

Pregledni prispevek/Review article

NEODZIVNOST NA PERORALNO ANTIAGREGACIJSKO ZDRAVLJENJE

NON-RESPONSIVENESS TO ORAL ANTIPLATELET TREATMENT

Rok Perme, Aleš Blinc

Klinični oddelek za žilne bolezni, Interna klinika, Klinični center, Zaloška 7, 1525 Ljubljana

Prispelo 2006-05-07, sprejeto 2006-09-11; ZDRAV VESTN 2006; 75: 635-43

Ključne besede *antiagregacijsko zdravljenje; neodzivnost; aspirin; klopidogrel*

Izvleček

Izhodišča *Antiagregacijsko zdravljenje z aspirinom in/ali klopidogrelom zmanjšuje pogostost aterotrombotičnih zapletov, ne prepreči pa jih v celoti. Pri multifaktorskem bolezenskem procesu, kot je aterotromboza, ni mogoče pričakovati, da bi bila ena sama vrsta zdravljenja povsem učinkovita, vendar zbuja skrb dejstvo, da v klinični praksi predpisujemo antiagregacijska zdravila brez merjenja njihovih učinkov.*

Rezultati *Številne raziskave so z uporabo različnih metod ugotovile, da je znaten delež populacije neodziven ali slabše odziven na peroralno antiagregacijsko zdravljenje. Pri teh osebah so zabeležili povečano pogostost aterotrombotičnih zapletov, kot so srčni infarkt, ishemična možganska kap, poslabšanje ishemije uda ali srčno-žilna smrt. Glavna težava pri ugotavljanju neodzivnosti na antiagregacijska zdravila in njenih kliničnih posledic so laboratorijske metode in vitro, s katerimi lahko le delno ocenimo funkcijo trombocitov in vivo. Zaenkrat ni konsenza o standardiziranem testiranju učinka antiagregacijskih zdravil niti o ukrepih na podlagi testiranja, vendar o tem potekajo klinične raziskave.*

Zaključki *Smernice o antiagregacijskem zdravljenju odsvetujejo rutinsko laboratorijsko testiranje učinka antiagregacijskih zdravil, v prihodnosti pa lahko na podlagi rezultatov kliničnih raziskav pričakujemo dopolnjena navodila.*

Key words *antiplatelet treatment; non-responsiveness; aspirin; clopidogrel*

Abstract

Background *Antiplatelet treatment with aspirin and/or clopidogrel reduces the incidence of atherothrombotic events but does not abolish them altogether. In a multifactorial pathological process such as atherothrombosis no single preventive strategy can be completely successful, yet prescribing antiplatelet treatment without routinely measuring its efficacy raises concern.*

Results *Several studies using different methods have shown that a substantial part of the population is non-responsive or semi-responsive to oral antiplatelet treatment. These people have a higher incidence of atherothrombotic events, such as myocardial infarction, ischemic stroke, worsening of limb ischemia or cardiovascular death. The main problem in assess-*

Avtor za dopisovanje / Corresponding author:

Aleš Blinc, Klinični oddelek za žilne bolezni, Klinični center, Zaloška 7, 1525 Ljubljana, tel.: 01 522 80 32, faks: 01 522 80 70, e-pošta: ales.blinc@kclj.si

ing non-responsiveness to antiplatelet treatment is that laboratory methods in vitro can only roughly estimate the function of platelets in vivo. Currently, there is no consensus either on standardized testing of platelet function or on clinical decisions based on testing, but several clinical studies are addressing these issues.

Conclusions *Current clinical guidelines do not recommend routine platelet function testing in patients on antiplatelet medication, but these guidelines may be revised in the future based on results of ongoing clinical studies.*

Uvod

Adhezija, aktivacija in agregacija trombocitov ob nartgani aterosklerotični lehi igrajo pomembno vlogo v patogenezi aterosklerotičnih zapletov, med katere prištevamo spekter akutnega koronarnega sindroma, prehodne ishemične napade, ishemično možgansko kap, poslabšanje ishemiije uda in srčno-žilno smrt (1). Pri bolnikih z ugotovljeno aterosklerotično boleznijo v katerem koli žilnem povirju in pri asimptomatskih bolnikih z velikim tveganjem za aterosklerotične zaplete je indicirano dolgotrajno antiagregacijsko zdravljenje (2). Antiagregacijsko zdravilo prve izbire je acetilsalicilna kislina, za katero se je udomačil izraz aspirin (2, 3). Meta-analize 145 randomiziranih raziskav, v katere je bilo zajetih več kot 100.000 bolnikov in kontrolnih preiskovancev, so pokazale, da aspirin zmanjšuje tveganje za aterosklerotične zaplete, kot so srčni infarkt, možganska kap ali srčno-žilna smrt, za približno 25 % (4).

Klopidogrel, ki sodi v skupino tienopiridinov, je drugo najpogosteje uporabljano antiagregacijsko zdravilo, ki pa je približno 20-krat dražje od aspirina. Raziskava CAPRIE je pokazala, da je bil pri zelo ogroženih bolnikih, ki so imeli že razvito aterosklerotično bolezen, klopidogrel za 8,7 % učinkovitejši v preprečevanju aterosklerotičnih zapletov kot aspirin, še učinkovitejšo zaščito pa je nudil podskupinam bolnikov s periferno arterijsko boleznijo, diabetikom in tistim, ki so že preboleli več kot en aterosklerotični zaplet (5-7). V primarni preventivi zelo ogroženih bolnikov brez predhodnih aterosklerotičnih zapletov kombinacija aspirina in klopidogrela ni bila učinkovitejša od samega aspirina (8). Dvotirno antiagregacijsko zdravljenje z aspirinom in klopidogrelom, ki delujeta sinergistično (9), pa je dokazano učinkovito v zdravljenju akutnih koronarnih sindromov (10-12), pri perkutanih koronarnih posegih s postavitvijo žilnih opornic (stentov) (13, 14), uporabljamo pa jo tudi pri postavitvi žilnih opornic v karotidne in periferne arterije (15, 16).

Ena do dve desetini ogroženih oseb kljub antiagregacijski zaščiti z aspirinom doživita aterosklerotični zaplet (17), še večji pa je delež populacije, pri katerem jemanje aspirina ne zavre stimulirane agregacije trombocitov *in vitro* ali ne zavre nastajanja tromboksana (TX) A₂ *in vivo* (17-19). Delovne skupine mednarodnih strokovnih združenj in ugledni strokovnjaki v preglednih člankih opozarjajo, da gre pri omenjenem za različne pojave, ki jih v literaturi zasledimo pod skupnim imenom »aspirinska rezistenca« ali »neodzivnost na aspirin« (17-21). Pojavljajo se tudi pre-

gledni članki o nezadostno zavrti agregaciji trombocitov *in vitro* ob zdravljenju s klopidogrelom in povečanem tveganju aterosklerotičnih zapletov ob neodzivnosti na klopidogrel (21-24). Čeprav je aterosklerotična večplasten bolezenski proces (1, 25, 26), pri katerem od ene same vrste zdravljenja ni mogoče pričakovati popolne klinične učinkovitosti, zbuja skrb dejstvo, da antiagregacijska zdravila za razliko od zdravil proti visokemu krvnemu tlaku in lipolitičnih zdravil predpisujemo »na slepo«, tj. brez merjenja njihovih učinkov.

