-37.9) | 17.1 (6.9-23.9) | 16.6 (6.1-37.9) | P=0.988 | 16.5 (8.3-28.4) | 16.8 (6.1-37.9) | P=0.836 |
| NT-proBNP (pg/mL) | 1769 (73-35000) | 2019 (98-35000) | 1632 (73-9851) | P=0.272 | 2024 (98-35000) | 1596 (73-9172) | P=0.222 |
| cTnT _{maks} ($\mu\text{g/L}$) | 4.5 (0.1-18.4) | 4.9 (0.1-18.4) | 4.5 (0.1-10.0) | P=0.208 | 4.5 (0.8-11.2) | 4.5 (0.1-11.1) | P=0.675 |
| CK _{maks} (U/L) | 1073 (55-7290) | 1147 (93-7290) | 1073 (57-5820) | P=0.413 | 1147 (441-7290) | 953 (57-5820) | P=0.226 |

Tablica 9. Demografske i kliničke osobine bolesnika

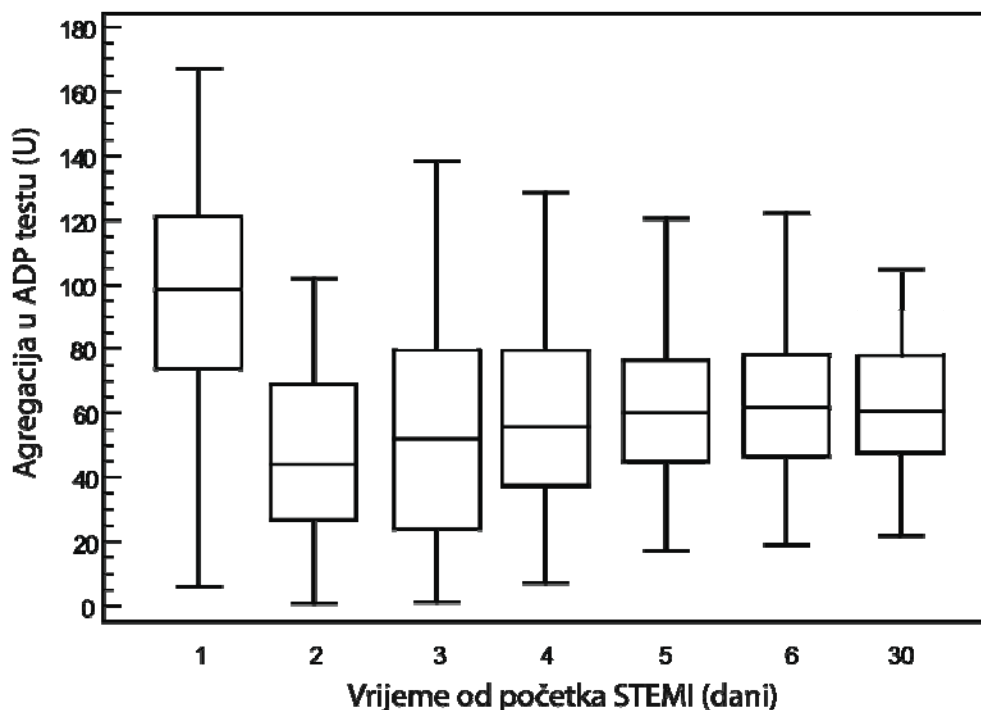
4.2.2. Dinamika osjetljivosti trombocita na acetilsalicilnu kiselinu i klopidogrel

Agregacija trombocita ovisna o AA značajno se smanjila drugi dan liječenja ($P < 0.001$) što je u jednog dijela bolesnika bila posljedica kratkotrajne primjene blokatora GpIIb/IIIa receptora, da bi se potom blago iako statistički značajno pojačala treći dan ($P = 0.012$). Od četvrtog dana liječenja više nije bilo značajnih promijena u antitrombotičnom učinku acetilsalicilne kiseline: dan 4 vs dan 5 ($P = 0.132$), dan 5 vs dan 6 ($P = 0.489$) i dan 6 vs dan 30 ($P = 0.528$). Friedmanov test za ponavljanja mjerenja pokazao je značajne razlike ako su se uspoređivala sva mjerenja ($P < 0.001$). Međutim, ako su uspoređivana mjerenja od četvrtog dana nadalje nije nađeno statistički značajne razlike ($P = 0.831$) (slika 1).



Slika 1. Dinamika agregacije trombocita ovisne o arahidonskoj kiselinu (ASPI test) tijekom prvih šest dana liječenja i nakon 30 dana od početka infarkta miokarda sa ST-elevacijom.

Slična dinamika agregacije zabilježena je i u ADP-testu, tj. agregacija trombocita ovisna o ADP značajno je smanjena drugi dan liječenja ($P < 0.001$) uz blagi oporavak već slijedeći dan. Od četvrtog dana više nije bilo značajnih promijena u izmjerenoj veličini agregacije trombocita: dan 4 vs dan 5 ($P = 0.143$), dan 5 vs dan 6 ($P = 0.213$) i dan 6 vs dan 30 ($P = 0.342$). Friedmanov test je i ovdje pokazao da se agregacija trombocita ovisna o ADP u bolesnika sa STEMI stabilizirala iza četvrtog dana ($P = 0.748$) (slika 2).



Slika 2. Dinamika agregacije trombocita ovisne o ADP (ADP test) tijekom prvih šest dana liječenja i nakon 30 dana od početka infarkta miokarda sa ST-elevacijom.

4.2.3. Varijabilnost prijetertapijske reaktivnosti trombocita

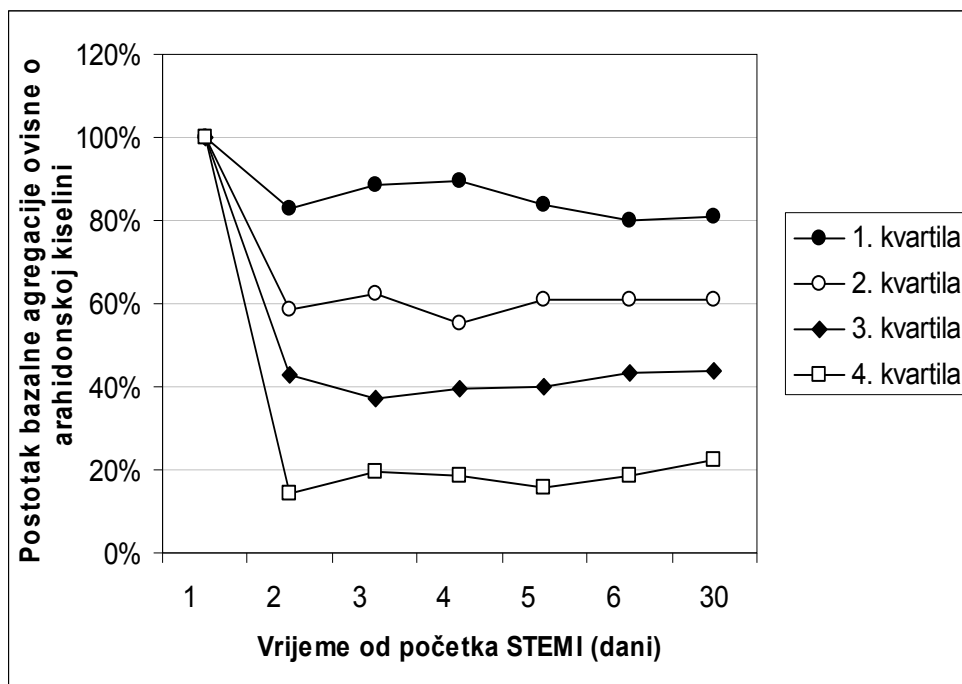
Prema veličini agregacije trombocita ovisnoj o AA koja je izmjerena prije uvođenja ASK u terapiju (tzv. bazalna ili prijetertapijska agregacija trombocita) bolesnici su podijeljeni u četiri kvartile: 1. kvartila (Q1): 13.6-35.0 U, 2. kvartila (Q2): 35.6-58.7 U, 3. kvartila (Q3): 66.7-97.3 U i 4. kvartila (Q4): 98.1-180.7 U. Podijela bolesnika u kvartile također je učinjena prema prijetertapijskoj agregaciji trombocita ovisnoj o ADP: 1. kvartila (Q1): 6.1-73.2 U, 2. kvartila (Q2): 74.5-96.6 U, 3. kvartila (Q3): 100.0-120.9 U i 4. kvartila (Q4): 121.0-167.0 U.

4.2.4. Varijabilnost osjetljivosti trombocita na acetilsalicilnu kiselinu i klopidogrel

S obzirom da se kod ispitanika agregacija trombocita nakon uvođenja ASK i klopidogrela u terapiju stabilizirala nakon četvrtog dana liječenja, odlučili smo kao pokazatelje osjetljivosti na učinak navedenih antitrombocitnih lijekova uzeti apsolutnu veličinu agregacije trombocita izmjerenu peti dan liječenja i relativno smanjenje agregacije petog

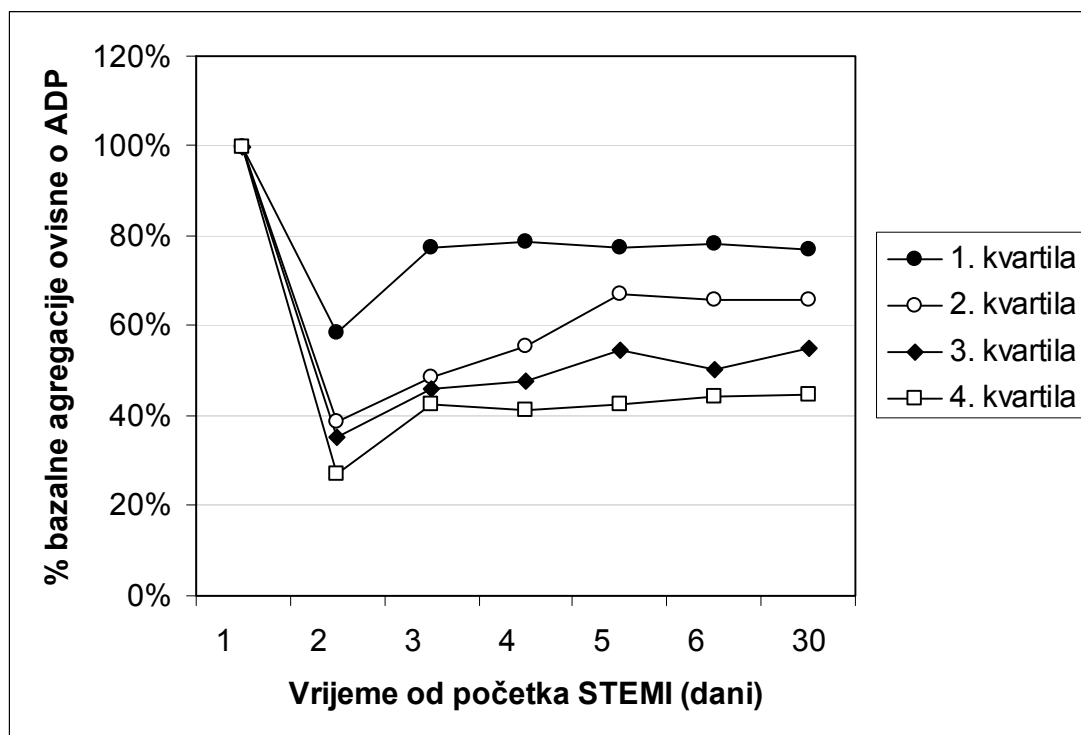
dana liječenja u odnosu na prijeterapijsku vrijednost.

Bolesnici su prema tako izmjerenom postotku smanjenja agregacije trombocita ovisne o AA podijeljeni u četiri kvartile: 1. kvartila (Q1): -29-8%, 2. kvartila (Q2): 8.5-44.6%, 3. kvartila (Q3): 46.5-73.8% i 4. kvartila (Q4): 73.9-96.7% (slika 3a).



Slika 3a. Kvartile osjetljivosti na acetilsalicilnu kiselinu u ASPI-testu

Kvartile relativnog smanjenja agregacije trombocita u ADP testu od prvog do petog dana liječenja klopidogetrelom su: 1. kvartila (Q1): -57.4-4%, 2. kvartila (Q2): 5-27%, 3. kvartila (Q3): 28-50% i 4. kvartila (Q4): 52-78% (slika 3b).



Slika 3b. Kvartile osjetljivosti na klopidogrel u ADP-testu

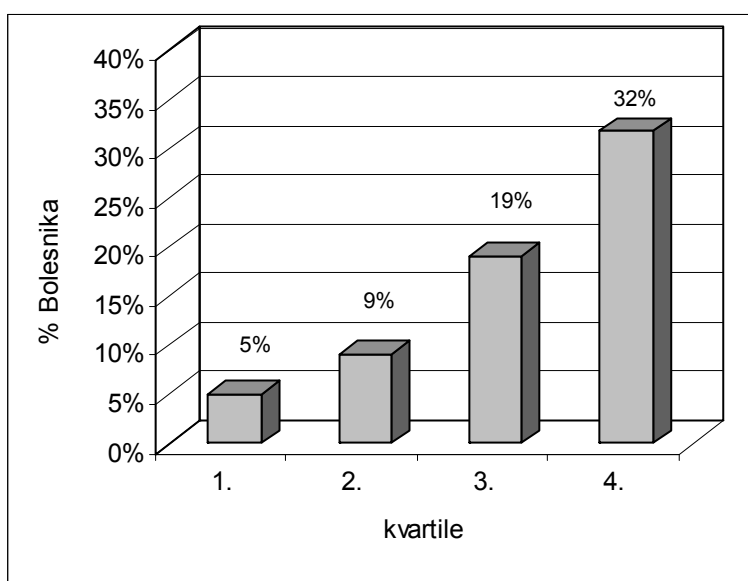
Nije bilo statistički značajne razlike u osnovnim i kliničkim osobinama, vrsti lijekova niti u izmjerenim biokemijskim pokazateljima kardiovaskularnog rizika, veličini infarkta ili srčanog popuštanja između bolesnika u prvoj kvartili u odnosu na bolesnike u ostale tri kvartile smanjenja agregacije trombocita (Q2-Q4) ovisne o AA (tablica 9).

Međutim, oni u prvoj kvartili redukcije agregacije ovisne o ADP tj. bolesnici s najslabijim odgovorom trombocita na klopidogrel imali su češće podatak o prethodnom infarktu miokarda, veći broj trombocita i višu serumsku koncentraciju glukoze prema bolesnicima u ostalim kvartilama (Q2-Q4) (tablica 9).

