

**UNIWERSYTET MEDYCZNY
IM. KAROLA MARCINKOWSKIEGO
W POZNANIU**

Justyna Wachowiak

**SKUTECZNOŚĆ ZAPOBIEGANIA AKTYWACJI
PŁYTEK KRWI TOWARZYSZĄCEJ
ANGIOPLASTYCE WIĘNCOWEJ**

Praca doktorska

Promotor: prof. dr hab. med. Krystyna Zawilska

**Pracę wykonano w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej
i Mikrobiologicznej Szpitala Wojewódzkiego w Poznaniu**

Poznań, 2012

**Serdecznie dziękuję
p. dr W. Pawłowskiemu
i p. dr R. Kąsinowskiemu
za okazaną pomoc
w trakcie powstawania
niniejszej pracy**

Objaśnienia skrótów:

AA – (ang. arachidonic acid), kwas arachidonowy

ADP – (ang. adenosine diphosphate), adenozy-5'-difosforan,

ADP-aza – enzym rozkładający ADP, CD39

ADVIA 120 – aparat hematologiczny firmy SIEMENS

AHA – (ang. American Heart Association), Amerykańskie Towarzystwo Kardiologiczne

ALX - (ang. Aspirin-Triggered Lipoxins), produkt powstały po metabolizowaniu przez lipoksygenazę 15 epipochodnych kwasu arachidonowego

AMP – (ang. adenosine monophosphate), adenozy-5'-monofosforan,

AP1 - (ang. activator protein 1), kompleks białkowy działający jako czynnik transkrypcyjny pod wpływem działania czynników wzrostu, cytokin, neuromediatorów w odpowiedzi na wirusy, bakterie i czynniki stresowe

ARU – (ang. aspirin reaction unit), jednostki odpowiedzi płytek krwi na aspirynę w szybkim teście funkcji płytek RPFA

ASA - (ang. acetylsalicylic acid), kwas acetylosalicylowy,

ATP – (ang. adenosine triphosphate), adenylotrifosforan

A842G i C50T – nukleotydy występujące w COX-1, których polimorfizmy mogą upośledzać wiązanie ASA z Ser529 w COX-1,

IaIIa – glikoproteina będąca głównym receptorem dla kolagenu na powierzchni płytek krwi

Va – aktywna forma V czynnika krzepnięcia

VIIIa – aktywna forma VIII czynnika krzepnięcia

3A4 - izoenzym cytochromu P450

BCT – (ang. Behring Coagulation Timer), aparat koagulologiczny

BENESTENT – (ang. Belgian-Netherlands STENT Study), duże randomizowane badanie przeprowadzone na pacjentach, którym implantowano stenty do małych naczyń wieńcowych

BMS – (ang. bare metal stent), stenty metalowe

β-adrenolityki - inaczej β-blokery, leki β-sympatykolityczne;

β-tromboglobulina – cytokina, zasadowe białko występujące w płytkach krwi o działaniu antyheparynowym

Ib – glikoproteina będąca głównym składnikiem płytkowego receptora dla czynnika von Willebranda

c - stężenie

CABG – (ang. Coronary Artery Bypass Graft) – operacja kardiologiczna wszczepienia pomostów naczyniowych (tzw. by-passów) omijających miejsce zwężenia w tętnicy wieńcowej

CADP – (ang. collagen/ADP), kasetka z błoną pokrytą kolagenem i ADP, będąca wyposażeniem aparatu PFA-100

cAMP – (ang. cyclic AMP), cykliczny AMP;

CD - (ang. cluster of differentiation), antygen różnicowania komórkowego,

CD39 – enzym ADP-aza, inaczej zwany ENTPD1 (ang. ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1)

CD 40 – białko występujące na komórkach prezentujących antygen

CD40L – (ang. CD40 ligand), cytokina z rodziny TNF, zwana też CD154, łączy się CD40

CD41 - glikoproteina IIb znajdująca się w receptorze płytek krwi dla fibrynogenu IIb/IIIa

CD62P - selektyna P

CD106 – inaczej VCAM-1, molekula adhezyjna, bierze udział w adhezji limfocytów, monocytów, eozynofili i bazofili do śródbłonna