Adhezija, aktivacija in agregacija trombocitov

Ob poškodbi endotela pride kri v stik s subendotelnimi tkivi. Trombociti se prično lepiti na razgaljeno žilno steno in jo v nekaj sekundah enoslojno prekrijejo, kar imenujemo adhezija (1). Pri adheziji gre za povezovanje trombocitnega membranskega glikoproteina (GP) Ib s von Willebrandovim faktorjem (vWF), ki se veže na kolagen, in za povezovanje trombocitnih membranskih glikoproteinov GP Ia/IIa (pogosto imenovanega integrin $\alpha 2\beta 1$) in GP VI neposredno s kolagenom (1, 18).

Za nastanek stabilnega, večslojnega agregata je potrebna aktivacija trombocitov, ki poveča afiniteto trombocitnih membranskih receptorjev GP IIb/IIIa za fibrinogen, preko katerega se aktivirani trombociti navzkrižno povežejo (1, 18). Trombocite lahko aktivirajo različni dražljaji, kot so npr. adenozin difosfat (ADP), TX A₂, trombin, kolagen, adrenalin ali močne strižne sile. Močni primarni aktivatorji, npr. trombin ali izpostavljenost večjim količinam kolagena, sami po sebi sprožijo aktivacijo trombocitov, medtem ko šibki aktivatorji potrebujejo dodatne ojačevalne mehanizme (18).

Med ojačevalnimi mehanizmi sta najpomembnejša dva: izločanje ADP iz gostih zrn v trombocitih ter proizvodnja TX A₂ (Sl. 1). ADP se veže na trombocitne receptorje P2Y₁ in P2Y₁₂, kar posredno aktivira receptorje GP IIb/IIIa oz. poveča njihovo afiniteto za fibrinogen (1, 18). Vzdraženje P2Y₁ le šibko in za kratek čas pospeši aktivacijo trombocitov, močan odziv pa povzroči vezava ADP na receptor P2Y₁₂, ki preko zmanjšanja znotrajcelične koncentracije cikličnega adenozin monofosfata (cAMP) zavre fosfoprotein, ki ga stimulirajo vazodilatatorji (angl. *vasodilator-stimulated phosphoprotein*, VASP). S tem sprosti aktivacijo GP IIb/IIIa (23, 27). TX A₂, ki nastaja iz arahidonske kisline ob sodelovanju encimov ciklooksigenaza-1

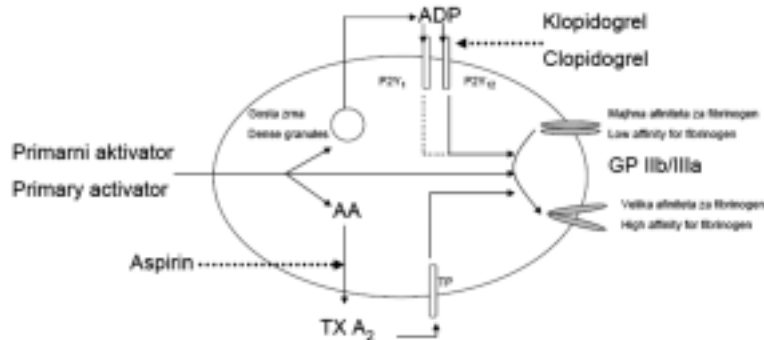
(COX-1) in sintaza tromboksana, se veže na specifične tromboksanske receptorje TP in prav tako posredno aktivira fibrinogenske receptorje GP IIb/IIIa (1, 19).

Aktivirani trombociti se na poškodovanem mestu žilne stene čvrsto povezujejo med seboj, kar imenujemo agregacija. Spodnji trombocitni sloj po aktivaciji tvori dodatne, sekundarne povezave z zunajceličnim matriksom (1). Aktivacija in agregacija trombocitov, ki v nekaj minutah po poškodbi žilne stene oblikujeta stabilen hemostatski trombocitni strdek, sta v fizioloških pogojih omejeni na mesto poškodbe, saj ju drugod močno zavirata proizvoda zdravega endotelija – prostaciklin in dušikov oksid (1). V patoloških pogojih se lahko aktivacija in agregacija trombocitov razširita zunaj območja žilne poškodbe in povzročita nastanek obstruktivnega arterijskega tromba (1).

Farmakološko delovanje aspirina in klopidogetrela

Aspirin in klopidogetrel zavirata vsak po eno od zgoraj opisanih ojačevalnih poti aktivacije trombocitov (Sl. 1).

Aspirin nepovratno zavre encim COX-1 v trombocitih in s tem preprečuje nastajanje TX A₂ (28). Farmakološko gre za acetilacijo aminokislinske serin blizu aktivnega mesta COX-1, kar onemogoči dostop substrata – arahidonske kisline – do aktivnega mesta (29). Acetilacija je nepovratna, zato zavora COX-1 v trombocitih traja do konca njihove življenjske dobe, ki znaša približno 10 dni, saj so trombociti brez jeder in nimajo učinkovite sinteze beljakovin (19). Obstajata dve osnovni obliki ciklooksigenaze, in sicer COX-1, ki je kot konstitutivna oblika stalno izražena v trombocitih in različnih drugih celicah, ter COX-2, ki se izraža zlasti pri vnetju, konstitutivno pa je prisotna le v manjšem številu celic, med katerimi ni trombocitov (30). Za popolno zavoro COX-1 v trombocitih zadostujejo majhni odmerki aspirina, npr. enkratni odmerek 100–160 mg, ki doseže maksimalni učinek že po 1/2 do 1 uri (21, 31), šele po nekaj dneh pa dosežejo maksimalni učinek odmerki po 30–50 mg dnevno (21, 28). Za zavoro COX-2 so potrebni bistveno večji, t. i. protivnetni odmerki aspirina, po več sto mg dnevno (29), vendar jih v današnji klinični praksi zdravljenja ateroskleroze skorajda ne uporabljamo več (4). Ni zanesljivih dokazov, da bi se ob dolgotrajnem jemanju aspirina njegova učinkovitost zmanjšala (21). Klopidogetrel zavira drugi pomembni ojačevalni mehanizem aktivacije trombocitov, ki je odvisen od ADP (23, 32). Večina absorbiranega klopidogetrela se z esterazami hidrolizira v neaktivni presnovek, le manjši del pa se v jetrih oksidira s citokromom P 450 (CYP) 3A4 v kratkoživni aktivni presnovek (33), ki se z disulfidno vezjo poveže z receptorjem P2Y₁₂ in ga nepovratno zavre (34). Standardni odmerek klopidogetrela 75



Sl. 1. Ojačevalni poti aktivacije trombocitov, ki ju posredujeta tromboksan in adenosin difosfat. Pikčasti črti označujeta zaviralno vlogo aspirina in klopidogetrela. AA – arahidonska kislina, ADP – adenosin difosfat, TX A₂ – tromboksan A₂, P2Y₁ in P2Y₁₂ – trombocitna receptorja za ADP, TP – trombocitni receptor za tromboksan, GP IIb/IIIa – glikoprotein IIb/IIIa.