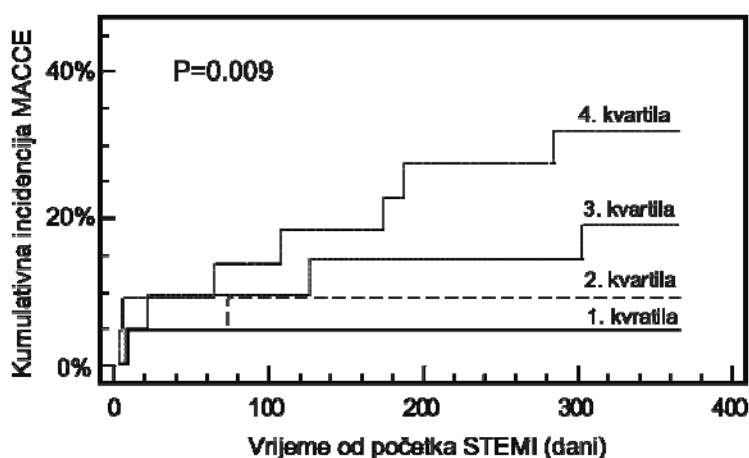
4.2.5. Utjecaj prijeterapijske reaktivnosti trombocita na dugoročnu prognozu bolesnika s infarktom miokarda sa ST-elevacijom

Tijekom jednogodišnjeg kliničkog praćenja bolesnika u studiji 14 bolesnika (16.1%) je doživjelo neki od velikih nepovoljnih kardiocerebrovaskularnih događaja (MACCE, engl. *major adverse cardiac and cerebrovascular events*): 4 bolesnika su umrli (4.6%), u 4 bolesnika ponovio se infarkt miokarda (4.6%), 2 je razvilo trombozu u stentu (2.3%), kod 3 bolesnika (3.4%) učinjena je ponovna revaskularizacija ciljne koronarne arterije (TVR, engl. *target vessel revascularization*), a dvoje bolesnika doživjelo je ishemijski moždani udar (2.3%). U jednog bolesnika s moždanim udarom ponovio se i infarkt miokarda.

Dakle, ukupno 14 bolesnika u studiji tijekom godine dana praćenja razvilo je 15 velikih nepovoljnih kardiocerebrovaskularnih događaja. Među bolesnicima od prve do četvrte kvartile bazalne agregacije trombocita ovisne o ADP prati se postupni porast učestalosti MACCE. Svega 7% nepovoljnih događaja zbililo se među bolesnicima u 1. kvartili, 13% u 2. kvartili, 33% u 3. kvartili i gotovo polovica (47%) svih MACCE u 4. kvartili prijetertapijske reaktivnosti trombocita u ADP testu (P za trend = 0.007). Dakle, sedam bolesnika (32%) u 4. kvartili doživjelo je neki od MACCE, četvero (19%) u 3. kvartili, dvoje (9%) u drugoj kvartili i samo jedan bolesnik (5%) u prvoj kvartili, tj. u kvartili s najnižom bazalnom reaktivnosti trombocita ovisnoj o ADP (P za trend = 0.009) (slike 4 i 5).



Slika 4. Incidencija nepovoljnih kardiocerebrovaskularnih događaja (MACCE) tijekom godine dana praćenja prema kvartilama prijetertapijske reaktivnosti trombocita ovisne o ADP.



Slika 5. Kumulativna incidencija velikih kardiocerebrovaskularnih događaja (MACCE) tijekom godine dana nakon primarne perkutane koronarne intervencije u infarktu miokarda sa ST-elevacije prema kvartilama prijetertapijske agregacije trombocita ovisne o ADP.

S druge strane, prijeterapijska agregacija trombocita ovisna o AA nije bila povezana s pojavom nepovoljnih događaja tijekom jednogodišnjeg praćenja ovih bolesnika.

4.2.6. Povezanost osjetljivosti trombocita na acetilsalicilnu kiselinu i klopidogrel s dugoročnom prognozom bolesnika s infarktom miokarda sa ST-elevacijom

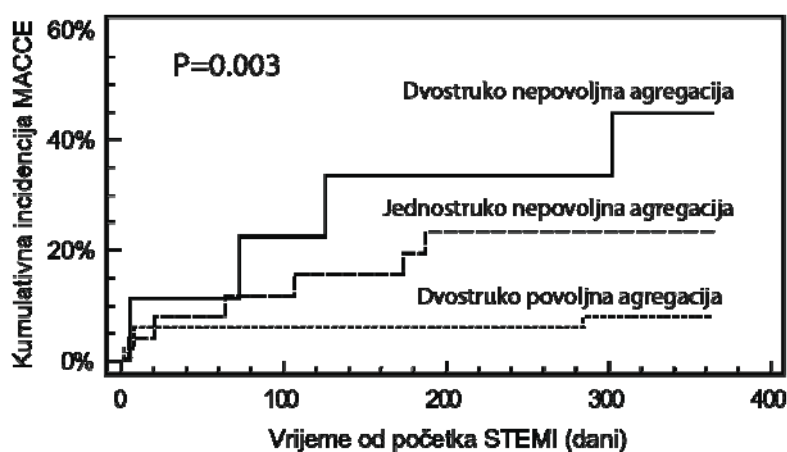
Dok je čak osam od 23 bolesnika u prvoj kvartili redukcije agregacije trombocita ovisne o AA tj. u kvartili najslabijeg učinka ASK doživjelo neki od MACCE, ovo se dogodilo u svega šest od ukupno 64 bolesnika u ostalim kvartilama (Q2-Q4) (34.8% vs 9.4%; $P=0.012$).

Stupanj poslijeterapijskog smanjenja agregacije trombocita ovisne o ADP slično je bio povezan s kliničkim ishodom bolesnika u studiji tijekom godinu dana njihova praćenja. Dok je čak sedam od 23 bolesnika u kvartili najmanje redukcije agregacije u ADP testu (Q1) doživjelo neki od MACCE, ovo se dogodilo u svega sedam od ukupno 64 bolesnika u ostale tri kvartile (Q2-Q4) (30.4% vs 10.9%; $P=0.033$).

4.2.7. Dvostruka otpornost na antitrombocitnu terapiju i njezin utjecaj na dugoročnu prognozu bolesnika s infarktom miokarda sa ST-elevacijom

Od ukupno 87 ispitanika, njih 9 (10.3%) imalo je nepovoljni antitrombocitni odgovor istovremeno na ASK i na klopidogrel (tj. istovremeno su pripadali kvartilama najslabije redukcije agregacije u ASPI- i ADP-testu), 26 bolesnika (29.9%) pokazalo je nepovoljni antitrombocitni odgovor na samo jedan od navedenih antitrombocitnih lijekova, dok su 52 bolesnika (59.8%) imala zadovoljavajući antitrombocitni odgovor na oba antitrombocitna lijeka.

Dok su u skupini bolesnika s dvostrukom otpornosti na antitrombocitnu terapiju čak četvorica doživjela neki od nepovoljnih kardiocerebrovaskularnih događaja (44.4%), ovo se dogodilo u 6 bolesnika s jednostrukom otpornosti na antitrombocitnu terapiju (23.1%) te u svega 4 bolesnika s dvostruko povoljnim odgovorom na antitrombocitnu terapiju (7.7%) (P za trend = 0.003) (slika 6).



Slika 6. Kumulativna incidencija velikih kardiocerebrovaskularnih događaja (MACCE) unutar godine dana nakon primarne perkutane koronarne intervencije u infarktu miokarda sa ST-elevacije prema jačini odgovora na dvojni antitrombocitnu terapiju.

4.3. Rasprava

Ključna uloga trombocita u patogenezi akutnog koronarnog sindroma, pa tako i infarkta miokarda sa ST-elevacijom (STEMI) opravdava središnje mjesto antitrombocitnih lijekova u terapijskom algoritmu. Upravo je cilj velikih doza zasićenja acetilsalicilne kiseline (ASK) i klopidogrela u što bržem postizanju snažnog antitrombocitnog učinka s namjerom obuzdavanja "lančane reakcije" primarne hemostaze.

Ovim istraživanjem analizirali smo reaktivnost trombocita i njihovu osjetljivost na standardno antitrombocitno liječenje acetilsalicilnom kiselinom i klopidogrelom isključivo u populaciji bolesnika s akutnim infarktom miokarda sa ST-elevacijom, te ispitali povezanost ovih pojava s dugoročnim kliničkim ishodom. Većina dosadašnjih studija otpornosti na antitrombocitnu terapiju nije uključivala bolesnike sa STEMI ili su oni predstavljali manji dio u miješovitoj populaciji bolesnika sa stabilnom koronarnom bolesti, nestabilnom anginom ili infarktom miokarda. Osim temeljne studije Matetzky i sur objavljene još 2004. godine u *Circulationu* ovo je do sada jedino istraživanje koje je provedeno isključivo u ovoj visokorizičnoj populaciji (179). Za razliku od navedene studije u kojoj je ispitana klinička važnost slabije osjetljivosti na antitrombocitni učinak klopidogrela, u naših smo bolesnika istovremeno mjerili odgovor trombocita na obje komponente dvostruke antiagregacijske terapije (DAT, engl. *dual antiaggregation therapy*).

Poznato je da je reaktivnost trombocita promijenljivo svojstvo te u zdravih osoba pokazuje cirkadijani ritam, a mijenja se čak i nakon jela (247). U uvjetima akutnog infarkta miokarda veliki broj čimbenika pojačava funkciju trombocita i slabi antitrombocitni učinak ASK i/ili klopidogrela poput pojačanog otpuštanja mladih trombocita s obilnim sadržajem COX-2 koja je praktički neosjetljiva na standardne doze

acetilsalicilne kiseline, povećanog obrtaja trombocita koje je teško učinkovito inhibirati uobičajenim davanjem antitrombocitnih lijekova u jednoj dnevnoj dozi, povišenog tonusa simpatičkog autonomnog živčanog sustava, velike količine ADP i drugih agonista agregacije koji se iz nekrotičnog miokarda oslobađaju u cirkulaciju i na kraju upale koja omogućuje cijeljenje oštećenog srčanog mišića (221, 247-249). Navedeni čimbenici promijenjivog su intenziteta, osobito u najranijoj fazi bolesti pa je za očekivati da su reaktivnost trombocita i odgovor na antitrombocitnu terapiju u akutnom infarktu miokarda dinamični događaji koji se mijenjaju iz dana u dan. Matetzky i sur zaključili su da od četvrtog dana liječenja klopido-grelom u STEMI nije bilo značajnih promijena u jačini ADP-ovisne agregacije trombocita (179). Ovo je slično našem zapažanju da se agregacija trombocita ovisna o ADP, ali i o arahidonskoj kiselini u bolesnika sa STEMI stabilizira iza četvrtog dana liječenja.

Reaktivnost trombocita u ovih bolesnika ostaje postojana i mjesec dana nakon akutnog koronarnog događaja.

Visoka prijeterapijska reaktivnost trombocita već je poznati prediktor lošijeg kardiovaskularnog ishoda bolesnika sa STEMI. Našim smo istraživanjem dokazali geometrijski porast incidencije velikih nepovoljnih kardiocerebrovaskularnih događaja (MACCE, engl. *major adverse cardiac and cerebrovascular events*) među bolesnicima od kvartile najslabije do kvartile najjače reaktivnosti trombocita u ADP-testu. Zanimljivo je da prijeterapijska reaktivnost trombocita ovisna o arahidonskoj kiselini nije bila povezana s prognozom bolesnika nakon STEMI. Borna i sur su kod bolesnika sa STEMI izmjerili visoku serumsku koncentraciju ADP, koja je bila znatno viša od one u bolesnika s NSTEMI ili u kontrolnih ispitanika bez koronarne bolesti (155). Moguće je da izloženost trombocita tako velikoj količini ADP iz nekrotičnog miokarda u bolesnika sa STEMI povezana s činjenicom da upravo agregacija ovisna o ovom nukleotidu a ne o arahidonskoj kiselini bolje korelira s budućim kliničkim ishodom. Osim preko P2Y₁₂ tipa receptora, ADP pojačava agregaciju trombocita i putem P2Y₁ receptora (250). Dok se prvi blokiraju primjenom klopido-grela, drugi ostaju neinhibirani danas postojećim antitrombocitnim lijekovima. Moguće je da testovi agregacije trombocita koji poput Multiplate[®] ADP-testa nisu sasvim specifični za P2Y₁₂ tip receptora, mjereći usput aktivnost P2Y₁ receptora omogućuju uvid i u ovaj dio agregacije trombocita koji je ostao "nepokriven" standardnom dvojnomo antiagregacijskom terapijom, te tako u konačnici bolje koreliraju s budućim ishodom ovih bolesnika.

Odgovor na antitrombocitno liječenje pokazuje značajnu interindividualnu varijabilnost. Ova je varijabilnost u dosadašnjim studijama bila povezana s različitim čimbenicima i bolestima. Bolesnici koji su u našoj studiji pokazali najmanju redukciju agregacije trombocita u ASPI testu, tj. koji su bili otporni na učinak ASK nisu se

razlikovali prema osnovnim demografsko-kliničkim osobinama od ostalih bolesnika. Međutim, otpornost na klopido­gre­l bila je povezana s češćim anamnestičkim podatkom o prethodno preboljelom infarktu, većim brojem trombocita kao i višom serumskom koncentracijom glukoze (251).

Otpornost na ASK i klopido­gre­l koju smo definirali kao nedovoljno relativno smanjenje agregacije trombocita u ASPI- i ADP-testu pokazali su značajnu povezanost s pojavom budućih nepovoljnih kardiocerebrovaskularnih događaja (MACCE, engl. *major adverse cardiac and cerebrovascular events*) tijekom godine dana praćenja nakon akutnog STEMI. Pitanje je zašto relativno smanjenje reaktivnosti trombocita, a ne apsolutna reaktivnost trombocita nakon uvođenja antitrombocitne terapije korelira s budućim kliničkim ishodom. Moguće je da upravo relativna promijena reaktivnosti trombocita bolje odražava svu dinamičnost patofiziologije primarne hemostaze tijekom kompleksnog zbivanja kao što je akutni infarkt miokarda, te kao takva uključuje više varijabli o kojima ovisi budućnost bolesnika s akutnim koronarnim zbivanjem.

Dio bolesnika liječenih s ASK i klopido­gre­lom pokazuje istovremenu otpornost na oba lijeka. Tzv. dvostruka rezistencija na antitrombocitnu terapiju pokazala se u bolesnika liječenih perkutanom koronarnom intervencijom povezana s lošijim ishodom (146). Također se pokazala vrlo dobrim prediktorom tromboze u stentu i kardiovaskularne smrti kod bolesnika nakon implantacije stentova koji luče lijek (DES) (234). Među ispitanicima u našoj studiji koju su činili isključivo bolesnici s infarktom miokarda sa ST-elevacijom bilo je 10% dvostruko otpornih na antitrombocitno liječenje. Pojavnost MACCE u ovoj skupini bila je gotovo dvostruko veća u odnosu na bolesnike koji su pokazivali otpornost na samo jednu od komponenti dvostruke antiagregacijske terapije (44.4 % vs 23.1%). Čini se da je ovakva dvostruka otpornost na antitrombocitno liječenje posljedica specifičnog i nepovoljnog trombocitnog fenotipa koji čini njihove nositelje osobito “vulnerabilnim” za kasnije ponavljanje trombotskih komplikacija.