C/EBPβ - (ang. CCAAT/enhancer binding protein beta), białko pełniące funkcję czynnika transkrypcyjnego,

CEPI – (ang. collagen/epinephrine), kasetka z błoną pokrytą kolagenem i epinefryną, będąca wyposażeniem aparatu PFA-100

ChNS- choroba niedokrwienna serca

CKMB - izoenzymu MB kinazy kreatynowej

COX– (ang. cyclooxygenase), inna nazwa – PTGS (ang. prostaglandin-endoperoxide synthase), enzym odpowiedzialny za powstawanie prostanoidów (prostaglandyny, prostacykliny, tromboksan) z kwasu arachidonowego;

COX – 1 – jeden z trzech izoenzymów COX, inne nazwy to: PGHS1 - (ang. prostaglandin G/H synthase 1,), syntetaza 1 prostaglandyny G/H, syntetaza 1 prostaglandynyendoperoxide (prostaglandin-endoperoxide synthase 1),

COX – 2 - jeden z trzech izoenzymów COX, inna nazwa to PGHS2 - (ang. prostaglandin G/H synthase 2),

CREDO (ang. Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation), badanie w którym pacjentom poddawanym angioplastyce podawano na więcej niż 6 godzin przed zabiegiem 300 mg kłopidogrelu

CRP – (ang. C reactive protein), białko C-reaktywne,

CYP 3A4 – enzym będący częścią cytochromu P450

C50T i A842G– nukleotydy występujące w COX-1; ich polimorfizmy mogą upośledzać wiązanie ASA z Ser529 w COX-1,

2C19 - izoenzym cytochromu P450

DES – (ang. drug eluting stent), stenty uwalniające lek antyproliferacyjny

dl - decylitr

2D-PLT - dwuwymiarowa analiza płytki krwi przy pomocy pomiaru sygnałów świetlnych otrzymywanych na poziomie nisko i wysokokątowym

EDTA – (ang. ethylenediaminetetraacetate), kwas etylenodiaminotetraoctowy, kwas wersenowy, komplekson II;

ELISA - (ang. enzyme-linked immunosorbent assay), test immunoenzymatyczny lub immunoenzymosorbcyjny;

EUROPA – (ang. European trial on reduction of cardiac events with perindopril in stable coronary artery disease), badanie, w którym porównywano efekty działania peryndoprylu w dawce 8 mg/d z placebo u pacjentów ze stabilną chorobą niedokrwienną serca bez objawowej niewydolności

FDA – (ang. Food and Drug Administration), inaczej USFDA, Agencja ds. Żywności i Leków, amerykańska agencja rządowa

FGF – (ang. fibroblast growth factor), czynnik wzrostu fibroblastów

FITC - izotiocyjanian fluoresceiny

fL – femtolitr, mikrometr sześcienny, 10^{-15} L

g – gram

GP – glikoproteina

GPIb - glikoproteina Ib, płytkowy recetor dla vWF

GPVI - glikoproteina VI, płytkowy recetor dla kolagenu

GPIIb/IIIa - glikoproteina IIb/IIIa , płytkowy recetor dla fibrynogenu

GRAVITAS – randomizowane, wielośrodkowe badanie z podwójnie ślepą próbą przeprowadzone na pacjentach ze stwierdzoną wysoką rezydualną reaktywnością płytek krwi,

poddanych PCI z implantacją DES-ów, oceniające różnice w skuteczności dawki standardowej i wysokiej kłopidogrelu

h - godzina

HOPE - (ang. Heart Outcomes Prevention Evaluation Study), badanie, w którym osobom po 55 roku życia, z dużym ryzykiem sercowo-naczyniowym podawano ramipryl w dawce 10 mg/d oraz placebo.