Figure 1. Amplification mechanisms of platelet activation mediated by thromboxane and adenosine diphosphate. The inhibitory role of aspirin and clopidogrel is indicated by the dotted lines. AA – arachidonic acid, ADP – adenosine diphosphate, TX A₂ – thromboxane A₂, P2Y₁ and P2Y₁₂ – platelet receptors for ADP, TP – platelet receptor for thromboxane, GP IIb/IIIa – glycoprotein IIb/IIIa.

mg dnevno doseže maksimalni učinek po 3–7 dneh, enkratni »udarni« odmerek 400–600 mg pa že po 2–5 urah (35). Z omenjenimi odmerki klopidogetrela ne zavremo vseh receptorjev P2Y₁₂ in praviloma dosežemo 40- do 50-odstotno zavoro agregacije trombocitov ob stimulaciji z ADP glede na kontrolne trombocite (36). Ni zanesljivih podatkov, ali se ob dolgotrajnem jemanju klopidogetrela njegova učinkovitost spremeni, vsekakor pa so klinične raziskave CURE, PCI-CURE in CREDO pokazale vztrajanje koristi jemanja klopidogetrela pri akutnih koronarnih sindromih in perkutanah koronarnih ukrepih tudi še po letu dni (10, 13, 14).

Metode za merjenje učinkov aspirina in klopidogetrela

Učinke antiagregacijskih zdravil na delovanje trombocitov lahko merimo z različnimi funkcijskimi in biokemičnimi preiskavami *in vitro* (Razpr. 1).

Med funkcijskimi preiskavami je zlati standard optično merjenje agregacije trombocitov, ki omogoča spremljanje učinkov aspirina in klopidogetrela (37, 38). Merimo prevajanje svetlobe skozi plazmo, bogato s trombociti, ki je ves čas dobro premešana in je ob pričetku poskusa motna zaradi suspendiranih trombocitov. Po dodatku agonista agregacije – ADP, adrenalina, arahidonske kisline ali suspenzije kolagena, se trombociti zbirajo v skupke in se posedajo, tako da se plazma bistri in se skoznjo poveča prevajanje svetlobe. Kot referenco uporabljamo plazmo brez trombocitov. Svetlobno prevodnost po agregaciji trombocitov v primerjavi s svetlobno prevodnostjo referenčne plazme podamo kot odstotek agregacije trombocitov. Priprava plazme, bogate s trombociti, je časovno zahtevna, zato klasična optična agregometrija

Razpr. 1. *Prednosti in slabosti posameznih testov agregacije. PFA-100 – naprava za merjenje zapiralnega časa, VASP – fosfoprotein, ki ga stimulirajo vazodilatatorji, TX A₂ in TX B₂ – tromboksan A₂ in B₂*

Table 1. *Advantages and disadvantages of particular tests of platelet function. PFA-100 – platelet function analyzer, VASP – vasodilator-stimulated phosphoprotein, TX A₂ and TX B₂ – thromboxane A₂ and B₂*

Test	Prednost / Advantage	Slabost / Disadvantage
Optična agregacija	»zlati standard«, lahko meri učinke aspirina ali klopidogrela	časovna zahtevnost, odvisnost od tipa agonista, odstranjeni učinki polne krvi
Optical aggregation	gold standard, monitors aspirin or clopidogrel	clonidogreltime consuming, depends on type of agonist, no effect of full blood
Verify Now RPPA®	enostavnost, hitrost, uporaba polne krvi, lahko meri učinke aspirina ali klopidogrela easy to use, fast, use of full blood, monitors aspirin or clopidogrel	naprava je polno avtomatizirana, ni je mogoče kalibrirati fully automated, calibration not possible
PFA-100®	enostavnost, hitrost, uporaba polne krvi easy to use, fast, use of full blood	slaba korelacija z optično agregometrijo, neobčutljivost na učinke klopidogrela low correlation with optical aggregation, insensitive to clopidogrel effects
Urinski 11-dehidro TX B ₂	dokazana uporabnost testa za merjenje odzivnosti na aspirin na populacijski ravni	tehnična zahtevnost, številni viri TX A ₂ , veliko število metabolitov, neprimeren za vrednotenje odziva posameznika
Urinary 11-dehydro TX B ₂	proven useful for measuring aspirin response on population level	technically demanding, several sources of TX A ₂ , several metabolites, inappropriate for measuring individual response
Fosforilirani VASP v trombocitih	uporaben za merjenje odzivnosti na klopidogrel, ker odraža zavore receptorja P2Y ₁₂	tehnična zahtevnost, klinična uporabnost še ni dokazana
Phosphorylated VASP in platelets	useful for measuring clopidogrel response as it reflects inhibition of P2Y ₁₂ receptor	technically demanding, clinical usefulness not yet proven

ni prikladna za rutinsko klinično uporabo. Rezultati agregometrije so odvisni od koncentracije trombocitov, tipa agonista in njegove koncentracije, izključeni pa so učinki rdečih krvničk in drugih dejavnikov v polni krvi, ki tudi vplivajo na agregacijo trombocitov (37, 38).

Avtomatizirano optično meritev agregacije trombocitov v polni krvi omogoča aparat VerifyNow Rapid Platelet Function Assay (Ultegra, ZDA). V merilni kamrici se citrirani krvi primešajo zrnca, prevlečena s fibrinogenom, ki jih ob agregaciji med seboj povežejo trombociti. Ob posedanju zrnca in trombocitov se povečuje optična prevodnost krvi. Rezultati se zadovoljivo ujemajo s klasično optično agregometrijo v plazmi, obstaja tudi nekaj podatkov o korelaciji s kliničnimi dogodki (39, 40). Učinke aspirina lahko merimo ob spodbujanju agregacije z različnimi agonisti, posebna prednost aparata pa je, da lahko neodvisno od aspirina merimo učinke klopidogrela in tudi bazalno vrednost agregacije, ne da bi prekinjali jemanje antiagregacijskih zdravil. V posebni merilni kamrici ADP in prostaglandin E1 selektivno aktivirata receptor P2Y₁₂, v drugi merilni kamrici pa močan agonist aktivacije trombocitov, peptid TRAP (*thrombin receptor activating peptide*), spodbudi maksimalno, t. i. bazalno, agregacijo. Tako lahko hkrati izmerimo bazalno vrednost agregacije in stopnjo zavore ob jemanju klopidogrela (41). Metodo je nedavno odobrila ameriška Food and Drug Administration za merjenje učinkov klopidogrela (24).