4.4. Zaključak

1. *Dinamičnost agregacije trombocita* ovisne o arahidonskoj kiselini, odnosno antitrombocitni učinak standardnih doza acetilsalicilne kiseline u akutnom infarktu miokarda sa ST-elevacijom stabilizira se iza četvrtog dana od početka liječenja i ne mijenja se značajno niti 30 dana nakon akutnog događaja.
2. *Dinamičnost agregacije trombocita* ovisne o adeno­zin-difosfatu, odnosno antitrombocitni učinak standardnih doza klopido­gre­la u akutnom infarktu miokarda sa ST-elevacijom također se stabilizira nakon četvrtog dana od početka liječenja te ostaje bez značajnih promijena i nakon 30 dana.

3. *Prijeterapijska reaktivnost trombocita* i njezino relativno smanjenje u odnosu na vrijeme kada odgovor na antitrombocitnu terapiju postaje stabilan kao pokazatelj *osjetljivosti na acetilsalicilnu kiselinu i klopidogrel* pokazuju značajnu interindividualnu varijabilnost.
4. *Prijeterapijska reaktivnost trombocita* ovisna o adenozin-difosfatu jasno korelira s pojavom budućih neželjenih kardiocerebrovaskularnih događaja u bolesnika s infarktom miokarda sa ST-elevacijom i to geometrijskim porastom incidencije neželjenih događaja između kvartila ove reaktivnosti.
5. *Prijeterapijska reaktivnost trombocita* ovisna o arahidonskoj kiselini nije se pokazala povezana s pojavom budućih neželjenih kardiocerebrovaskularnih događaja u ovih bolesnika.
6. *Osjetljivost trombocita na acetilsalicilnu kiselinu* definirana kao relativno smanjenje agregacije trombocita ovisne o arahidonskoj kiselini peti dan liječenja acetilsalicilnom kiselinom u infarktu miokarda sa ST-elevacijom (kada se agregacija trombocita pod terapijom stabilizirala) u odnosu na prijeterapijsku agregaciju povezana je s pojavom neželjenih kardiovaskularnih događaja tijekom jednogodišnjeg kliničkog praćenja ovih bolesnika. Kvartila s najmanjim postotkom smanjenja agregacije trombocita ovisne o arahidonskoj kiselini (tj. bolesnici otporni na acetilsalicilnu kiselinu) imala je značajno više neželjenih kardiocerebrovaskularnih događaja u odnosu na ostale bolesnike.
7. *Osjetljivost trombocita na klopidogrel* definirana kao relativno smanjenje agregacije trombocita ovisne o adenozin-difosfatu peti dan liječenja klopidogrelom u infarktu miokarda sa ST-elevacijom (kada se agregacija trombocita pod terapijom stabilizirala) u odnosu na prijeterapijsku agregaciju povezana je s pojavom neželjenih kardiovaskularnih događaja tijekom jednogodišnjeg kliničkog praćenja ovih bolesnika. Kvartila s najmanjim relativnim smanjenjem agregacije trombocita ovisne o adenozin-difosfatu (tj. bolesnici otporni na klopidogrel) imala je značajno više neželjenih kardiocerebrovaskularnih događaja u odnosu na ostale bolesnike.
8. *Dvostruka otpornost na antitrombocitnu terapiju* u bolesnika liječenih standardnim dozama ASK i klopidogrela osobito je rizična za pojavu kasnijih neželjenih kardiocerebrovaskularnih događaja.

Poglavlje 5

POVEZANOST OTPORNOSTI NA ACETILSALICILNU KISELINU S POJAVOM SPONTANE REKANALIZACIJE KORONARNE ARTERIJE ODGOVORNE ZA INFARKT MIOKARDA SA ST-ELEVACIJOM U BOLESNIKA KOJI ACETILSALICILNU KISELINU TROŠE OD RANIJE

5.1. Metode

5.1.1. Ispitanici

Istraživanje je provedeno u Klinici za bolesti srca i krvnih žila Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkog bolničkog centra Zagreb. U istraživanje je uključeno 70 konsekutivnih bolesnika sa STEMI koji su od ranije, tijekom minimalno 7 dana, trošili acetilsalicilnu kiselinu (ASK) u dozi 100 mg dnevno. Suradljivost bolesnika u uzimanju lijeka provjerena je intervjuom.

Dijagnoza STEMI postavljena je na temelju akutnih bolova u prsištu i elevacije ST-spojnice za ≥ 0.1 mV u dva susljedna EKG odvoda u trajanju ≥ 20 minuta, praćenih porastom aktivnosti MB izoenzima kreatin-kinaze (CK-MB) i/ili koncentracije kardioselektivnog troponina T (cTnT) u serumu.

Isključni kriteriji bili su: ranija terapija klopidogrelom, nesteroidnim antireumaticima, heparinom i inhibitorima glikoproteinskih IIb/IIIa receptora, anamneza hemoragijske dijateze, broj trombocita $\leq 100 \times 10^9/L$, hematokrit ≤ 0.30 i zatajivanje bubrega sa serumskim kreatininom $\geq 140 \mu\text{mol/L}$.

Istraživanje je provedeno prema propisima Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkog bolničkog centra Zagreb. Svi ispitanici potpisali su informirani pristanak.

5.1.2. Testovi agregacije trombocita

Agregacija trombocita ispitivana je u uzorku pune krvi metodom Multiplate[®]. Uzorak krvi uzet je iz antekubitalne vene u hepariniziranu epruvetu prije davanja doza zasićenja ASK ili klopidogrela, te je prema preporuci proizvođača testiran u vremenu između 30 min i 3 h nakon vađenja uzorka.

Metoda Multiplate[®] (Dynabyte medical, Munich, GER) za ispitivanje agregacije trombocita opisana je u prethodnom poglavlju. U ovom dijelu istraživanja koristili smo

samo Multiplate® ASPI-test zbog ispitivanja veličine agregacije trombocita ovisne o AA kod bolesnika sa STEMI koji od ranije troše 100 mg ASK dnevno.

5.1.3. Koronarografija

U svih bolesnika nakon doza zasićenja ASK i klopidozola učinjena je koronarna angiografija transfemoralnim pristupom.

Angiografski filmovi snimljeni su na GE Advantx LX uređaju u DICOM formatu pri brzini 12.5 sličica u sekundi.

Dva neovisna intervencijska kardiologa koji nisu znali za rezultate agregometrijskih mjerenja odredila su stupanj TIMI protoka na inicijalnoj koronarografiji u Laboratoriju za kateterizaciju srca Klinike za bolesti srca i krvnih žila Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Kliničkog bolničkog centra.

TIMI-0 definiran je kao potpuna opstrukcija protoka kontrasta u koronarnoj arteriji odgovornoj za infarkt miokarda (IRA, engl. *infarct-related artery*), TIMI-1 definiran je kao dijelomični prolaz kontrasta iza mjesta opstrukcije IRA-e ali bez perfuzije distalnog dijela arterije, TIMI-2 kao potpuna perfuzija arterije ali s odgođenim punjenjem distalne žile u odnosu na normalnu koronarnu arteriju. TIMI-3 se odnosi na potpunu perfuziju arterije normalnom brzinom (252).

5.1.4. Statistička obrada

Za prikaz rezultata i statističku analizu upotrebljeni su programi Microsoft Excel XP i MedCalc v. 7.2.1.0. Kontinuirane varijable prikazane su pomoću medijana i interkvartilnog raspona, a kategoričke varijable kao apsolutna i relativna frekvencija.

Agregacija trombocita u ASPI-testu prikazana je kao apsolutna vrijednost (U).

Za usporedbu skupina korišteni su Wilcoxonov test (za neovisne i ovisne uzorke prema potrebi) i Kruskal-Wallis test za kontinuirane varijable, odnosno χ^2 -test za kategorijske varijable. Za izračunavanje korelacije korišten je Spearmanov test. Statistička značajnost postavljena je na $\alpha=0.05$.

5.2. Rezultati

5.2.1. Osobine ispitanika

Ukupno je uključeno 70 bolesnika. Medijan dobi iznosio je 58 godina (raspon 35-88

godina). Pedeset ispitanika (71.4%) bili su muškarci. Ostale demografske i kliničke osobine ispitanika prikazani su u tablici 10.

5.2.2. Varijabilnost osjetljivosti trombocita na acetilsalicilnu kiselinu koju bolesnici s infarktom miokarda sa ST-elevacijom troše od ranije

Prisutna je znatna interindividualna varijabilnost u veličini agregacije trombocita ovisne o AA s medijanom agregacije u ASPI-testu od 55.9 U (raspon 13.6–180.7 U). Bolesnici su prema izmjerenim vrijednostima podijeljeni u četiri kvartile: 1. kvartila (Q1): 13.6–35.6 U, 2. kvartila (Q2): 35.6–55.9 U, 3. kvartila (Q3): 55.9–95.9 U i 4. kvartila (Q4): 95.9–180.7 U. Nije nađena značajna razlika između pojedinih kvartila agregacije trombocita ovisne o AA u odnosu na dob, spol, podatak o prethodnom infarktu miokarda, šećernu bolest, arterijsku hipertenziju, hiperkolesterolemiju, pušenje ili vrstu lijekova. Također nije bilo razlika niti u odnosu na broj i srednji volumen trombocita (tablica 10).

| | Kvartile agregacije u ASPI-testu | | | | | P |
|---|----------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------|
| | Svi ispitanici (n=70) | 1. kvartila (n=18) | 2. kvartila (n=17) | 3. kvartila (n=17) | 4. kvartila (N=18) | |
| Dob, godine | 58 (35-88) | 56 (35-82) | 64 (51-75) | 55 (48-87) | 59 (38-88) | 0.318 |
| Muškarci, n (%) | 50 (71.4%) | 14 (77.8%) | 12 (70.6%) | 14 (82.4%) | 10 (55.6%) | 0.242 |
| Prethodni IM, n (%) | 4 (5.8%) | 1 (5,6%) | 0 (0%) | 2 (11.8%) | 1 (5,6%) | 0.660 |
| Šećerna bolest, n (%) | 16 (23.2%) | 4 (22.2%) | 2 (11.8%) | 5 (29.4%) | 5 (27.8%) | 0.469 |
| Arterijska hipertenzija, n (%) | 43 (62.3%) | 11 (61.1%) | 12 (70.6%) | 9 (52.9%) | 11 (61.1%) | 0.692 |
| Hiperkolesterolemija, n (%) | 54 (78.3%) | 16 (88.9%) | 11 (64.7%) | 15 (88.2%) | 12 (66.7%) | 0.259 |
| Pušenje, n (%) | 28 (40.6%) | 9 (50%) | 4 (23.5%) | 9 (52.9%) | 6 (33.3%) | 0.6349 |
| Prethodna terapija lijekovima, n (%) | | | | | | |
| - Statini | 4 (5.8%) | 2 (11.1%) | 0 (0%) | 1 (5.9%) | 1 (5.6%) | 0.641 |
| - ACE inhibitori | 14 (20.3%) | 3 (16.7%) | 6 (35.3%) | 2 (11.8%) | 3 (16.7%) | 0.580 |
| - β-blokatori | 14 (20.3%) | 5 (27.8%) | 4 (23.5%) | 3 (17.6%) | 2 (11.1%) | 0.179 |
| Broj trombocita, ×10⁹/L | 248 (112-467) | 251 (168-405) | 239 (112-431) | 244 (193-336) | 253 (192-467) | 0.879 |
| MPV, fL | 8.5 (6.8-11.5) | 8.4 (7.2-9.8) | 8.6 (6.9-10.4) | 8.8 (6.8-10.1) | 8.9 (7.5-11.5) | 0.239 |

Tablica 10. Demografske i kliničke osobine bolesnika prema kvartilama agregacije trombocita ovisne o arahidonskoj kiselinu (ASPI-test)

5.2.3. Varijabilnost TIMI protoka na inicijalnoj koronarografiji

TIMI 3 protok u arteriji odgovornoj za infarkt miokarda nađen je u 4 bolesnika (6%), TIMI 2 protok u 6 bolesnika (9%), TIMI 1 protok u 12 bolesnika (17%) i TIMI 0 u 48 bolesnika (68%) na inicijalnom koronarogramu. Vrsta TIMI protoka nije bila povezana s bolesnikovom dobi, spolom, šećernom bolesti, arterijskom hipertenzijom, hiperkolesterolemijom, pušenjem, ranijom medikamentnom terapijom, brojem i srednjim volumenom trombocita (tablica 11).

| | Svi ispitanici (n=70) | TIMI protok na inicijalnoj koronarografiji | | | | P |
|---|--------------------------|--|------------------|-----------------|-----------------|-------|
| | | TIMI 0 (n=48) | TIMI 1 (n=12) | TIMI 2 (n=6) | TIMI 3 (n=4) | |
| Dob, godine | 58 (35-88) | 58 (35-88) | 63 (50-85) | 53 (47-79) | 59 (37-69) | 0.413 |
| Muškarci, n (%) | 50 (71.4%) | 32 (66.7%) | 9 (75%) | 6 (100%) | 3 (75%) | 0.386 |
| Prethodni IM, n (%) | 4 (5.8%) | 2 (4.2%) | 1 (8.3%) | 0 (0%) | 1 (25%) | 0.332 |
| Šećerna bolest, n (%) | 16 (23.2%) | 10 (20.8%) | 5 (41.7%) | 0 (0%) | 1 (25%) | 0.239 |
| Arterijska hipertenzija, n (%) | 43 (62.3%) | 27 (56.2%) | 10 (83.3%) | 3 (50%) | 3 (75%) | 0.335 |
| Hiperkolesterolemija, n (%) | 54 (78.3%) | 36 (75%) | 8 (66.7%) | 6 (100%) | 4 (100%) | 0.284 |
| Pušenje, n (%) | 28 (40.6%) | 17 (35.4%) | 4 (33.3%) | 4 (66.7%) | 3 (75%) | 0.231 |
| Prethodna terapija lijekovima, n (%) | | | | | | |
| - Statini | 4 (5.8%) | 2 (4.2%) | 1 (8.3%) | 0 (0%) | 1 (25%) | 0.332 |
| - ACE inhibitori | 14 (20.3%) | 8 (16.7%) | 4 (33.3%) | 2 (33.3%) | 0 (0%) | 0.359 |
| - β-blokatori | 14 (20.3%) | 8 (16.7%) | 3 (25%) | 2 (33.3%) | 1 (25%) | 0.762 |
| Broj trombocita, ×10⁹/L | 248 (112-467) | 253 (112-467) | 224 (155-298) | 260 (224-307) | 231 (193-261) | 0.199 |
| MPV, fL | 8.5 (6.8-11.5) | 8.5 (6.8-11.5) | 8.8 (8.0-10.1) | 8.2 (7.3-9.8) | 8.7 (8.2-9.4) | 0.574 |