ICAM-1 – (ang. Inter-cellular adhesion molecule 1), inaczej CD54,

IHD – (ang. ischaemic heart disease), choroba niedokrwienna serca

IL1 – interleukina 1, zbiorcza nazwa cytokin o kluczowym znaczeniu dla procesu zapalnego i o szerokim spektrum działania

IL 1 β – jeden z 10 wariantów IL1

IL-6 - interleukina 6,

IL-8 - interleukina 8,

ISAR-REACT (ang. Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen-Rapid Early Action for Coronary Treatment), badanie, w którym krótko przed zabiegiem implantacji stentów podawano pacjentom 600 mg dawki nasycającej kłopidogrelu

8-izo-PGF_{2a} – izoprostan, specyficzny i ilościowy marker stresu tlenowego

j.m. – jednostka międzynarodowa; wyraża aktywność heparyny;

1 jm = 1/130 mg międzynarodowego standardu heparyny

K - kobiety

kg – kilogram

L – litr

LDL – (ang. Low Density Lipoprotein), lipoproteina niskiej gęstości,

LTA – (ang. light transmission aggregometry), agregometria opierająca się na pomiarze intensywności światła przechodzącego przez zawiesinę płytek krwi

M – mężczyźni

m.c. – masa ciała

MCP-1 - (ang. monocyte chemotactic protein-1), zwana też chemokine (C-C modif) ligand 2 (CCL2); mała cytokina zaliczana do rodziny CC chemokin,

M-CSF – (ang. macrophage colony-stimulating factor), czynnik wzrostowy dla makrofagów,

MEA – (ang. multiple electrode platelet aggregometry), metoda badania agregacji płytek krwi przy użyciu elektrod; wykonywana na aparacie Multiplate

MFI – (ang. mean fluorescence intensity), średnia intensywność fluorescencji

mg– miligram

MIC – (łac. morbus ischaemicus cordis),choroba niedokrwienna serca

min – minuta

MIP – (ang. macrophage inflammatory proteins), chemokina należąca do rodziny cytokin chemotaktycznych,

MIP-1 α – jedna z głównych (obok MIP-1 β) form MIP, zwana też CCL3

ml – mililitr

MMP – (ang. matrix metalloproteinase), metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej,

MP - odłączane fragmenty błony komórkowej przez zaktywowane komórki eukariotyczne w postaci mikrocząstek; w teście ZYMUPHEN MP-Activity skrót ten oznacza mikrocząstki o właściwościach prozakrzepowych

MPC (ang. mean platelet component concentration), średnia gęstość płytek krwi
MPM – (ang. mean platelet mass), średnia masa płytek krwi
MPV (ang. mean platelet volume), średnia objętość płytek krwi
mTOR – (ang. mammalian target of rapamycin kinase), tzw. ssaczy cel działania rapamycyny, inna nazwa - FKBP12 (ang. rapamycin complex associated protein1, FRAP1), kinaza białkowa treoninowo-serynowa;.
MV - odłączane fragmenty błony komórkowej przez zaktywowane komórki eukariotyczne w postaci mikropęcherzyków
μM, μmol – mikromol

NFκB – (ang. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells), kompleks białkowy działający jako czynnik transkrypcyjny,
NFκB/Rel – jedna z cząsteczek tworzących NFκB.
NIR – stent uwalniający paklitaksel
NLPZ - niesteroidowe leki przeciwzapalne
nM – nanomol, 10^{-9} mola
nm – nanometr, 10^{-9} metra
NO – tlenek azotu

OASIS 7 – randomizowane badanie z podwójnie ślepą próbą porównujące skuteczność wysokiej dawki kłopidogrelu ze standardową u pacjentów z zawałem serca lub niestabilną dusznicą bolesną

OZW – ostry zespół wieńcowy

p - poziom istotności (poziom-p)

PAI -1 – (ang. plasminogen activator inhibitor-1), główny inhibitor tkankowego aktywatora plazminogenu (tPA) i urokinazy (uPA),

PCI – (ang. percutaneous coronary interventions), przezskórne interwencje wieńcowe,

PDGF – (ang. platelet-derived growth factor), płytkowy czynnik wzrostu,

PE - fikoerytryna izotiocyanianem fluoresceiny (FITC)

PFA 100 – (ang. platelet function analyser), aparat do oceny adhezji i agregacji płytek krwi