Med funkcijskimi testi je zbudilo veliko zanimanja merjenje »zapiralnega časa« polne krvi z aparatom Platelet Function Analyzer-100 (PFA-100, Dade Behring). Pri tej preiskavi podtlak vleče kri iz epruvete skozi

odprtino, obdano s kolagenom in adsorbiranim adrenalinom ali ADP. Merimo čas do ustavitve pretoka krvi zaradi nastanka trombocitnega čepa, t. i. »zapiralni čas«. Test je enostaven in hiter, vendar ne kaže dobre korelacije z optičnim merjenjem agregacije (42). Pomembna pomanjkljivost PFA-100 je tudi neobčutljivost za merjenje učinkov klopidogrela (43).

V starejših raziskavah so merili čas krvavitve, ki pa se zaradi slabe ponovljivosti ni uveljavil kot zanesljiv funkcijski test.

Med biokemičnimi testi sta najpomembnejša dva: določanje presnovkov TX kot merilo zavore ciklooksigenaze ob jemanju aspirina (44) in določanje fosforiliranega VASP kot merilo zavore receptorja P2Y₁₂ ob jemanju klopidogrela (43).

Koncentracija 11-dehidro TX B₂ v urinu odraža sintezo TX A₂ v trombocitih in drugih celicah, vendar je 11-dehidro TX B₂ le eden izmed približno 20 metabolitov TX A₂ (45). Merjenje koncentracije 11-dehidro TX B₂ v urinu ni posebej primerno za določanje odzivnosti na aspirin pri posameznikih (45), na populacijski ravni pa je pomen metode potrdila raziskava v sklopu študije HOPE, ki je dokazala, da imajo bolniki iz kvartila z največjo koncentracijo 11-dehidro TX B₂ v urinu (neodzivni na aspirin) skoraj 2-krat večjo možnost srčno-žilnih zapletov kot tisti iz kvartila z najmanjšo koncentracijo (odzivni na aspirin) (46).

Fosforilacija VASP v trombocitih je neodvisna od delovanja aspirina in dobro odraža stopnjo zavore receptorjev P2Y₁₂ ter je kot merilo odzivnosti na klopidogrel v fazi preizkušanja glede korelacije s kliničnimi dogodki (43). Fosforilirano obliko VASP prepozna specifično monoklonsko protitelo, katerega vezavo kvantificiramo s pretočno citometrijo ali encimsko-immunskim testom (43).

Mehanizmi neodzivnosti na aspirin in klopidogrel

Obstajajo številni vzroki za neodzivnost na aspirin, ki so jih različni avtorji razvrstili na različne načine (20, 24, 47, 48). Pregledna je razdelitev Webra in sodelavcev, ki so s kombinacijo funkcijske meritve agregacije trombocitov in biokemičnega določanja presnovkov TX razdelili neodzivnost na aspirin v *farmakokinetični* tip, ki pomeni zmanjšano biološko razpoložljivost aspirina, *farmakodinamični* tip, pri katerem gre za nesposobnost aspirina, da v trombocitih zavre proizvodnjo TX, in t. i. *pseudorezistenco*, pri kateri prevla-

dajo mehanizmi agregacije, ki so neodvisni od sicer zavrte ojačevalne poti TX (Razpr. 2) (47). Nekateri možni vzroki za različne tipe neodzivnosti na aspirin so navedeni v Razpr. 3.

Med farmakokinetičnimi razlogi za neodzivnost je najpogostejše neredno jemanje aspirina, lahko pa pride tudi do kompetitivne inhibicije vezave aspirina na COX-1 z nesteroidnimi antirevmatiki (NSAR) (20, 24, 48). Tovrstna interakcija je značilna zlasti za manj selektivne nesteroidne antirevmatike, kot sta npr. ibuprofen in naproksen, ne pojavlja pa se pri NSAR, ki imajo večjo afiniteto do COX-2 (20, 24, 48).

Farmakodinamični razlogi neodzivnosti na aspirin so redki. Čeprav obstaja atraktivna hipoteza, da nekateri polimorfizmi gena za COX-1 zmanjšujejo vezavno sposobnost aspirina na aktivno mesto, jih doslej pri ljudeh še niso dokazali. Znan pa je polimorfizem, ki celo povečuje vezavno sposobnost aspirina na COX-1 (49). Prav tako je malo verjetno, da bi bilo za neodzivnost na aspirin krivo povečano izražanje COX-2 v trombocitih, ki bi privedlo do nastajanja TXA₂ kljub zavori COX-1. Selektivni zaviralci COX-2 namreč ne zavro od aspirina neodvisne proizvodnje TXA₂ (18, 20). V klinični praksi poleg nerednega jemanja aspirina pogosto naletimo na različne oblike »pseudorezistence«, pri katerih je aktivacija trombocitov neokrnjena kljub zavori proizvodnje tromboksana. Večnoma gre za izpostavitve močnim aktivatorjem, kot sta npr. trombin ali kolagen pri poškodbi žile, velikim strižnim silam ob turbulentnem toku krvi skozi žilne zožitve, povečanemu oksidativnemu stresu, kajenju, učinkom adrenalina (npr. med telesno dejavnostjo ali duševnim stresom). Pri »pseudorezistenci« so udeleženi tudi povečana koncentracija von Willebrandovega faktorja v plazmi in polimorfizmi genov za receptorje končne skupne protitrombocitne agregacije, zlasti GP Ib in GP IIb/IIIa (24, 47).

Razpr. 2. *Agregacija trombocitov in proizvodnja tromboksana se razlikujeta pri odzivnosti na aspirin in različnih oblikah neodzivnosti (47).*

Table 2. *Platelet aggregation and thromboxane production differ in aspirin responders and in various types of aspirin resistance (47).*

	Odziv na peroralni aspirin Effect of oral aspirin		Odziv na dodatek aspirina <i>in vitro</i> Effect of aspirin added <i>in vitro</i>	
	zavrta agregacija ob stiku s kolagenom inhibition of collagen-induced platelet aggregation	zavrta proizvodnja tromboksana inhibition of thromboxane formation	zavrta agregacija ob stiku s kolagenom inhibition of collagen-induced platelet aggregation	zavrta proizvodnja tromboksana inhibition of thromboxane formation
Odzivnost na aspirin Aspirin responder	DA YES	DA YES	DA YES	DA YES
Farmakokinetični tip neodzivnosti Pharmacokinetic type of resistance	NE NO	NE NO	DA YES	DA YES
Farmakodinamični tip neodzivnosti Pharmacodynamic type of resistance	NE NO	NE NO	NE NO	NE NO
»Pseudorezistenca« na aspirin »Pseudo-resistance« to aspirin	NE NO	DA YES	NE NO	DA YES

Razpr. 3. *Nekateri možni vzroki za neodzivnost na aspirin (43, 44). NSAR – nesteroidno antirevmatično zdravilo, COX – ciklooksigenaza, TX – tromboksan, GP – glikoprotein.*