Tablica 11. Demografske i kliničke osobine bolesnika prema vrsti TIMI protoka u koronarnoj arteriji odgovornoj za infarkt miokarda

5.2.4. Povezanost otpornosti na acetilsalicilnu kiselinu s pojavom spontane rekanalizacije koronarne arterije odgovorne za infarkt miokarda sa ST-elevacijom u bolesnika koji acetilsalicilnu kiselinu troše od ranije

Kada smo TIMI protok na inicijalnom koronarogramu usporedili s jačinom agregacije trombocita ovisne o AA našli smo znatno veću učestalost TIMI 2 i TIMI 3 protoka, tj. spontane rekanalizacije arterije odgovorne za STEMI kod bolesnika u nižim kvartilama agregacije trombocita ($P=0.014$) (tablica 12). Niti jedan bolesnik u kvartili najjače agregacije trombocita (Q4) tj. najslabijeg antitrombocitnog učinka ASK nije imao spontano rekanaliziranu koronarnu arteriju odgovornu za STEMI.

| | 1. kvartila | 2. kvartila | 3. kvartila | 4. kvartila | |
|--------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------|
| TIMI 0 | 11 (61.1%) | 14 (82.4%) | 9 (52.9%) | 14 (77.8%) | $P=0.014$ |
| TIMI 1 | 1 (5.6%) | 3 (17.6%) | 4 (23.5%) | 4 (22.2%) | |
| TIMI 2 | 5 (27.8%) | 0 (0%) | 1 (5.9%) | 0 (0%) | |
| TIMI 3 | 1 (5.6%) | 0 (0%) | 3 (17.6%) | 0 (0%) | |
| Ukupno ispitanika | 18 (100%) | 17 (100%) | 17 (100%) | 18 (100%) | |

Tablica 12. Distribucija TIMI protoka na inicijalnom koronarogramu prema kvartilama agregacije trombocita ovisne o arahidonskoj kiselini (ASPI-test)

5.3. Rasprava

Korist od liječenja acetilsalicilnom kiselinom u akutnom infarktu miokarda sa ST-elevacijom nedvojbeno je dokazana. U ISIS-2 studiji ASK u monoterapiji pokazala se gotovo jednako djelotvorna kao i reperfuzijsko liječenje streptokinazom (62).

Nije međutim poznato imali li ova činjenica veze s pojavom tzv. spontane rekanalizacije arterije odgovorne za infarkt miokarda (IRA, engl. *infarct related artery*) koja je povezana sa značajno boljom prognozom u odnosu na bolesnike čija je ciljna arterija ostala neprohodna. Na povezanost funkcije trombocita s pojavom spontane prohodnosti koronarne arterije u akutnom STEMI ukazala su neka ranija istraživanja. Topljivi trombocitni glikoprotein V kao pokazatelj jačine aktivacije trombocita, nađen je u znatno većoj koncentraciji u plazmi bolesnika koji su se u STEMI prezentirali okluzijom

na inicijalnom koronarogramu u usporedbi s bolesnicima koji su imali spontano rekanaliziranu odgovornu koronarnu arteriju (91). Dok je u u studiji Madena i sur srednji volumen trombocita bio neovisni prediktor spontane rekanalizacije koronarne arterije u infarktu, naši se ispitanici nisu razlikovali prema ovom pokazatelju (92).

Ovo je istraživanje prvo takve vrste koje je ispitalo povezanost jačine antitrombocitnog učinka acetilsalicilne kiseline na spontanu rekanalizaciju odgovorne koronarne arterije u bolesnika koji ovaj lijek troše od ranije. U našoj studiji imali smo svega 6% bolesnika s TIMI 3 protokom za razliku od studije Stonea i sur gdje je takvih bolesnika bilo čak 16% (15). Ovakva se razlika može objasniti definiranjem TIMI 3 protoka u navedenoj studiji kao "kompletne perfuzije distalne arterije do trećeg srčanog ciklusa" što je zasigurno precijenilo broj bolesnika s TIMI 3 protokom u odnosu na njegovu originalnu definiciju koju smo koristili u našem istraživanju (14).

Rezultati ovog istraživanja pokazuju da bolesnici s jačim antitrombocitnim učinkom acetilsalicilne kiseline imaju značajno češću pojavu spontane rekanalizacije odgovorne koronarne arterije na inicijalnom angiogramu u usporedbi s bolesnicima čija je agregacija trombocita ovisna o arahidonskoj kiselini bila suboptimalna. Niti jedan ispitanik u kvartili najjače agregacije nije imao spontano rekanaliziranu ciljnu koronarnu arteriju.

5.4. Zaključak

1. Osjetljivost trombocita na acetilsalicilnu kiselinu koju bolesnici s akutnim infarktom miokarda sa ST-elevacijom koriste od ranije izmjerena kao veličina agregacije trombocita ovisna o arahidonskoj kiselini pokazuje značajnu interindividualnu varijabilnost.
2. Osjetljivost trombocita na acetilsalicilnu kiselinu kojom se liječe od ranije izmjerena kao veličina agregacije trombocita ovisne o arahidonskoj kiselini u bolesnika s infarktom miokarda sa ST-elevacijom prije primjene doze zasićenja klopidogrela, povezana je sa spontanom rekanalizacijom ciljne arterije na inicijalnom koronarogramu. Ispitanici u kvartilama jačeg odgovora na ASK češće su imali nalaz spontane rekanalizacije (TIMI 2 i TIMI 3 protok) u odnosu na kvartile slabijeg antiagregacijskog učinka ASK.

Poglavlje 6

SAŽETAK

U svim udžbenicima iz kardiologije ističe se središnje mjesto trombocita u patofiziologiji akutnog koronarnog zbijanja, a stranice teksta opisuju nedvojbeno korist od primjene suvremenog antitrombotičnog liječenja koje uključuje istovremenu uporabu nekoliko snažnih lijekova. I tako se u želji obuzdavanja patološke tromboze, primjenom sve agresivnije antitrombotične terapije približavamo drugoj jednako opasnoj krajnosti patološke hemostaze – krvarenju. Zašto su neki bolesnici tijekom liječenja antitrombotičnim lijekovima skloniji trombotičkim kardiovaskularnim incidentima, a neki su skloniji krvarenju?

Iako kardiovaskularni incidenti nisu jednoznačni već multifaktorijski događaji, nedvojbeno je da upravo aterotromboza igra najvažniju ulogu u njihovom nastanku. Ako rutinskim određivanjem koncentracije glukoze u krvi procijenjujemo rizik od pojave komplikacija šećerne bolesti, ili na temelju izmjerene serumske koncentracije LDL-kolesterola donosimo odluku o doziranju statina, za pretpostaviti je da bi se određivanjem stupnja reaktivnosti trombocita i njihovog odgovora na antitrombotične lijekove mogli predvidjeti ponavljanje trombotičkog događaja ili hemoragijsku komplikaciju antiagregacijskog liječenja.

U ovoj disertaciji ispitali smo osobitosti odgovora trombocita na uobičajeno antitrombotično liječenje u populaciji bolesnika s infarktom miokarda sa ST-elevacijom (STEMI) - najrizičnijoj populaciji bolesnika s koronarnom bolesti srca, koja je ujedno do sada i najmanje istražena po pitanju osjetljivosti na acetilsalicilnu kiselinu i/ili klopidogrel.

Pokazali smo da je rana faza antitrombotičnog liječenja vrlo dinamičan proces, ali i da se učinak ovih lijekova na funkciju trombocita stabilizira iza četvrtog dana liječenja. Također smo našli da je prijeterapijska reaktivnost trombocita koja je ovisna o ADP, ali ne i o arahidonskoj kiselini snažno povezana s pojavom budućih nepovoljnih kardiovaskularnih zbijanja. Ovo je prvo istraživanje koje je dokazalo da je kod bolesnika sa STEMI koji su od ranije liječeni acetilsalicilnom kiselinom, poslijeterapijska reaktivnost trombocita ovisna o arahidonskoj kiselini povezana s pojavom iznimno povoljne prognoze – spontanom rekanalizacijom ciljane koronarne arterije. I na kraju, najvažniji dio istraživanja dokazao je da relativno smanjenje reaktivnosti trombocita nakon uvođenja antitrombotičnih lijekova kao pokazatelj osjetljivosti na njihov učinak, a ne apsolutna veličina agregacije trombocita u bolesnika s ovom vrstom infarkta miokarda snažno korelira s dugoročnom pojavom budućih nepovoljnih kardiovaskularnih događaja

koji uključuju kardiovaskularnu smrt, trombozu u stentu, ponovljeni infarkt miokarda, potrebu za ponavljanjem revaskularizacije ciljne koronarne arterije i ishemijski moždani udar. Kao osobito rizična podskupina bolesnika sa STEMI pokazala se ona s tzv. dvostrukom otpornosti na antitrombocitne lijekove.

Ova disertacija je na tragu intenzivnih istraživanja koja imaju za cilj ispitati značenje veličine reaktivnosti trombocita kao i njihove osjetljivosti na antitrombocitno liječenje u prognozi širokog spektra kardiovaskularnih bolesti, ali isto tako istražiti moguću korist od individualiziranja uobičajenog terapijskog pristupa (izbor lijekova i doza) prema ovim laboratorijskim pokazateljima.

Poglavlje 7

SUMMARY

Boško Skorić, MD: The characteristics of resistance to antiplatelet drugs in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction treated with standard doses of acetylsalicylic acid and clopidogrel; 2010

The central role of platelets in the pathophysiology of acute coronary syndromes is stressed in every cardiology textbook and many pages have been written to describe the doubtless benefit from contemporary pharmacotherapy that includes simultaneous administration of several potent antiplatelet drugs. In the effort to oppose pathologic coronary thrombosis, the more and more aggressive antiplatelet treatment brings us closer to other, though equally dangerous extreme of pathologic hemostasis – the hemorrhage. Why is that some of the patients are more prone to the development of new thrombotic cardiovascular incident while others are more likely to develop bleeding during identical antiplatelet treatment? Although cardiovascular adverse events are not of unambiguous etiology but rather present multifactorial phenomena, there is no doubt that atherothrombosis plays the utmost role in their evolution.

Like we use to measure the blood glucose or LDL cholesterol concentrations to estimate the level of cardiovascular risk, as well as to adjust anti-diabetic or hypolipemic treatment, it can be presumed that the assessment of platelet reactivity and the response to antiplatelet drugs may help us to predict new thrombotic events or hemorrhagic complications.

This thesis sought to study the characteristics of platelet response to standardized antiplatelet treatment in patients with acute ST-elevation myocardial infarction (STEMI) - the most hazardous population with coronary artery disease that has also been the least studied with regard to platelet responsiveness to both aspirin and clopidogrel.

We have shown that the earliest phase of response to antiplatelet treatment in STEMI is a very dynamic process and that the antithrombotic effect of both aspirin and clopidogrel stabilizes after the fourth day of treatment. We have also demonstrated that the pretreatment ADP- but not the arachidonic acid-dependent platelet reactivity is associated with major adverse cardiovascular outcome. This is the first study that provided evidence for correlation between posttreatment arachidonic acid-dependent platelet aggregation in patients previously treated with aspirin and the occurrence of

spontaneous recanalisation of infarct related coronary artery that carries a very favourable prognosis.

Finally, the most important observation from our study was the finding that the relative reduction and not the absolute level of platelet reactivity after the introduction of antiplatelet treatment as a marker of platelet response is strongly associated with long-term cardiovascular prognosis including cardiovascular death, stent thrombosis, target vessel revascularization and stroke. Patients with STEMI at particularly high cardiovascular risk were those with so called dual resistance to antiplatelet therapy.

This thesis represents a part of continuous and intensive efforts aiming to examine the prognostic value of measuring platelet reactivity and response to antiplatelet drugs, as well as to investigate the possible benefit from individualization of antiplatelet treatment (type and dosage of antiplatelet drugs) according to such measurements.

Poglavlje 8

LITERATURA

1. White HD, Chew DP. Acute myocardial infarction. *Lancet* 2008;372:570-84.
2. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS i sur. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol* 2000;36:970-1062.
3. Kumar A, Cannon CP. Acute coronary syndromes: Diagnosis and management, part I. *Mayo Clin Proc* 2009;84:917-38.
4. Kumar A, Cannon CP. Acute coronary syndromes: Diagnosis and management, part II. *Mayo Clin Proc* 2009;84:1021-36.
5. Libby P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. *Circulation* 2001;104:365-72.
6. Rodriguez-Granillo GA, Garcia-Garcia HM, Valgimigli M, Vaina S, van Mieghem C, van Geuns RJ i sur. Global characterization of coronary plaque rupture phenotype using three-vessel intravascular ultrasound radiofrequency data analysis. *Eur Heart J* 2006;27:1921-27.
7. Rosenberg RD, Aird WC. Vascular-bed-specific hemostasis and hypercoagulable states. *N Engl J Med* 1999;340:1555-64.
8. Rogers WJ, Canto JG, Lambrew CT, Tiefenbrunn AJ, Kinkaid B, Shoultz DA i sur. Temporal trends in the treatment of over 1.5 million patients with myocardial infarction in the US from 1990 through 1999: the National Registry of Myocardial Infarction 1, 2 and 3. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:2056-63.
9. Assessment of the Safety and Efficacy of a New Thrombolytic Regimen (ASSENT)-3 Investigators: Efficacy and safety of tenecteplase in combination with enoxaparin, abciximab, or unfractionated heparin: The ASSENT-3 randomised trial in acute myocardial infarction. *Lancet* 2001;358:605-13.
10. Canto JG, Rogers WJ, Chandra NC, French WJ, Barron HV, Frederick PD i sur. The association of sex and payer status on management and subsequent survival in acute myocardial infarction. *Arch Intern Med* 2002;162:587-93.
11. Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mahonen M, Tolonen H, Ruokokoski E, Amouyel P. Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart

- disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA project populations. Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease. *Lancet* 1999;353:1547-57.
12. Thygesen K, Alpert JS, White HD. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007;28:2525-38.
 13. Management of Acute Myocardial Infarction in Patients Presenting with Persistent ST-segment Elevation: The Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2008;29:2909-45.
 14. The TIMI Study Group. The Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) trial. *N Engl J Med* 1985;312:932-6.
 15. Stone GW, Cox D, Garcia E, Brodie BR, Morice MC, Griffin J i sur. Normal flow (TIMI-3) before mechanical reperfusion therapy is an independent determinant of survival in acute myocardial infarction: analysis from the primary angioplasty in myocardial infarction trials. *Circulation* 2001;104:636-41.
 16. Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Non-ST Segment Elevation Acute Coronary Syndromes: The Task Force for the diagnosis and treatment of on the management of non-ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2007;28:1598-1660.
 17. Harrington RA, Califf RM, Holmes DR, Pieper KS, Lincoff AM, Berdan LG i sur, for the CAVEAT Investigators: Is all unstable angina the same? Insights from the Coronary Angioplasty Versus Excisional Atherectomy Trial (CAVEAT-I). *Am Heart J* 1999;137:227-33.
 18. Savonitto S, Ardissino D, Granger CB, Morando G, Prando MD, Mafri A i sur. Prognostic value of the admission electrocardiogram in acute coronary syndromes. *JAMA* 1999;281:707-13.
 19. Braunwald E. Unstable angina: An etiologic approach to management. *Circulation* 1998;98:2219-22.
 20. Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Gold HK, Yuan J, Narula J i sur. The thin-cap fibroatheroma: A type of vulnerable plaque: The major precursor lesion to acute coronary syndromes. *Curr Opin Cardiol* 2001;16:285-92.
 21. Nesto RW, Waxman S, Mittleman MA, Sassower MA, Fitzpatrick PJ, Lewis i sur. Angioscopy of culprit coronary lesions in unstable angina pectoris and correlation of clinical presentation with plaque morphology. *Am J Cardiol* 1998;81:225-8.
 22. Cannon CP, Weintraub WS, Demopoulos LA, Vicari R, Frey MJ, Lakkis N i sur; 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.
23. Hochman JS, Tamis JE, Thompson TD, Weaver WD, White HD, Van de Werf F i sur. 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,
 24. Diver DJ, Bier JD, Ferreira PE, Shara BL, McCabe C, Thompson B i sur for TIMI-IIIa Investigators. Clinical and arteriographic characterization of patients with unstable angina without critical coronary arterial narrowing (from TIMI-IIIa trial). *Am J Cardiol* 1994;74:531.
 25. Campeau L. Letter: Grading of angina pectoris. *Circulation* 1976;54:522–23.
 26. Hochman JS, McCabe CH, Stone PH, Becker RC, Cannon CP, DeFeo-Fraulini T i sur for the 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.
 27. The Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries (GUSTO) IIb Investigators. A comparison of recombinant hirudin with heparin for the treatment of acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1996;335:775-82.
 28. Cannon CP, McCabe CH, Stone PH, Rogers WJ, Schactman M, Thompson BW i sur for the TIMI III Registry ECG Ancillary Study Investigators: The electrocardiogram predicts one-year outcome of patients with unstable angina and non-Q wave myocardial infarction: Results of the TIMI III Registry ECG Ancillary Study. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:133-40.
 29. 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;255:2774-79.
 30. Asakura M, Ueda Y, Yamaguchi O, Adachi T, Hirayama A, Hori M i sur. Extensive development of vulnerable plaques as a pan-coronary process in patients with myocardial infarction: An angioscopic study. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:1284-8.
 31. James SK, Armstrong P, Barnathan E, Califf R, Lindahl B, Siegbahn A i sur. Troponin and C-reactive protein have different relations to subsequent mortality and myocardial infarction after acute coronary syndromes: A GUSTO-IV substudy. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:916-24.
 32. O'Donoghue M, Morrow DA, Sabatine MS, Murphy SA, McCabe CH, Cannon CP i sur. Lipoprotein-associated phospholipase A₂ and its association with cardiovascular outcomes in patients with acute coronary syndromes in the PROVE IT-TIMI 22 (PRavastatin Or atorVastatin evaluation and infection therapy – thrombolysis in myocardial infarction) trial. *Circulation* 2006;113:1745-52.

33. Ardissino D, Merlini PA, Ariens R, Coppola R, Bramucci E, Mannucci PM i sur. Tissue-factor antigen and activity in human coronary atherosclerosis plaques. *Lancet* 1997;349:769-71.
34. Malek AM, Alper SL, Izumo S. Haemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *JAMA* 1999;282:2035-42.
35. Stone PH. Triggering myocardial infarction. *N Engl J Med* 2004;351:1716-18.
36. Kloner RA, Leor J. Natural disaster plus wake-up time: A deadly combination of triggers. *Am Heart J* 1999;137:779-81.
37. Fuster V, Moreno PR, Fayad ZA, Corti R, Badimon JJ. Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:937-54.
38. Fuster V, Corti R, Fayad ZA, Schwitter J, Badimon JJ. Integration of vascular biology and magnetic resonance imaging in the understanding of atherothrombosis and acute coronary syndromes. *J Thromb Haemost* 2003;1:1410-21.
39. Nagavi M, Libby P, Falk E, Casscells SW, Litovsky S, Rumberger J i sur. From vulnerable plaque to vulnerable patient: A call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation* 2003;108:1664-72.
40. 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.
41. Kroll MH, Resendiz JC. Mechanisms of platelet activation. In Loscalzo J, Schafer AI: *Thrombosis and Hemorrhage*. 3rd ed. Philadelphia; Lippincott Williams & Wilkins; 2003. p. 187-205.
42. Jackson SP, Nesbitt WS, Kulkarni S. Signaling events underlying thrombus formation. *J Thromb Haemost* 2003;1:1602-12.
43. Walsh PN, Ahmad SS. Proteases in blood clotting. *Essays Biochem* 2002;38:95-111.
44. Badimon JJ, Lettino M, Toschi V, Fuster V, Berrozpe M, Chesebro JH i sur. Local inhibition of tissue factor reduces the thrombogenicity of disrupted human atherosclerotic plaques: Effects of tissue factor pathway inhibitor on plaque thrombogenicity under flow conditions. *Circulation* 1999;99:1780-7.
45. Mann KG, Butenas S, Brummel K. The dynamics of thrombin formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:17-25.
46. Kaul S, Ito H. Microvasculature in acute myocardial ischemia: part II: evolving concepts in pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Circulation* 2004;109:310-15.
47. Strike PC, Steptoe A. Systematic review of mental stress-induced myocardial ischaemia. *Eur Heart J* 2003;24:690-703.
48. Antithrombotic Trialists Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *Br Med J* 2002;324:71-86.

49. Serebruany VL, Malinin AI, Callahan KP, Binbrek A, Van De Werf F, Alexander JH i sur. 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.
50. Gawaz M, Neumann FJ, Schomig A. Evaluation of platelet membrane glycoproteins in coronary artery disease: Consequences for diagnosis and therapy. *Circulation* 1999;99:E1-E11.
51. American College of Cardiology, American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2007 Focused update of the ACC/AHA/SCAI 2005 guideline update for percutaneous coronary intervention. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Catheter Cardiovasc Interv* 2008;71:E1-E40.
52. Awtry EH, Loscalzo J. Aspirin. *Circulation* 2000;101:1206-18.
53. Patrignani P, Filabozzi P, Patrono C. Selective cumulative inhibition of platelet thromboxane production by low-dose aspirin in healthy subjects. *J Clin Invest* 1982;69:1366-72.
54. Kobayashi T, Tahara Y, Matsumoto M, Iguchi M, Sano H, Murayama T i sur. Roles of thromboxane A(2) and prostacyclin in the development of atherosclerosis in apoE-deficient mice. *J Clin Invest* 2004;114:784-94.
55. Needs CJ, Brooks PM. Clinical pharmacokinetics of the salicylates. *Clin Pharmacokinet* 1985;10:164-77.
56. Patrono C, Collier B, Dalen JE, FitzGerald GA, Fuster V, Gent M i sur. Platelet-active drugs: the relationships among dose, effectiveness, and side effects. *Chest* 2001;119:39S-63S.
57. Roth GJ, Calverley DC. Aspirin, platelets, and thrombosis: theory and practice. *Blood* 1994;83:885-98.
58. 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.
59. Lewis HD, Davis JW, Archibald DG, Steinke WE, Smitherman TC, Doherty JE 3rd i sur. Protective effects of aspirin against acute myocardial infarction and death in men with unstable angina. Results of a Veterans Administration cooperative study. *N Engl J Med* 1983;309:396-403.
60. Theroux P, Ouimet H, McCans J, Latour JG, Joly P, Levy G i sur. Aspirin, heparin, or both to treat acute unstable angina. *N Engl J Med* 1988;319:1105-11.
61. Cairns JA, Gent M, Singer J, Finnie KJ, Froggatt GM, Holder DA i sur. Aspirin, sulfipyrazone, or both in unstable angina. *N Engl J Med* 1985;313:1369-75.

62. 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.
63. Juul-Moller S, Edvardsson N, Jahnmatz B, Rosen 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;340:1421-25.
64. The SALT Collaborative Group. Swedish Aspirin Low-Dose Trial (SALT) of 75 mg aspirin as secondary prophylaxis after cerebrovascular ischaemic events. *Lancet* 1991;338:1345-49.
65. Diener HC, Cunha L, Forbes C, Sivenius J, Smets P, Lowenthal A. European Stroke Prevention Study. 2. Dipyridamole and acetylsalicylic acid in the secondary prevention of stroke. *J Neurol Sci* 1996;143:1-13.
66. Farrell B, Godwin J, Richards S, Warlow C. The United Kingdom transient ischaemic attack (UK-TIA) aspirin trial: final results. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991;54:1044-54.
67. 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.
68. 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;349:1641-49.
69. Lorenz RL, Schacky CV, Weber M, Kotzur J, Meister W, Kotzur J i sur. Improved aortocoronary bypass patency by low-dose aspirin (100 mg daily). Effects on platelet aggregation and thromboxane formation. *Lancet* 1984;1:1261-64.
70. Goldman S, Copeland J, Moritz T, Henderson W, Zadina K, Ovitt T i sur. 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.
71. Brown BG, Cukingnan RA, DeRouen T, Goede LV, Wong M, Fee HJ i sur. Improved graft patency in patients treated with platelet-inhibiting therapy after coronary bypass surgery. *Circulation* 1985;72:138-46.
72. 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;24:1125-28.
73. Quinn MJ, Fitzgerald DJ. Ticlopidine and clopidogrel. *Circulation* 1999;100:1667-72.
74. Helft G, Osende JI, Worthley SG, Zaman AG, Rodriguez OJ, Lev EI i sur. Acute

- antithrombotic effect of a front-loaded regimen of clopidogrel in patients with atherosclerosis on aspirin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2316-21.
75. Muller I, Seyfarth M, Rudiger S, Wolf B, Pogatsa-Murray G, Schomig A i sur. Effect of a high loading dose of clopidogrel on platelet function in patients undergoing coronary stent placement. *Heart* 2001;85:92-3.
 76. Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK; Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. 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.
 77. Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK i sur. 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.
 78. Steinhubl SR, Berger PB, Mann III JT, Fry ETA, DeLago A, Wilmer C i sur for CREDO Investigators. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288:2411-20.
 79. Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, Lopez-Sendon JL, Montalescot G, Theroux P i sur, the 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.
 80. Chen Z, Jiang L, Chen Y, Xie J, Pan H, Peto R i sur. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2005;366:1607-21.
 81. 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.
 82. Jernberg T, Payne CD, Winters KJ, Darstein C, Brandt JT, Jakubowski JA i sur. 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.
 83. Brandt JT, Payne CD, Wiviott SD, Weerakkody G, Farid NA, Small DS i sur. A comparison of prasugrel and clopidogrel loading doses on platelet function: magnitude of platelet inhibition is related to active metabolite formation. *Am Heart J* 2007;153:e9-e16.
 84. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S i sur. TRITON-TIMI 38 Investigators. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Eng J Med* 2007;357:2001-15.

85. Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelsson H, Held C i sur. (PLATO trial). Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2009;361(11):1045-57.
86. Bhatt DL, Lincoff AM, Gibson CM, Stone GW, McNulty S, Montalescot G i sur; CHAMPION PLATFORM Investigators. Intravenous platelet blockade with cangrelor during PCI. *N Engl J Med* 2009;361:2330-41.
87. Boersma E, Harrington RA, Moliterno DJ, White H, Theroux P, Van de Werf F i sur. Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in acute coronary syndromes. A metaanalysis of all major randomized clinical trials. *Lancet* 2002;359:189-98.
88. De Luca G, Suryapranata H, Stone GW, Antoniucci D, Tcheng JE, Neumann FJ i sur. Abciximab as adjunctive therapy to reperfusion in acute ST-segment elevation myocardial infarction: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA* 2005;293:1759-65.
89. Kabbani S, Watkins M, Ashiga T, Terrien EF, Holoch PA, Sobel BE i sur. Platelet reactivity characterized prospectively. A determinant of outcome 90 days after percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2001;104:181-6.
90. Frossard M, Fuchs I, Leitner JM, Hsieh K, Vlcek M, Losert H i sur. Platelet function predicts myocardial damage in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;110:1392-7.
91. Huisse MG, Lanoy E, Tcheche D, Feldman LJ, Bezeaud A, Angles-Cano E i sur. Prothrombotic markers and early spontaneous recanalization in ST-segment elevation myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2007;98:420-26.
92. Maden O, Kacmaz F, Selcuk MT, Selcuk H, Metin F, Tufekcioglu O i sur. Relationship of admission hematological indices with infarct-related artery patency with acute ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary angioplasty. *Coron Artery Dis* 2007;18:639-44.
93. Gawaz M. Role of platelets in coronary thrombosis and reperfusion of ischemic myocardium. *Cardiovasc Res* 2004;61:498-511.
94. Heindl B, Zahler S, Welsch U, Becker BF i sur. Disparate effects of adhesion and degranulation of platelets on myocardial and coronary function in postischemic hearts. *Cardiovasc Res* 1998;38:383-94.
95. Trip MD, Cats VM, van Capelle FJ, Vreken J. Platelet hyperreactivity and prognosis in survivors of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1990;322:1549-54.
96. Huczek Z, Filipiak KJ, Kochman J, Piatkowski R, Grabowski M, Roik M i sur. Baseline platelet reactivity in acute myocardial infarction treated with primary angioplasty – Influence on myocardial reperfusion, left ventricular performance, and clinical events. *Am Heart J* 2007;154:62-70.
97. Campo G, Valgimigli M, Gemmati D, Percoco G, Tognazzo S, Cicchitelli G i sur. Value of