Table 3. *Possible mechanisms of aspirin resistance (43, 44). NSAID – nonsteroidal antiinflammatory drug, COX – cyclooxygenase, TX – thromboxane, GP – glycoprotein.*

Farmakokinetični tip Pharmacokinetic type	Preiskovanec ne jemlje aspirina Patient non-compliance
	Sočasno jemanje NSAR, npr. ibuprofena Concurrent intake of NSAID such as ibuprofen
	Pospešeno obnavljanje trombocitov Accelerated platelet turnover
Farmakodinamični tip Pharmacodynamic type	Polimorfizmi COX-1 (?) Polymorphisms of COX-1 (?)
	Povečano izražanje trombocitne COX-2 (?) Increased expression of COX-2 in platelets (?)
»Pseudorezistenca« na aspirin (= agregacija trombocitov neodvisno od zavore TX) Pseudo-resistance (= platelet aggregation independent of TX inhibition)	Povečana izpostavljenost trombocitov kolagenu, npr. ob poškodbi žile Increased exposure to collagen such as injury to the vessel
	Izpostavljenost adrenalinu, npr. ob duševnem ali telesnem stresu Increased levels of adrenaline (physical exercise, mental stress)
	Povečan oksidativni stres Increased oxidative stress
	Povečane strižne sile, npr. ob turbulentnem toku skozi žilne zožitve Increased shear forces at stenotic sites
	Povečana koncentracija von Willebrandovega faktorja Increased concentration of von Willebrand factor
	Polimorfizmi genov za beljakovine končne skupne poti trombocitne agregacije, npr. GP Ib, GP IIb/IIIa Polymorphisms of platelet fibrinogen receptors GP Ib, GP IIb/IIIa

Pri neodzivnosti na klopidogetrel lahko analogno kot pri aspirinu govorimo o zmanjšani biološki razpoložljivosti učinkovine, o moteni interakciji aktivnega presnovka s celičnim receptorjem in o mehanizmih agregacije trombocitov, ki so neodvisni od zavrtega ojačevalnega mehanizma preko receptorja P2Y₁₂ (23). Zmanjšana biološka razpoložljivost je lahko posledica nerednega jemanja klopidogetrela, premajhnih odmerkov ali interakcij z zdravili, ki vplivajo na presnovo klopidogetrela v aktivno učinkovino. Poročali so, da

Razpr. 4. *Klinične posledice neodzivnosti na aspirin. CVI – možganska kap, PAB – periferna arterijska bolezen, AMI – akutni miokardni infarkt, TIA – prehodna ishemična ataka.*

Table 4. *Clinical consequences of aspirin resistance. CVI – cerebrovascular incident, i.e., stroke, PAB – peripheral arterial disease, PTA – percutaneous transluminal angioplasty, AMI – acute myocardial infarction, TIA – transient ischemic attack.*

Prvi avtor, leto objave, referenca	Populacija preiskovancev	Rezultat pri neodzivnih na aspirin
First author, year of publication, reference	Population studied	Outcome in aspirin non-responders
Grotemeyer KH, 1991 (67)	Stanje po CVI Post CVI	40 % večje tveganje za CVI, MI ali smrt 40 % higher risk of CVI, MI or death
Mueller MR, 1997 (59)	PAB, po PTA PAD, post PTA	87 % večje tveganje za reokluzijo periferne arterije 87 % higher risk of reocclusion of peripheral artery
Gum PA, 2003 (68)	Srčno-žilne bolezni Cardiovascular disease	3-krat večji obeti za CVI, MI ali smrt 3-times higher odds for CVI, MI or death
Andersen K, 2003 (64)	Stanje po AMI Post AMI	tendenco večjega tveganja za AMI ali CVI tendency of higher risk of AMI or CVI
Grundmann K, 2003 (69)	Srčno-žilne bolezni Cardiovascular disease	34 % večje tveganje za ishemično kap ali TIA 34 % higher risk of ischemic stroke or TIA
Eikleboom JW, 2002 (46)	Srčno-žilne bolezni Cardiovascular disease	1,8-krat večja verjetnost za CVI, AMI ali smrt 1.8-times higher chance of CVI, AMI or death

Razpr. 5. *Klinične posledice neodzivnosti na klopidogetrel. PCI – perkutani koronarni poseg, STEMI – srčni infarkt z dvigom veznice ST.*

Table 5. *Clinical consequences of clopidogrel resistance. PCI – percutaneous coronary intervention, STEMI – myocardial infarction with ST elevation.*

Prvi avtor, leto objave, referenca	Preiskovana populacija	Rezultat pri neodzivnih na klopidogetrel
First author, year of publication, reference	Studied population	Outcome in clopidogrel non-responders
Muller I, 2003 (76)	Elektivna PCI Elective PCI	2 primera subakutne tromboze v stentu med neodzivnimi, nobenega med odzivnimi 2 cases of subacute in-stent thrombosis among non-responders, none among responders
Matetzky S, 2004 (77)	Primarna PCI pri STEMI Primary PCI in STEMI	25 % večja verjetnost ponovnega srčno-žilnega dogodka v 6 mesecih 25 % higher chance of repeated cardiovascular event in the next 6 months

atorvastatin preko tekmovanja za vezalna mesta na CYP 3A4 povzroča zavoro presnavljanja klopidogetrela v aktivni presnovek (50), vendar ta učinek najverjetneje ni klinično pomemben, saj v retrospektivnih analizah velikih kliničnih raziskav PRONTO, CREDO in MITRA PLUS niso našli številnejših ishemičnih zapletov ob sočasnem jemanju klopidogetrela in atorvastatina (51–53). Merjenje aktivacije in agregacije trombocitov ob sočasnem jemanju klopidogetrela in atorvastatina ali drugih statinov prav tako ni potrdilo, da bi statini ovirali delovanje klopidogetrela (54).

Aktivnost CYP 3A4 je obratno povezana z agregacijsko sposobnostjo trombocitov pri osebah, ki jemljejo klopidogetrel (55). Po indukciji aktivnosti CYP 3A4 z rifampicinom so pri nekaterih zdravih prostovoljcih, ki so bili sprva neodzivni na klopidogetrel, dosegli izboljšano odzivnost oz. zmanjšano agregacijo trombocitov ob stimulaciji z ADP (55). Opisali so številne polimorfizme v genih za CYP 3A4 in CYP 3A5, ki presnavljata podobne substrate, vendar pomen teh polimorfizmov še ni zadovoljivo ovrednoten (23).