- platelet reactivity in predicting response to treatment and clinical outcome in patients undergoing primary coronary intervention. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:2178-85.
98. Gurbel PA, Bliden KP, Guyer K, Cho PW, Zaman KA, Kreutz RP i sur. Platelet reactivity in patients and recurrent events post□stenting: results of the PREPARE POST□STENTING Study. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1820□26.
 99. Steg PG, Bhatt DL, Wilsn PW, D'Agostino R Sr, Ohman EM, Rother J i sur. One-year cardiovascular event rates in outpatients with atherothrombosis. *JAMA* 2007;297:1197-1206.
 - 100.Krasopoulos G, Brister S, Beattie WS, Elliot RF, Buchanan MR. Aspirin "resistance" and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2008;336:195-98.
 - 101.Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Alfonso F, Macaya C, Bass TA i sur. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: Clinical implications, management, and future perspectives. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1505-16.
 - 102.Steinhubl SR, Talley JD, Braden GA, Tchong JE, Casterella PJ, Moliterno DJ i sur. Point-of-care measured platelet inhibition correlates with a reduced risk of an adverse cardiac event after percutaneous coronary intervention: Results of the GOLD (AU-Assesing Ultegra) multicentric study. *Circulation* 2001;103:2572-8.
 - 103.Alfonso F, Angiolillo DJ. Platelet function assessment to predict outcomes after coronary interventions: Hype or hope? *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1751-54.
 - 104.Patrono C. Aspirin resistance: definition, mechanisms and clinical read-outs. *J Thromb Haemost* 2003;1:1710-3.
 - 105.Kuliczowski W, Witkowski A, Polonski L, Watala C, Filipiak K, Budaj A i sur. Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2009, doi:10.1093/eurheartj/ehn562
 - 106.Hovens MM, Snoep JD, Eikenboom JC, van der Bom JG, Mertens BJ, Huisman MV. Prevalence of persistent platelet reactivity despite use of aspirin: a systematic review. *Am Heart J* 2007;153:175– 81.
 - 107.Harrison P, Frelinger III, Furman MI, Michelson AD. Measuring antiplatelet drug effects in the laboratory. *Thromb Res* 2007, doi:10.1016/j.thromres.2006.11.012
 - 108.Lordkipanidze M, Pharand C, Schampaert E, Turgeon J, Palisaitis DA, Diodati JG. A comparison of six major platelet function tests to determine the prevalence with stable coronary artery disease. *Eur Heart J* 2007;28:1702-8.
 - 109.Zhou L, Schaimer AH. Platelet aggregation testing in platelet-rich plasma:

- description of procedures with the aim to develop standards in the field. *Am J Clin Pathol* 2005;123:172-83.
110. Wang JC, Aucoin-Barry D, Manuelian D, Monbouquette R, Reisman M, Gray W i sur. Incidence of aspirin nonresponsiveness using the Ultegra rapid platelet function assay-ASA. *Am J Cardiol* 2003;92:1492-4.
111. Favalaro EJ. Clinical application of the PFA-100. *Curr Opin Hematol* 2002;9:407-15.
112. Golanski J, Chlopicki S, Golanski R, Gresner P, Iwaszkiewicz A, Watala C. Resistance to aspirin in patients after coronary bypass grafting is transient: impact on the monitoring of aspirin antiplatelet therapy. *Ther Drug Monit* 2005;27:484-90.
113. Toth O, Calatzis A, Penz S, Losonczy H, Siess W. Multiplate electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood. *Thromb Haemost* 2006;96:781-8.
114. Velik-Salchner C, Maier S, Innerhofer P, Streif W, Klingler A, Kolbitsch C i sur. Point-of-care whole blood impedance aggregometry versus classical light transmission aggregometry for detecting aspirin and clopidogrel: the results of a pilot study. *Anesth Analg* 2008;107:1798-806.
115. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Sabate M, Jimenez-Quevedo P i sur. Influence of aspirin resistance on platelet function profiles in patients on long-term aspirin and clopidogrel after percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2006;97:38-43.
116. Lee PY, Chen WH, Ng W, Cho PW, Zaman KA, Kreutz RP i sur. Low-dose aspirin increases aspirin resistance in patients with coronary artery disease. *Am J Med* 2005;118:723-7.
117. Feher G, Koltai K, Alkonyi B, Papp E, Keszthelyi Z, Kesmarky G i sur. Clopidogrel resistance: role of body mass and concomitant medications. *Int J Cardiol* 2007;120:188-92.
118. Macchi L, Christiaens L, Brabant S, Sorel N, Allal J, Mauco G i sur. Resistance to aspirin in vitro is associated with increased platelet sensitivity to adenosine diphosphate. *Thromb Res* 2002;107:45-9.
119. Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B i sur. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med* 2001;345:1809-17.
120. Goodman T, Sharma P, Ferro A. The genetics of aspirin resistance. *Int J Clin Pract* 2007;61:826-34.
121. Pulcinelli FM, Riondino S. More on aspirin resistance: position paper of the Working Group on Aspirin Resistance. Proposal for a Laboratory Test Guiding Algorithm. *J Thromb Haemost* 2006;4:485-7.

122. Maree AO, Curtin RJ, Dooley M, Conroy RM, Crean P, Cox D i sur. Platelet response to low-dose enteric-coated aspirin in patients with stable cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1258-63.
123. Zimmermann N, Wenk A, Kim U, Kienzle P, Weber AA, Gams E i sur. Functional and biochemical evaluation of platelet aspirin resistance after coronary artery bypass surgery. *Circulation* 2003;108:542-7.
124. Weber AA, Przytulski B, Schanz A, Hohfeld T, Schror K. Towards a definition of aspirin resistance: a typological approach. *Platelets* 2002;13:37-40.
125. Rocca B, Secchiero P, Ciabattini G, Ranelletti FO, Catani L, Guidotti L i sur. Cyclooxygenase-2 expression is induced during human megakaryopoiesis and characterizes newly formed platelets. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:7634-9.
126. Schonbeck U, Sukhova GK, Graber P, Coulter S, Libby P. Augmented expression of cyclooxygenase-2 in human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol* 1999;155:1281-91.
127. Karim S, Habib A, Levy-Toledano S, Maclouf J. Cyclooxygenase-1 and -2 of endothelial cells utilize exogenous or endogenous arachidonic acid for transcellular production of thromboxane. *J Biol Chem* 1996;271:12042-8.
128. Valles J, Santos MT, Aznar J, Osa A, Lago A, Cosin J i sur. Erythrocyte promotion of platelet reactivity decreases the effectiveness of aspirin as an antithrombotic therapeutic modality: the effect of low-dose aspirin is less than optimal in patients with vascular disease due to prothrombotic effects of erythrocytes on platelet reactivity. *Circulation* 1998;97:350-5.
129. Anfossi G, Trovati M. Pathophysiology of platelet resistance to anti-aggregating agents in insulin resistance and type 2 diabetes: implications for anti-aggregating therapy. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 2006;4:111-28.
130. Davi G, Alessandrini P, Mezzetti A, Minotti G, Bucciarelli T, Constantini F i sur. In vivo formation of 8-Epi-prostaglandin F₂ alpha is increased in hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3230 -5.
131. Reilly M, Delanty N, Lawson JA, FitzGerald GA. Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circulation* 1996;94:19 -25.
132. Chung I, Lip GY. Platelets and heart failure. *Eur Heart J* 2006;27:2623-31.
133. Rottlaender D, Scherner M, Schneider T, Erdmann E. Polypharmacy, compliance and non-prescription medication in patients with cardiovascular disease in Germany. *Dtsch Med Wochenschr* 2007;132:139-44.
134. Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S i sur. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation* 2002;105:1650-5.

135. Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:961-5.
136. Ohmori T, Yatomi Y, Nonaka T, Kobayashi Y, Madoiwa S, Mimuro J i sur. Aspirin resistance detected with aggregometry cannot be explained by cyclooxygenase activity: involvement of other signaling pathway(s) in cardiovascular events of aspirin-treated patients. *J Thromb Haemost* 2006;4:1271-8.
137. Mueller MR, Salat A, Stangl P, Murabito M, Pulaki S, Boehm D i sur. Variable platelet response to low-dose ASA and the risk of limb deterioration in patients submitted to peripheral arterial angioplasty. *Thromb Haemost* 1997; 78:1003-7.
138. Chen WH, Lee PY, Ng W, Tse HF, Lau CP. Aspirin resistance is associated with a high incidence of myonecrosis after nonurgent percutaneous coronary intervention despite clopidogrel pretreatment. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:1122-6.
139. Marcucci R, Panizza R, Antonucci E, Gori AM, Fedi S, Giglioli C i sur. Usefulness of aspirin resistance after percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction in predicting one-year major adverse cardiovascular events. *Am J Cardiol* 2006;98:1156-9.
140. Poston RS, White C, Gu J, Brown J, Gammie J, Pierson RN i sur. Aprotinin shows both hemostatic and antithrombotic effects during off-pump coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 2006;81:104-11.
141. Pamukcu B, Oflaz H, Onur I, Oncul A, Ozcan M, Umman B i sur. Clinical relevance of aspirin resistance in patients with stable coronary artery disease: a prospective follow-up study (PROSPECTAR). *Blood Coagul Fibrinolysis* 2007;18:187-92.
142. Sofi F, Marcucci R, Gori AM, Abbate R, Gensini GF. Residual platelet reactivity on aspirin therapy and recurrent cardiovascular events – a meta-analysis. *Int J Cardiol* 2008;128:166-71.
143. Valgimigli M, Campo G, de Cesare N, Meliga E, Vranckx P, Furgieri A i sur; for the 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.
144. Chen WH, Cheng X, Lee PY, Ng W, Kwok JY, Tse HF i sur. Aspirin resistance and adverse clinical events in patients with coronary artery disease. *Am J Med* 2007;120:631-5.
145. Zhang Y, Liang J, Zhou YJ, Yuan H, Zhang YZ, Dong L. Study on the relationship

- between aspirin resistance and incidence of myonecrosis after non-emergent percutaneous coronary intervention. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*. 2005;33:695-9.
146. Lev EI, Patel RT, Maresh KJ, Guthikonda S, Granada J, DeLao T i sur. 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.
147. Pinto Slottow TL, Bonello L, Gavini R, Beauzile P, Sushinsky SJ, Scheinowitz M i sur. Prevalence of aspirin and clopidogrel resistance among patients with and without drug-eluting stent thrombosis. *Am J Cardiol* 2009;104:525-30.
148. Grundmann K, Jaschonek K, Kleine B, Dichgans J, Topka H. Aspirin non-responders status in patients with recurrent cerebral ischemic attacks. *J Neurol* 2003;250:63-6.
149. Buchanan MR, Schwartz L, Bourassa M, Brister SJ, Peniston CM. Results of the BRAT study - a pilot study investigating the possible significance of ASA nonresponsiveness on the benefits and risks of ASA on thrombosis in patients undergoing coronary artery bypass surgery. *Can J Cardiol* 2000;16:1385-90.
150. Yilmaz MB, Balbay Y, Caldir V, Ayaz S, Guray Y, Guray U i sur. Late saphenous vein graft occlusion in patients with coronary bypass: possible role of aspirin resistance. *Thromb Res* 2005;115:25-29
151. Gianetti J, Parri MS, Sbrana S, Paoli F, Maffei S, Paradossi U i sur. Platelet activation predicts recurrent ischemic events after percutaneous coronary angioplasty: a 6 months prospective study. *Thromb Res* 2006;118:487-93.
152. Pamukcu B, Oflaz H, Oncul A, Umman B, Mercanoglu F, Ozcan M i sur. The role of aspirin resistance on outcome in patients with acute coronary syndrome and the effect of clopidogrel therapy in the prevention of major cardiovascular events. *J Thromb Thrombol* 2006;22:103-10.
153. Cuisset T, Frere C, Quilici J, Barbou F, Morange PE, Hovasse T i sur. High post-treatment platelet reactivity identified low-responders to dual antiplatelet therapy at increased risk of recurrent cardiovascular events after stenting for acute coronary syndrome. *J Thromb Haemost* 2006;4:542-9.
154. Malek LA, Spiewak M, Filipiak KJ, Grabowski M, Szpotanska M, Rosiak M i sur. Persistent platelet activation is related to very early cardiovascular events in patients with acute coronary syndromes. *Kardiol Pol* 2007;65:40-5.
155. 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.
156. Marcucci R, Paniccchia R, Antonucci E, Poli S, Gori AM, Valente S i sur. Residual

- platelet reactivity is an independent predictor of myocardial injury in acute myocardial infarction patients on antiaggregation therapy. *Thromb Haemost* 2007;98:844-51.
157. Cuisset T, Frere C, Quilici J, Morange PE, Nait-Saidi L, Mielot C i sur. High post-treatment platelet reactivity is associated with a high incidence of myonecrosis after stenting for non-ST elevation acute coronary syndromes. *Thromb Haemost* 2007;97:282-7.
158. Gurbel PA, Callahan KP, Malinin AI, Serebruany VL, Gillis J. Could stent design affect platelet activation? Results of the Platelet Activation in STenting (PAST) study. *J Invasive Cardiol* 2002;14:584-9.
159. Cheneau E, Leborgne L, Mintz GS, Kotani J, Pichard AD, Satler LF i sur. Predictors of subacute stent thrombosis: results of a systematic intravascular ultrasound study. *Circulation* 2003;108:43-7.
160. Silva JA, Ramee SR, White CJ, Collins TJ, Jenkins JS, Nunez E i sur. Primary stenting in acute myocardial infarction: influence of diabetes mellitus in angiographic results and clinical outcome. *Am Heart J* 1999;138:446-55.
161. Task Force on the Use of Antiplatelet Agents in Patients with Atherosclerotic Cardiovascular Disease of the European Society of Cardiology: Expert consensus document on the use of antiplatelet agents. *Eur Heart J* 2004;25:166-81.
162. Michelson AD, Cattaneo M, Eikelboom JW, Gurbel P, Kottke-Marchant K, Kunicki TJ i sur. For the Platelet Physiology Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis; Working Group on Aspirin Resistance: Aspirin resistance: position paper of the Working Group on Aspirin Resistance. *J Thromb Haemost* 2005;3:1309-11.
163. American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: ACC/AHA/SCAI 2005 guideline update for percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2006;113:e1-e121.
164. Milicic D, Skoric B, Lovric D. Drug-specific thienopyridine resistance in patients with recurrent coronary stent thrombosis. *J Invas Cardiol* 2009;21:E157-60.
165. Farrell B, Godwin J, Richards S, Warlow C. The United Kingdom transient ischaemic attack (UK-TIA) aspirin trial: final results. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1991;54:1044-54.
166. The Dutch TIA Trial Study Group. A comparison of two doses of aspirin (30 mg vs. 283 mg a day) in patients after a transient ischemic attack or minor ischemic stroke. *N Engl J Med* 1991;325:1261-6.
167. Eikelboom JW, Hankey GJ, Thom J, Claxton A, Yi Q, Gilmore G i sur. Enhanced

- antiplatelet effect of clopidogrel in patients whose platelets are least inhibited by aspirin: a randomized crossover trial. *J Thromb Haemost* 2005;3:2649-55.
168. Bhatt DL, Fox KA, Hacke W, Berger PB, Black HR, Boden WE i sur. CHARISMA Investigators. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med* 2006;354:1706-17.
169. Bhatt DL, Flather MD, Hacke W, Berger PB, Black HR, Boden WE i sur. CHARISMA Investigators. Patients with prior myocardial infarction, stroke, or symptomatic peripheral arterial disease in the CHARISMA trial. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1982-8.
170. 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.
171. 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.
172. Mobley JE, Bresee SJ, Wortham DC, Craft RM, Snider CC, Carroll RC. Frequency of nonresponse antiplatelet activity of clopidogrel during pretreatment for cardiac catheterization. *Am J Cardiol* 2004;93:456-8.
173. 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.
174. Dziewierz A, Dudek D, Heba G, Rakowski T, Mielecki W, Dubiel JS. Inter-individual variability in response to clopidogrel in patients with coronary artery disease. *Kardiol Pol* 2005;62:108-17.
175. Geisler T, Langer H, Wydymus M, Göhring K, Zürn C, Bigalke B i sur. Low response to clopidogrel is associated with cardiovascular outcome after coronary stent implantation. *Eur Heart J* 2006;27:2420-5.
176. Müller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schonig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost* 2003;89:783-7.
177. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramírez C, Barrera-Ramirez C, Sabaté M i sur. Identification of low responders to a 300-mg clopidogrel loading dose in patients undergoing coronary stenting. *Thromb Res* 2005;115:101-8.
178. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramírez C, Sabaté M, Jimenez-Quevedo P i sur. Platelet function profiles in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease on combined aspirin and clopidogrel treatment. *Diabetes*

- 2005;54:2430-5.
179. Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, Shechter M, Bienart R, Goldenberg I i sur. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004;109:3171-5.
180. Price MJ, Endemann S, Gollapudi RR, Valencia R, Stinis CT, Levisay JP i sur. Prognostic significance of post-clopidogrel platelet reactivity assessed by a point-of-care assay on thrombotic events after drug-eluting stent implantation. *Eur Heart J* 2008;29:992-1000.
181. Marcucci R, Gori AM, Paniccia R, Giusti B, Valente S, Giglioli C i sur. Cardiovascular death and nonfatal myocardial infarction in acute coronary syndrome patients receiving coronary stenting are predicted by residual platelet reactivity to ADP detected by point-of-care assay. *Circulation* 2009;119:237-242.
182. Patti G, Nusca A, Mangiacapra F, Gatto L, D'Ambrosio A, Di Sciascio G i sur. Point-of-care measurement of clopidogrel responsiveness predicts clinical outcome in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:1128-1133.
183. Frere C, Cuisset T, Quilici J, Camoin L, Carvajal J, Morange PE i sur. ADP-induced platelet aggregation and platelet reactivity index VASP are good predictive markers for clinical outcomes in non-ST elevation acute coronary syndrome. *Thromb Haemost* 2007;98:838-43.
184. Bonello L, Paganelli F, Arpin-Bornet M, Auquier P, Sampol J, Dignat-George F i sur. Vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation analysis prior to percutaneous coronary intervention for exclusion of postprocedural major adverse cardiovascular events. *J Thromb Haemost* 2007;5:1630-6.
185. Blindt R, Stellbrink K, de Taeye A, Muller R, Kiefer P, Yagmur E i sur. The significance of vasodilator-stimulated phosphoprotein for risk stratification of stent thrombosis. *Thromb Haemost* 2007;98:1329-34.
186. 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.
187. Aleil B, Ravanat C, Cazenave JP, Rochoux G, Heitz A, Gachet C. Flow cytometric analysis of intraplatelet VASP phosphorylation for the detection of clopidogrel resistance in patients with ischemic cardiovascular diseases. *J Thromb Haemost* 2005;3:85-92.
188. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Sabate M, Banuelos C i

- sur. High clopidogrel loading dose during coronary stenting: Effects on drug response and interindividual variability. *Eur Heart J* 2004;25:1903-10.
189. Angiolillo DJ, Bernardo E, Palazuelos J, Desai B, Weisberg I, Alfonso F i sur. Functional impact of high clopidogrel maintenance dosing in patients undergoing elective percutaneous coronary interventions. Results of a randomized study. *Thromb Haemost* 2008;99:161-8.
190. Gurbel PA, Becker RC, Mann KG, Steinhubl SR, Michelson AD. Platelet function monitoring in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1822-34.
191. Michelson AD. Platelet function testing in cardiovascular diseases. *Circulation* 2004;110:e489-93.
192. Malinin A, Pokov A, Spergling M, Defranco A, Schwartz K, Schwartz D i sur. Monitoring platelet inhibition after clopidogrel with the VerifyNow-P2Y12[®] rapid analyzer: the VERIfy Thrombosis risk ASessment (VERITAS) study. *Thromb Res* 2007;119:277-84.
193. Panizza R, Antonucci E, Gori AM, Marcucci R, Giglioli C, Antonucci D i sur. Different methodologies for evaluating the effect of clopidogrel on platelet function in high-risk coronary artery disease patients. *J Thromb Haemost* 2007;5:1839-47.
194. Schwarz UR, Geiger J, Walter U, Eigenthaler M. Flow cytometry analysis of intracellular VASP phosphorylation for the assessment of activating and inhibitory signal transduction pathways in human platelets. *Thromb Haemost* 1999;82:1145-52.
195. Ingerman-Wojenski C, Smith JB, Silver MJ. Evaluation of electrical aggregometry: comparison with optical aggregometry, secretion of ATP, and accumulation of radiolabeled platelets. *J Lab Clin Med* 1983;101:44-52.
196. Milicic D, Skoric B, Lovric D, Narancic Skoric K, Sertic J. Characteristics and dynamics of resistance to antiplatelet drugs in patients with acute myocardial infarction treated with standard doses of acetylsalicylic acid and clopidogrel. World Congress of Cardiology, Buenos Aires May 18-21, 2008, *Circulation* 2008;117:146.
197. Milicic D, Lovric D, Maric K, Narancic Skoric K, Samardzic J, Sertic J, Skorak I, Strozzi M, Skoric B. Monitoring of Antiplatelet Therapy by Multiple Electrode Aggregometry (Multiplate[®]) in Patients with Stable Coronary Artery Disease. 16th Alpe Adria Cardiology Meeting Portoroz, June 5-7, 2008, *Slov Kardiol* 2008;5:28.
198. Gaswaz M, Seyfarth M, Muller I, Rüdiger S, Pogatsa-Murray G, Wolf B i sur. Comparison of effects of clopidogrel versus ticlopidine on platelet function in patients undergoing coronary stent placement. *Am J Cardiol* 2001;87:332-6.
199. Cuisset T, Frere C, Quilici J, Morange PE, Camoin L, Bali L i sur. Relationship

- between aspirin and clopidogrel responses in acute coronary syndrome and clinical predictors of non response. *Thromb Res* 2009;123:597-603.
200. Markuszewski L, Rosiak M, Golanski J, Rysz J, Spsychalska M, Watala C. Reduced blood platelet sensitivity to aspirin in coronary artery disease are dyslipidemia response to aspirin? *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2006;98:503-9.
201. Iba MM, Fung J, Pak YW, Thomas PE, Fisher H, Sekowski A i sur. Dose-dependent up-regulation of rat pulmonary, renal, and hepatic cytochrome P-450 (CYP) 1A expression by nicotine feeding. *Drug Metab Dispos* 1999;27:977-82.
202. Gilard M, Arnaud B, Cornily JC, Le GG, Lacut K, Le Calvez G i sur. 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.
203. Ho PM, Maddox TM, Wang L, Fihn SD, Jesse RL, Peterson ED i sur. Risk of adverse outcomes associated with concomitant use of clopidogrel and proton pump inhibitors following acute coronary syndrome. *JAMA* 2009;301:937-44.
204. O'Donoghue M, Antman EM, Braunwald E, Murphy SA, Steg PG, Finkelstein A i sur. The efficacy and safety of prasugrel with and without a glycoprotein IIb/IIIa inhibitor in patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous intervention: a TRITON-TIMI 38 (Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition With Prasugrel-Thrombolysis In Myocardial Infarction 38) analysis. *J Am Coll Cardiol* 2009;54:678-85.
205. Nguyen TA, Diodati JG, Pharand C. Resistance to clopidogrel: a review of the evidence. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1157-64.
206. Mehta SR, Bassand JP, Chrolavicius S, Diaz R, Fox KA, Granger CB i sur.; CURRENT-OASIS 7 Steering Committee. Design and rationale of CURRENT-OASIS 7: a randomized, 2 x 2 factorial trial evaluating optimal dosing strategies for clopidogrel and aspirin in patients with ST and non-ST-elevation acute coronary syndromes managed with an early invasive strategy. *Am Heart J* 2008;156:1080-8.e1
207. Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, Quteineh L, Drouet E, Méneveau N i sur; French Registry of Acute ST-Elevation and Non-ST-Elevation Myocardial Infarction (FAST-MI) Investigators. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2009;360:363-75.
208. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT i sur. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 2009;360:354-62.
209. Ferreira IA, Mocking AI, Feijge MA, Gorter G, van Haeften TW, Heemskerk JW i sur. Platelet inhibition by insulin is absent in type 2 diabetes mellitus. *Arterioscler*

- Thromb Vasc Biol 2006; 26: 417-22.
- 210.Feroni P, Basili S, Falco A, Davi G. Platelet activation in type 2 diabetes mellitus. *J Thromb Haemost* 2004;2:1282-91.
- 211.Kuchulakanti PK, Chu WW, Torguson R, Ohlmann P, Rha SW, Clavijo LC i sur. Correlates and long-term outcomes of angiographically proven stent thrombosis with sirolimus- and paclitaxel-eluting stents. *Circulation* 2006;113:1108-13.
- 212.Gurbel PA, Bliden KP, Samara W, Yoho JA, Hayes K, Fissaha MZ i sur. Clopidogrel effect on platelet reactivity in patients with stent thrombosis: results of the CREST Study. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1827-32.
- 213.Barragan P, Bouvier JL, Roquebert PO, Macaluso G, Commeau P, Comet B i sur. Resistance to thienopyridines: clinical detection of coronary stent thrombosis by monitoring of vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation. *Catheter Cardiovasc Interv* 2003;59:295-302.
- 214.Hochholzer W, Trenk D, Bestehorn HP, Fischer B, Valina CM, Ferenc M i sur. Impact of the degree of peri-interventional platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective stent placement. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1742-50.
- 215.Buonamici P, Marcucci R, Migliorini A, Gensini GF, Santini A, Paniccia R i sur. Impact of platelet reactivity after clopidogrel administration on drug-eluting stent thrombosis. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:2312-7.
- 216.Bliden KP, DiChiara J, Tantry US, Bassi AK, Chaganti SK, Gurbel PA. Increased risk in patients with high platelet aggregation receiving chronic clopidogrel therapy undergoing percutaneous coronary intervention: is the current antiplatelet therapy adequate? *J Am Coll Cardiol* 2007;49:657-66.
- 217.Mobley JE, Bresee SJ, Wortham DC, Craft RM, Snider CC, Carroll RC. Frequency of nonresponse antiplatelet activity of clopidogrel during pretreatment for cardiac catheterization. *Am J Cardiol* 2004;93:456-8.
- 218.Ajzenberg N, Aubry P, Huisse MG, Cachier A, El Amara W, Feldman LJ i sur. Enhanced shear-induced platelet aggregation in patients who experience subacute stent thrombosis: A case-control study. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1753-6.
- 219.Gurbel PA, Bliden KP, Zaman KA, Yoho JA, Hayes KM, Tantry US. Clopidogrel loading with eptifibatide to arrest the reactivity of platelets: Results of the Clopidogrel Loading with Eptifibatide to Arrest the Reactivity of Platelets (CLEAR PLATELETS) study. *Circulation* 2005;111:1153-9.
- 220.Cuisset T, Frere C, Quilici J, Morange PE, Nait-Saidi L, Carvajal J i sur. Benefit of a 600-mg loading dose of clopidogrel on platelet reactivity and clinical outcomes in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome undergoing

- coronary stenting. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1339-45.
221. Lev EI, Alviar CL, Arian ME, Dave BP, Granada JF, DeLao T i sur. Platelet reactivity in patients with subacute stent thrombosis compared with non-stent-related acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2007;153:e1– e6.
222. Wang ZJ, Zhou YJ, Liu YY, Yu M, Shi DM, Zhao YX i sur. Impact of clopidogrel resistance on thrombotic events after percutaneous coronary intervention with drug-eluting stent. *Thromb Res* 2009;124:46-51.
223. 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.
224. von Beckerath N, Taubert D, Pogasta-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.
225. Bonello L, Camoin-Jau L, Arques S, Boyer C, Panagides D, Wittenberg O i sur. 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.
226. Price MJ, Berger PB, Angiolillo DJ, Teirstein PS, Tanguay JF, Kandzari DE i sur. Evaluation of individualized clopidogrel therapy after drug-eluting stent implantation in patients with high residual platelet reactivity: design and rationale of the GRAVITAS trial. *Am Heart J* 2009;157:818-24, 824.e1
227. Smith SC Jr., Feldman TE, Hirshfeld JW Jr., Jacobs AK, Kern MJ, King SB III i sur, American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines, ACC/AHA/SCAI Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention. ACC/AHA/SCAI 2005 guideline update for percutaneous coronary intervention—summary article: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/SCAI Writing Committee to update the 2001 Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention). *Catheter Cardiovasc Interv* 2006;67:87-112.
228. Angiolillo DJ, Shoemaker SB, Desai B, Yuan H, Charlton RK, Bernardo E i sur. 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.
- 229.Campo G, Valgimigli M, Gemmati D, Percoco G, Catozzi L, Frangione A i sur. Poor responsiveness to clopidogrel: Drug-specific or class-effect mechanism? *J Am Coll Cardiol* 2007;50:1132-7.
- 230.Jernberg T, Payne CD, Winters KJ, Darstein C, Brandt JT, Jakubowski JA i sur. Prasugrel achieves greater inhibition of platelet aggregation and a lower rate of non-responders compared with clopidogrel in aspirin treated patients with stable coronary artery disease. *Eur Heart J* 2006;27:1166-73.
- 231.Kim JY, Lee K, Shin M, Ahn M, Choe H, Yoo BS i sur. Cilostazol could ameliorate platelet responsiveness to clopidogrel in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Circ J* 2007;71:1867-72.
- 232.Angiolillo DJ, Capranzano P, Goto S, Aslam M, Desai B, Charlton RK i sur. A randomized study assessing the impact of cilostazol on platelet function profiles in patients with diabetes mellitus and coronary artery disease on dual antiplatelet therapy: results of the OPTIMUS-2 study. *Eur Heart J* 2008;29:2202-11.
- 233.Templin C, Schaefer A, Stumme B, Drexler H, von Depka M. Combined aspirin and clopidogrel resistance associated with recurrent coronary stent thrombosis. *Clin Res Cardiol* 2006;95:122-6
- 234.Gori AM, Marcucci R, Migliorini A, Valenti R, Moschi G, Paniccia R i sur. Incidence and clinical impact of dual nonresponsiveness to aspirin and clopidogrel in patients with drug-eluting stents. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:734-9.
- 235.Dichiara J, Bliden KP, Tantry US, Chaganti SK, Kreutz RP, Gesheff TB i sur. Platelet aspirin responsiveness measured by VerifyNow: correlation with multiple methods and identification of a high platelet reactivity phenotype. *Platelets* 2007;18:414-23.
- 236.Samara WM, Bliden KP, Tantry US, Gurbel PA. The difference between clopidogrel responsiveness and posttreatment platelet reactivity. *Thromb Res* 2005;115:89-94.
- 237.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.
- 238.Gurbel PA, Bliden KP, DiChiara J, Newcomer J, Weng W, Neerchal NK i sur. Evaluation of dose-related effects of aspirin on platelet function: results from the Aspirin-Induced Platelet Effect (ASPECT) study. *Circulation* 2007;115:3156-64.
- 239.Helgason CM, Bolin KM, Hoff JA, Winkler SR, Mangat A, Tortorice KL i sur. Development of aspirin resistance in persons with previous ischemic stroke. *Stroke* 1994;25:2331-6.
- 240.Gianetti J, Volpi E, Sbrana S, Mariani M, Berti S, Andreassi MG i sur. Identification of platelet hyper-reactivity measured with a portable device immediately after