Polimorfizmi receptorja P2Y₁₂ so večinoma povezani z večjo nagnjenostjo h krvavitvam, ker vezava ADP

na spremenjeni receptor ne izzove ustreznega agregacijskega odziva trombocitov (23). Opisali pa so štiri enonukleotidne polimorfizme, ki nastopajo skupaj v t. i. haplotipu H2 za receptor P2Y₁₂ in so povezani z močnejšim agregacijskim odzivom trombocitov ob izpostavitvi ADP (56). Haplotip H2 nastopa za tretjino pogosteje pri bolnikih s periferno arterijsko boleznijo kot pri kontrolnih preiskovancih in je lahko povezan z zmanjšano odzivnostjo na klopidogetrel (57). Poročajo pa, da tudi pri haplotipu H2 dosežemo dobro zavoro trombocitne agregacije z visokim začetnim odmerkom klopidogetrela po 600 mg (58).

Zelo verjetno tudi pri klopidogetrelu nastopa »pseudorezistenca«, pri kateri je agregacija trombocitov posledica močnega aktivacijskega mehanizma, ki ne zahteva dodatne ojačitve preko aktivacije receptorja P2Y₁₂.

Pogostost in klinični pomen neodzivnosti na aspirin in klopidogetrel

Z različnimi metodami in različnimi merili za neodzivnost so ugotovili, da je pri bolnikih s periferno arterijsko boleznijo na aspirin neodzivnih 20–60 % bolnikov (59–61), pri bolnikih s stabilno ishemično boleznijo srca je takih 5,5–35 % (39, 62–64), med bolniki s cerebrovaskularno boleznijo pa okrog 35 % (65, 66).

Več raziskav je pokazalo, da imajo bolniki, ki so neodzivni na aspirin, povečano tveganje za srčni infarkt, možgansko kap, zaporo periferne arterije in smrt (46, 59, 64, 67–69) (Razpr. 4).

Neodzivnost na klopidogetrel so doslej proučevali v glavnem pri bolnikih s koronarno boleznijo po perkutanem koronarnem posegu s postavitvijo žilnih opornic. Vsi bolniki so sočasno s klopidogetrelom prejeli aspirin. Z različnimi metodami so ocenili, da je bilo na klopidogetrel neodzivnih 11–31 % oseb (70–74), pri pretežkih preiskovancih z indeksom telesne mase > 25 kg/m² pa je bilo neodzivnih celo 59 % (74). Zelo pomembna je ugotovitev, da se odzivnost na klopidogetrel razporeja normalno – v obliki zvonaste krivulje (75), zato je razdelitev v odzivne in neodzivne preiskovance vedno arbitrarna (24). Podobno velja za

odzivnost na aspirin in številne druge zvezno razporejene spremenljivke, npr. krvni tlak, koncentracijo serumske glukoze ali holesterola, kjer so meje med normalnimi in patološkimi vrednostmi v dobršni meri umetne in služijo predvsem lažjemu kliničnemu odločanju (24).

Pojavljajo se že prvi dokazi, da je neodzivnost na klopidogrel povezana s povečanim tveganjem za srčno-žilne zaplete (76, 77) (Razpr. 5). Ni še znano, v kolikšni meri se neodzivnost na aspirin prekriva z neodzivnostjo na klopidogrel. Pričakovati je, da se kombinirana neodzivnost pojavlja predvsem v sklopu »pseudorezistence«, ko močni aktivatorji trombocitov ne potrebujejo ojačevalnih poti, ki jih zavirata aspirin in klopidogrel.

Pogled v prihodnost

Zaenkrat nimamo dokazov o učinkovitosti terapevtskih ukrepov pri neodzivnosti na antiagregacijsko zdravljenje. Povečevanje odmerka aspirina ne izboljšuje njegove klinične učinkovitosti (4), prav tako pa ni jasnih dokazov o koristnosti zamenjave aspirina s klopidogrelom, čeprav je raziskava CAPRIE pokazala majhno prednost monoterapije s klopidogrelom v primerjavi z aspirinom (5). Raziskava CHARISMA ni potrdila prednosti kombinacije aspirina in klopidogrela pred aspirinom pri preprečevanju srčnega infarkta, možganske kapi ali srčno-žilne smrti pri skupni analizi asimptomatskih preiskovancev z velikim tveganjem za srčno-žilne zaplete in simptomatskih bolnikov z že razvito aterosklerotično boleznijo (8). Podskupinska analiza je pokazala le majhno prednost kombinacije aspirina in klopidogrela pri bolnikih s klinično izraženo aterosklerotično boleznijo (8). Ni sta še zaključeni pridruženi raziskavi, v katerih iščejo povezavo različnih genskih polimorfizmov z neodzivnostjo na aspirin ali klopidogrel oziroma merijo 11-dehidro TX B₂ v urinu z namenom, da ugotovijo, ali pri skupini neodzivnih na aspirin dodatek klopidogrela pomembno zmanjšuje tveganje za ishemične zaplete (24).

Potekajo tudi raziskave novejših, predvidoma učinkovitejših tienopiridinov v primerjavi s klopidogrelom. Omeniti velja raziskavo TRITON-TIMI 38, ki pri bolnikih z akutnim koronarnim sindromom primerja učinkovitost novejšega prasugrela v primerjavi z uveljavljenim klopidogrelom pri preprečevanju dodatnih srčno-žilnih zapletov (24). Pred tem pa je v raziskavi JUMBO-TIMI 26 prasugrel dokazal primerljivo varnost kot klopidogrel (78).

Zaključki

Jasno je, da kljub pomanjkljivi metodologiji dosedanjih raziskav resnično obstajata neodzivnost na aspirin in neodzivnost na klopidogrel in da sta oba pojava povezana z večjim tveganjem za srčno-žilne zaplete (24).

Ker še nimamo enotne definicije neodzivnosti na aspirin ali klopidogrel, niti dokazov o učinkovitosti kliničnega ukrepanja pri neodzivnosti, konsenz evrop-

skih strokovnjakov odsvetuje rutinsko testiranje odzivnosti na aspirin (18). Zaenkrat je klinično vodenje peroralnega antiagregacijskega zdravljenja omejeno na spodbujanje dobrega sodelovanja bolnikov, ki naj ne opuščajo jemanja zdravil in se izogibajo sočasni uporabi nesteroidnih antirevmatikov.

Ko bo znano, ali uporaba klopidogrela koristi bolnikom z dokazano neodzivnostjo na aspirin in če povečanje dnevnega odmerka klopidogrela ali uporaba novejših tienopiridinov koristi bolnikom s slabšo odzivnostjo na standardni odmerek klopidogrela, lahko pričakujemo dopolnjene smernice o merjenju učinkov in predpisovanju antiagregacijskih zdravil.