- percutaneous coronary intervention predicts in stent thrombosis. *Thromb Res* 2007;121:407-12.
241. Viles-Gonzalez JF, Fuster V, Badimon JJ. Thrombin/inflammation paradigm: a closer look at arterial and venous thrombosis. *Am Heart J* 2005;149:S19-31.
242. Saw J, Madsen EH, Chan S, Maurer-Spurej E. The ELAPSE (Evaluation of Long-Term Clopidogrel Antiplatelet and Systemic Anti-Inflammatory Effects) study. *J Am Coll Cardiol* 2008;52:1826-33.
243. Hedstrom E, Astrom-Olsson K, Ohlin H, Frogner F, Carlsson M, Billgren T i sur. Peak CK-MB and cTnT accurately estimates myocardial infarct size after reperfusion. *Scand Cardiovasc J* 2007;41:44-50.
244. Hirsowitz GS, Lakier JB, Marks DS, Lee TG, Goldberg AD, Goldstein S. Comparison of radionuclide and enzymatic estimate of infarct size in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1983;1:1405-1412.
245. Licka M, Zimmermann R, Zehelein J, Dengler TJ, Katus HA, Kübler W. Troponin T concentrations 72 hours after myocardial infarction as a serological estimate of infarct size. *Heart* 2002;87:520-524.
246. George JN, Shattil SJ. The clinical importance of acquired abnormalities of platelet function. *N Engl J Med* 1991;324:27-39.
247. Danenberg HD, Szalai AJ, Swaminathan RV, Peng L, Chen Z, Seifert P i sur. Increased thrombosis after arterial injury in human C-reactive protein-transgenic mice. *Circulation* 2003;108:512-5.
248. Anfossi G, Trovati M. Role of catecholamins in platelet function: pathophysiological and clinical significance. *Eur J Clin Invest* 1996;26:353-70.
249. Ding YA, MacIntyre DE, Kenyon CJ, Semple PF. Angiotensin II effects on platelet function. *J Hypertens* 1985;S251-3.
250. Storey RF, Newby LJ, Heptinstall S: Effects of P2Y(1) and P2Y(12) receptor antagonists on platelet aggregation induced by different agonists in human whole blood. *Platelets* 2001;12:443-7.
251. Sudic D, Razmara M, Forslund M, Ji Q, Hjemdahl P, Li N. High glucose levels enhance platelet activation: involvement of multiple mechanisms. *Br J Haematol* 2006;133:315-22.
252. Gibson CM, Ryan KA, Kelley M, Rizzo MJ, Mesley R, Murphy S i sur. Methodologic drift in the assessment of TIMI grade 3 flow and its implications with respect to the reporting of angiographic trial results. The TIMI Study Group. *Am Heart J* 1999; 137:1179-84.

Poglavlje 9

ŽIVOTOPIS

Boško Skorić rođen je u Šibeniku 6. lipnja 1974. godine gdje je završio osnovnu i srednju školu. Godine 1992. kao prvi na bodovnoj listi upisao je Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, na kojem je 21.9.1998. godine diplomirao sa «summa cum laude». Dobitnik je nagrade «Drago Perović» za najboljeg studenta Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u akademskoj godini 1997/98, te Rektorove nagrade za najbolji studentski rad «Izravni učinak proendotelina-1 u proksimalnim kanalicima štakorskog bubrega» u akademskoj godini 1995./96. Tijekom studija sudjelovao je u istraživanjima iz područja staničnog signaliziranja u Zavodu za fiziologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod mentorstvom Prof.dr.sc. Hrvoja Banfića, što je rezultiralo objavljivanjem njegova prva dva znanstvena članka u biomedicinskim časopisima indeksiranim u Current Contents-u.

Nakon studija završio je redovni jednogodišnji staž u OB Sv. Duh u Zagrebu (1998-1999) te položio državni ispit. 2000. godine radi jedno vrijeme kao liječnik opće prakse u DZ Željezničara u Zagrebu, a onda do 2001. godine kao liječnik sekundarac u Sveučilišnoj klinici Vuk Vrhovac. Od 2001. godine zaposlen je u Klinici za bolesti srca i krvnih žila Medicinskog Fakulteta i Kliničkog bolničkog centra Zagreb – Rebro. 2005. godine položio je specijalistički ispit iz interne medicine, te ja kao specijalist internist nastavio raditi u Odjelu za intenzivnu koronarnu njegu, ritmologiju i elektrostimulaciju srca. 2009. godine polaganjem ispita iz uže specijalizacije stječe naziv kardiologa. Od 2010. radi kao asistent u Katedri za internu medicinu Medicinskog Fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Uža područja njegovog interesa u kardiologiji su akutni koronarni sindrom, intenzivna kardijalna skrb, intervencijska kardiologija, zatajivanje i transplantacija srca. Nacionalni je koordinator Hrvatskog kardiološkog društva za implementaciju smjernica Europskog kardiološkog društva. Aktivno je sudjelovao u nizu znanstvenih i stručnih skupova u Hrvatskoj i inozemstvu, te je bio predavač na nekoliko poslijediplomskih tečajeva trajnog medicinskog usavršavanja. Autor je poglavlja u udžbeniku interne medicine, te više originalnih znanstvenih članaka i sažetaka u časopisima indeksiranim u CC-u i u drugim časopisima. 2006.g. sudjelovao je kao koordinator EUROASPIRE III studije u KBC Zagreb - Rebro. Od 2007.g. aktivno sudjeluje u znanstvenom projektu financiranom od Ministarstva znanosti, obrazovanja i športa RH pod nazivom «Otpornost na antitrombocitne lijekove u ishemijskoj bolesti srca i mozga» čiji je voditelj Prof.dr.sc. Davor Miličić. Oženjen, otac je troje djece.

Poglavlje 10

BIBLIOGRAFIJA

Radovi objavljeni u časopisima indeksiranima u Current Contents:

1. Knotek M, Jakšić O, Selmani R, Skorić B, Banfić H. Different endothelin receptor subtypes are involved in phospholipid signalling in the proximal tubule of rat kidney. *Eur J Physiol* 1996; 432:165-73.
2. Beara-Lasić L, Knotek M, Čejvan K, Jakšić O, Lasić Z, Skorić B i sur. The effect of big endothelin-1 in the proximal tubule of the rat kidney. *Br J Pharmacol* 1997; 120:625-30.
3. Tedeschi-Reiner E, Strozzi M, Skorić B, Reiner Z. Relation of atherosclerotic changes in retinal arteries to the extent of coronary artery disease. *Am J Cardiol* 2005; 96:1107-9.
4. Skoric B, Milicic D, Lovric D, Gornik I, Narancic Skoric K, 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*;doi:10.1016/j.ijcard.2008.11.031

Radovi objavljeni u časopisima indeksiranima u Index Medicus, Excerpta Medica, Biological Abstract, Chemical Abstract:

1. Milicic D, Skoric B, Lovric D. Drug-specific thienopyridine resistance in patients with recurrent coronary stent thrombosis. *J Invas Cardiol* 2009;21:E157-60.

Sažeci radova objavljeni u časopisima indeksiranima u Current Contents:

1. Miličić D, Sertić J, Skorić B, Puljević D, Jug M, Buljević B, Čikeš I. Genotyping of multilocus risk markers in patients with myocardial infarction. *Eur Heart J* 2003;24:348.
2. Skoric B, Lovric D, Narancic Skoric K, Sertic J, Milicic D. Aspirin resistance recovers in the chronic phase of myocardial infarction. *Circulation* 2008;doi;10.1161/circulation.aha.108.189875.
3. Milicic D, Skoric B, Lovric D, Narancic Skoric K, Sertic J. Characteristics and dynamics of resistance to antiplatelet drugs in patients with acute myocardial

infarction treated with standard doses of acetylsalicylic acid and clopidogrel. *Circulation* 2008;117;146.

4. Strozzi M, Anic D, Skoric B. Percutaneous coronary interventions (PCI) for unprotected left main coronary artery (ULCMA). *Circulation* 2008;117;122.
5. Milicic D, Ljubas J, Pezo-Nikolic B, Skoric B. NT-proBNP is not useful in early follow up of the heart transplant patients. *Circulation* 2008;117;62.
6. Miličić D, Ljubas J, Skorić B, Jelašić D, Samardžić J, Gornik I. NT-proBNP, troponin T and C-reactive protein as prognostic predictors in patients after heart transplantation. *Eur J Heart Failure* 2009;8:188.
7. Milicic D, Lovric D, Skoric B, Samardzic J, Gornik I, Skorak I, Puljević D. Effect of lower platelet aspirin and clopidogrel response on long-term outcomes in patients with acute STEMI. *Eur Heart J* 2009

Sažeci radova objavljeni u ostalim časopisima:

1. Miličić D, Banfić Lj, Skorić B, Puljević D, Jug M, Buljević B. Thrombophylic disorders related to acute hepatitis B as a risk factor for myocardial infarction and bilateral venous thrombosis – a case report study. *Acta Clin Croat* 2001;40:133.
2. Margetić E, Strozzi M, Škorak I, Putarek K, Ernst A, Skorić B, Lovrić D. Percutaneous coronary intervention in treatment of acute myocardial infarction. *Liječ Vjesn* 2004;126:62.
3. Miličić D, Skorić B, Sertić J, Strozzi M. Polymorphism in APOE gene is associated with the progression of coronary atherosclerosis. *Liječ Vjesn* 2004;126:26.
4. Bulum J, Strozzi M, Ernst A, Škorak I, Margetić E, Putarek K, Miličić D, Šmalcelj A, Skorić B, Lovrić D, Gornik I. Overall and therapy specific in-hospital mortality of patients hospitalized for acute myocardial infarction in the Clinical Hospital Centre Zagreb during the year 2005. *Liječ Vjesn* 2006;128:51-2.
5. Šutalo K, Puljević D, Buljević B, Nikolić Pezo B, Skorić B, Škorak I, Miličić D. Brugada syndrome, «pseudoBrugada» or ... ? *Liječ Vjesn* 2006;128:70.
6. Strozzi M, Skorić B. Percutaneous coronary interventions (PCI) for unprotected left main coronary artery (ULMCA). *Liječ Vjesn* 2006;128:110.
7. Skorić B, Narančić-Skorić K, Lovrić D, Bulum J, Strozzi M, Miličić D. Essential thrombocythemia and recurrent myocardial infarction – a case report. *Liječ Vjesn* 2006;128:140.

8. Lovrić D, Skorić B, Narančić-Skorić K, Drinković N. Abdominal aortic and multiple coronary aneurysms in an adult with atypical Kawasaki disease. *Liječ Vjesn* 2006;128:140-1.
9. Skorić B, Lovrić D, Narančić-Skorić K, Sertić J, Miličić D. Resistance to antithrombotic drugs in patients with acute coronary syndromes. *Liječ Vjesn* 2007;129:151-2.
10. Ljubas J, Milicic D, Pezo B, Skoric B. The significance of NT-proBNP in heart transplant patients. *Liječ Vjesn* 2007;129:151
11. Milicic D, Lovric D, Maric K, Narancic Skoric K, Samardzic J, Sertic J, Skorak I, Strozzi M, Skoric B. Monitoring of Antiplatelet Therapy by Multiple Electrode Aggregometry (Multiplate®) in Patients with Stable Coronary Artery Disease. *Slov Kardiol* 2008;5:28.
12. Skoric B, Skorak I, Lovric D, Narancic Skoric K, Samarzic J, Strozzi M, Milicic D. The Resistance to Aspirin and Clopidogrel Detected by Multiplate® in a Patient with Recurrent Coronary Stent Thrombosis. *Slov Kardiol* 2008;5:28.
13. Milicic D, Ljubas J, Skoric B, Pezo B. The importance of NT-proBNP in follow/up after heart transplantation. *Liječ Vjesn* 2008;130:22-3.
14. Biocina B, Milicic D, Ernst A, Skoric B, Škorak I, Strozzi M, Gasparovic H, Coric V, Strancaric S. Utilization of extracorporeal life support (ECLS) technique in cardiology and cardiac surgery. *Liječ Vjesn* 2008;130:25-6.
15. Maric-Besic K, Skoric B, Jukic M, Strozzi M, Pavlic L. Single coronary ostium: anomalous origin of right coronary artery from the left main coronary artery. *Liječ Vjesn* 2008;130:79.
16. Lovric D, Skoric B, Cikes M, Reskovic V, Baricevic Z, Velagic V, Brida M, Smalcelj A, Milicic D. Fibrinolytic therapy for artificial mechanical valve thrombosis – a series report and single center experience. *Liječ Vjesn* 2008;130:87.
17. Baričević Ž, Velagić V, Čikeš M, Skorić B, Samardžić J, Miličić D. Fondaparinux u liječenju heparinom inducirane trombocitopenije, *Liječ Vjesn* 2009;131:100.

Zbornici:

1. Miličić D, Skorić B, Sertić J, Puljević D, Čikeš I. Distribution of the PvuII LPL polymorphism in patients with myocardial infarction versus in healthy individuals. 11th Alpe Adria Cardiology Meeting, Book of Abstracts, Balatonfured, June 5-7, 2003.

2. Skorić B, Strozzi M, Margetić E. Acute severe thrombocytopenia after use of eptifibatide for percutaneous coronary intervention – case report. 12th Alpe Adria Cardiology Meeting, Book of Abstracts, Cividale del Friuli, April 29 – May 1, 2004.

Udžbenici:

1. Skorić B. Tumori srca. U: Interna medicina. 4. izd., V. Vrhovac i sur., Naklada Lijevak, Zagreb:2008;640, ISBN 978-953-178-989-9.