Literatura

1. Ruggeri ZM. Plateletes in atherothrombosis. *Nature Medicine* 2002; 8: 1227-34.
2. Patrono C, Bachmann F, Baigent C, Bode C, De Caterina R, Charbonnier B, et al. European Society of Cardiology. Expert consensus document on the use of antiplatelet agents. The task force on the use of antiplatelet agents in patients with atherosclerotic cardiovascular disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2004; 25: 166-81.
3. Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Patients with Peripheral Arterial Disease. ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients with Peripheral Arterial Disease (Lower Extremity, Renal, Mesenteric, and Abdominal Aortic): A Collaborative Report from the American Association for Vascular Surgery/Society for Vascular Surgery, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, Society for Vascular Medicine and Biology, Society of Interventional Radiology, and the ACC/AHA Task Force on Practice Guidelines. Dosegljivo na: <http://www.acc.org/clinical/guidelines/pad/index.pdf>
4. Antithrombotic Trialists Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ* 2002; 324: 71-86.
5. CAPRIE Steering Committee. A randomized, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). *Lancet* 1996; 348: 1329-39.
6. Jarvis B, Simpson K. Clopidogrel: a review of its use in the prevention of atherothrombosis. *Drugs* 2000; 60: 347-77.
7. Ringleb PA, Bhatt DL, Hirsch AT, Topol EJ, Hacke W. Clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischemic events investigators. Benefit of clopidogrel over aspirin is amplified in patients with a history of ischemic events. *Stroke* 2004; 35: 528-32.
8. Bhatt DL, Fox KAA, Hacke W, Berger PB, Black HR, Boden WE, et al. for the CHARISMA Investigators. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med* 2006; 354: 1706-17.
9. Makkari RR, Eigler NL, Kaul S, Frimerman A, Nakamura M, Shah PK, et al. Effects of clopidogrel, aspirin and combined therapy in a porcine ex vivo model of high-shear induced stent thrombosis. *Eur Heart J* 1998; 19: 1538-46.
10. Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK; 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.
11. Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, Lopez-Sendon JL, Montalescot G, Theroux P, et al.; CLARITY-TIMI 28 Investigators. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2005; 352: 1179-89.
12. Chen ZM, Jiang LX, Chen YP, Xie JX, Pan HC, Peto R, et al.; COMMIT (Clopidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial) Collaborative Group. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2005; 366: 1607-21.

13. Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK, et al.; Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events trial (CURE) Investigators. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *Lancet* 2001; 358: 527-33.
14. Steinhubl SR, Berger PB, Mann JT 3rd, Fry ET, DeLago A, Wilmer C, Topol EJ; CREDO Investigators. Clopidogrel for the reduction of events during observation. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288: 2411-20.
15. Vos JA, van den Berg JC, Ernst SM, Suttrop MJ, Overtoom TT, Mauser HW, et al. Carotid angioplasty and stent placement: comparison of transcranial Doppler US data and clinical outcome with and without filtering cerebral protection devices in 509 patients. *Radiology* 2005; 234: 493-9.
16. Schillinger M, Sabeti S, Loewe C, Dick P, Amighi J, Mlekusch W, et al. Balloon angioplasty versus implantation of nitinol stents in the superficial femoral artery. *N Engl J Med* 2006; 354: 1879-88.
17. Michelson AD, Cattaneo M, Eikelboom JW, Gurbel P, Kottke-Marchant K, Kunicki TJ, et al.; 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.
18. Weber AA. Phenomenology of aspirin resistance. In: Schrör K, ed. *Aspirin - »resistance« or »non-responsiveness«*. Frechen: Dr. Schrör Verlag; 2004. p. 1-16.
19. Hohlfeld T. Pharmacology of aspirin resistance. In: Schrör K, ed. *Aspirin - resistance or non-responsiveness*. Frechen: Dr. Schrör Verlag; 2004. p. 17-32.
20. Patrono C. Aspirin resistance: definition, mechanisms and clinical read-outs. *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1710-3.
21. Cattaneo M. Aspirin and clopidogrel - efficacy, safety and the issue of drug resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 1980-7.
22. Wiviott SD, Antman ED. Clopidogrel resistance: a new chapter in a fast-moving story. *Circulation* 2004; 109: 3064-7.
23. Nguyen TA, Diodati JG, Pharand C. Resistance to clopidogrel: a review of the evidence. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 1157-64.
24. Wang TH, Bhatt DL, Topol EJ. Aspirin and clopidogrel resistance: an emerging clinical entity. *Eur Heart J* 2006; 27: 647-54.
25. Libby P. Molecular bases of the acute coronary syndromes. *Circulation* 1995; 91: 2844-50.
26. Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-26.
27. Geiger J, Brich J, Honig-Liedl P, Eigenthaler M, Schanzenbacher P, Herbert JM, Walter U. Specific impairment of human platelet P2Y(AC) ADP receptor-mediated signaling by the antiplatelet drug clopidogrel. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2007-11.
28. Schrör K. Antiplatelet drugs - a comparative review. *Drugs* 1995; 50: 7-28.
29. Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1998; 38: 97-120.
30. Szczeklik A, Musiał J, Undas A, Sanak M. Aspirin resistance. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 1655-62.
31. Calverley DC, Roth GJ. Antiplatelet therapy - aspirin, ticlopidine/clopidogrel, and anti-integrin agents. *Hem Onc Clinics North Am* 1998; 12: 1231-49.
32. Hollopeter G, Jantzen HM, Vincent D, Li G, England L, Ramakrishnan V, Yang RB, et al. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. *Nature* 2001; 409: 202-7.
33. Pereillo JM, Maftouh M, Andrieu A, Uzabiaga MF, Fedeli O, Savi P, et al. Structure and stereochemistry of the active metabolite of clopidogrel. *Drug Metab Dispos* 2002; 30: 1288-95.
34. Ding Z, Kim S, Dorsam RT, Jin J, Kunapuli SP. Inactivation of the human P2Y12 receptor by thiol reagents requires interaction with both extracellular cysteine residues, Cys17 and Cys270. *Blood* 2003; 101: 3908-14.
35. Savcic M, Hauert J, Bachmann F, Wyld PJ, Geudelin B, Cariou R. Clopidogrel loading dose regimens: kinetic profile of pharmacodynamic response in healthy subjects. *Semin Thromb Hemost* 1999; 25 Suppl 2: 15-9.
36. Thebault JJ, Kieffer G, Lowe GD, Nimmo WS, Cariou R. Repeated-dose pharmacodynamics of clopidogrel in healthy subjects. *Semin Thromb Hemost* 1999; 25 Suppl 2: 9-14.
37. Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haas NF, Taite BB, Szalony JA, Page JD, et al. Assessment of platelet function assays. *Am Heart J* 1988; 135: S170-8.
38. Michelson AD. Platelet function testing in cardiovascular diseases. *Circulation* 2004; 110: 489-93.
39. Wang JC, Aucoin-Barry D, Manuelian D, Monbouquette R, Reisman M, Gray W, et al. Incidence of aspirin non-responsiveness using the Ultegra Rapid Platelet Function Assay-ASA. *Am J Cardiol* 2003; 92: 1492-4.
40. Chen WH, Lee PY, Ng W, Tse HF, Lau CP. Aspirin resistance is associated with a high incidence of myonecrosis after non-urgent percutaneous coronary intervention despite clopidogrel pretreatment. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 112.
41. VerifyNow™ P2Y12 package insert. Dosegljivo na: <http://www.accumetrics.com/products/pdfs/14255.E.pdf>
42. McKee SA, Sane DC, Deligdisis EN. Aspirin resistance in cardiovascular disease: a review of prevalence, mechanisms and clinical significance. *Thromb Haemost* 2002; 88: 711-5.
43. Geiger J, Teichmann L, Grossmann R, Aktas B, Steigerwald U, Walter U, Chinzel R. Monitoring clopidogrel action. Comparison of methods. *Clin Chem* 2005; 51: 957-6.
44. Catella F, Healy D, Lawson JA, FitzGerald GA. 11-Dehydrothromboxane B2: a quantitative index of thromboxane A2 formation in the human circulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 5861-5.
45. Halushka MK, Halushka PV. Why are some individuals resistant to the cardioprotective effects of aspirin? Could it be thromboxane A2? *Circulation* 2002; 105: 1620-2.
46. Eikelboom JW, Hirsch J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation* 2002; 105: 1650-5.
47. Weber AA, Przytulski B, Schanz A, et al. Towards a definition of aspirin resistance: a typological approach. *Platelets* 2002; 13: 37-40.
48. DeGaetano G, Cerletti C. Aspirin resistance: a revival of platelet aggregation tests? *J Thromb Haemost* 2003; 1: 1710-3.
49. Halushka MK, Walker LP, Halushka PV. Genetic variation in cyclooxygenase 1: effects on response to aspirin. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 73: 122-30.
50. Clarke TA, Waskell LA. The metabolism of clopidogrel is catalyzed by human cytochrome P450 3A and is inhibited by atorvastatin. *Drug Metab Dispos* 2003; 31: 53-9.
51. Serebruany VL, Malinin AI, Callahan KP, Gurbel PA, Steinhubl SR. Statins do not affect platelet inhibition with clopidogrel during coronary stenting. *Atherosclerosis* 2001; 159: 239-41.
52. Saw J, Steinhubl SR, Berger PB, Kereiakes DJ, Serebruany VL, Brennan D, et al.; Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation Investigators. Lack of adverse clopidogrel-atorvastatin clinical interaction from secondary analysis of a randomized, placebo-controlled clopidogrel trial. *Circulation* 2003; 108: 921-4.
53. Serebruany VL, Midei MG, Malinin AI, Oshrine BR, Lowry DR, Sane DC, et al. Absence of interaction between atorvastatin or other statins and clopidogrel: results from the interaction study. *Am J Cardiol* 2003; 92: 285-8.
54. Serebruany VL, Midei MG, Malinin AI, Oshrine BR, Lowry DR, Sane DC, et al. Absence of interaction between atorvastatin or other statins and clopidogrel: results from the interaction study. *Arch Intern Med* 2004; 164: 2051-7.
55. Lau WC, Gurbel PA, Watkins PB, Neer CJ, Hopp AS, Carville DG, et al. Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of clopidogrel resistance. *Circulation* 2004; 109: 166-71.
56. Fontana P, Dupont A, Gandrille S, Bachelot-Loza C, Reny JL, Aiach M, et al. Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation is associated with P2Y12 gene sequence variations in healthy subjects. *Circulation* 2003; 108: 989-95.
57. Fontana P, Gaussem P, Aiach M, Fiessinger JN, Emmerich J, Reny JL. P2Y12 H2 haplotype is associated with peripheral arterial disease: a case-control study. *Circulation* 2003; 108: 2971-3.

58. Von Beckerath O, Koch W, Eichinger M, Schomig A, Kastrati A. P2Y12 gene H2 haplotype is not associated with increased adenosine diphosphate-induced platelet aggregation after initiation of clopidogrel therapy with a high loading dose. *Blood Coagul Fibrinolys* 2005; 16: 199-204.
59. Mueller MR, Salat A, Stangl P, Murabito M, Pulaki S, Boehm D, et al. 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.
60. Roller RE, Dorr A, Ulrich S, Pilger E. Effect of aspirin treatment in patients with peripheral arterial disease monitored with the platelet function analyzer PFA-100. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002; 13: 277-81.
61. Mueller T, Haltmayer M, Poelz W, Haidinger D. Monitoring aspirin 100 mg and clopidogrel 75 mg therapy with the PFA-100 device in patients with peripheral arterial disease. *Vasc Endovasc Surg* 2003; 37: 117-23.
62. Hurlen M, Seljeflot I, Arnesen H. The effect of different anti-thrombotic regimens on platelet aggregation after myocardial infarction. *Scand Cardiovasc J* 1988; 32: 233-7.
63. Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, Gurm H, Welsh PA, Brooks L, et al. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2001; 88: 230-5.
64. Andersen K, Hurlen M, Arnesen H, Seljeflot I. Aspirin non-responsiveness as measured by PFA-100 in patients with coronary artery disease. *Thromb Res* 2003; 108: 37-42.
65. Grottemeyer KH. Effects of acetylsalicylic acid in stroke patients. Evidence of non-responders in a subpopulation of treated patients. *Thromb Res* 1991; 63: 587-93.
66. Grundmann K, Jaschonek K, Kleine B, Dichgans J, Topka H. Aspirin non-responder status in patients with recurrent cerebral ischemic attacks. *J Neurol* 2003; 250: 63-6.
67. Grottemeyer KH, Scharafinski HW, Husstedt IW. Two-year follow-up of aspirin responder and aspirin non-responder. A pilot-study including 180 post-stroke patients. *Thromb Res* 1993; 71: 397-403.
68. 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.
69. Grundmann K, Jaschonek K, Kleine B, Dichgans J, Topka H. Aspirin non-responder status in patients with recurrent cerebral ischemic attacks. *J Neurol* 2003; 250: 63-6.
70. 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.
71. 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.
72. Muller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schonig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost* 2003; 89: 783-7.
73. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Barrera Ramirez C, Sabate M, Fernandez C, et al. Platelet aggregation according to body mass index in patients undergoing coronary stenting: should clopidogrel loading-dose be weight adjusted? *Am J Cardiol* 2004; 93: 456-8.
74. Mobley JE, Bresee SJ, Wortham DC, Craft RM, Snider CC, Carroll RC. Frequency of nonresponse antiplatelet activity of clopidogrel during pretreatment for cardiac catheterization. *J Invasive Cardiol* 2004; 16: 169-74.
75. 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.
76. Muller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schonig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost* 2003; 89: 783-7.
77. Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, Shechter M, Bienart R, Goldenberg I, et al. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004; 109: 3171-5.
78. Wiviott SD, Antman EM, Winters KJ, Weerakkody G, Murphy SA, Behounek BD, et al.; JUMBO-TIMI 26 Investigators. Randomized comparison of prasugrel (CS-747, LY640315), a novel thienopyridine P2Y12 antagonist, with clopidogrel in percutaneous coronary intervention: results of the Joint Utilization of Medications to Block Platelets Optimally (JUMBO)-TIMI 26 trial. *Circulation* 2005; 111: 3366-73.