PF4 - (ang. platelet factor 4), czynnik płytkowy 4,

pg – pikogram, 10^{-12} g

PGE₁- prostaglandyna E₁

PGF_{2a} – prostaglandyna F_{2a}

PGH₂ - prostaglandyna H₂

PGI₂ – prostaglandyna I₂

PLT – (ang. platelets, platelet count), skrót używany w analizatorach hematologicznych oznaczający stężenie płytek krwi w danej objętości krwi

PMP - mikrocząstki pochodzenia płytkowego

PMV - mikropęcherzyki pochodzenia płytkowego

PPI – (ang. proton pump inhibitor), inhibitory pompy protonowej

PPP – (ang. platelet-poor plasma), osocze ubogopłytkowe

PRI VASP – (ang. platelet reactivity indeks vasodilator-stimulated phosphoprotein), indeks reaktywności płytek krwi, wartość uzyskiwana podczas wykonywania testu oceny fosforylacji białka VASP

PRP – (ang. platelet-rich plasma), osocze bogatopłytkowe

PSGL-1 – (ang. selectin P ligand - 1, SELPLG), zwana też CD162, molekula adhezyjna, glikoproteina występująca na leukocytach i komórkach śródbłonna, łączy się z P-selektyną występującą na płytkach krwi

PTCA – (ang. percutaneous transluminal coronary angioplasty), przezskórna angioplastyka wieńcowa,

PTK – Polskie Towarzystwo Kardiologiczne

P1A2 – allel (polimorfizm receptora płytkowego IIb/IIIa) obecny u 20-25% osób rasy białej; wiąże się z upośledzonym działaniem przeciwzkrzepowym ASA in vivo, a także ze skróconym czasem krwawienia i zwiększoną produkcją trombinę

P2T - wcześniejsza nazwa P2Y₁₂

P2Y – rodzina receptorów purynowych obecnych na prawie wszystkich ludzkich tkankach

P2Y_{AC} – wcześniejsza nazwa P2Y₁

P2Y₁ - chemoreceptor przyłączający ADP, należący do rodziny receptorów purynowych P2Y,

P2Y₁₂ – chemoreceptor przyłączający ADP, należący do rodziny receptorów purynowych P2Y ulegający blokadzie przez tienopirydyny

r – współczynnik korelacji,

RANTES – (ang. regulated on activation normal T-cell expressed and secreted), chemokina β syntetyzowana przez limfocyty T;

RAVEL – (ang. Randomized Study with the Sirolimus-eluting Bx Velocity Balloon Expandable Stent), badanie, w którym w grupie ze stentem uwalniającym sirolimus wykazano zdumiewającą, zerową częstość występowania restenozy oraz całkowite zahamowanie hiperplazji nowej błony wewnętrznej w ocenie angiograficznej, co doprowadziło do rejestracji tego stentu do stosowania w Europie

REALITY - (ang. Prospective Randomized, Multi-Center Comparison of the Cypher Sirolimus-Eluting and the Taxus Paclitaxel-Eluting Stent Systems) - badanie, w którym porównano stenty uwalniające sirolimus i paklitaksel

RPFA – (ang. rapid platelet-function assay), szybki test funkcji płytek firmy Ultegra

RPR – (ang. residual platelet reactivity), przetrwała reaktywność płytek krwi

RZS – reumatoidalne zapalenie stawów

s – sekunda

sCD40L – (ang. soluble CD40 ligand), rozpuszczalny ligand dla CD40,

SD – (ang. standard deviation), odchylenie standardowe,

Selektyna P – (płytkowa), CD62P, występuje w ziarnistościach alfa płytek krwi oraz w ciałkach Weibela-Pallade'a komórek śródbłonna

S1P – (ang. sphingosine-1-phosphate), sygnałowa sfizozyna,

Ser529 – miejsce wiązania ASA w COX-1

Ser 530 – chelatuje polarne lub ujemnie naładowane grupy w kwasie arachidonowym i aspirynie

SIRIUS - (ang. Sirolimus Eluting Stent in de Novo Coronary Lesions), randomizowane badanie z podwójnie ślepą próbą, w którym uczestniczyło 1055 pacjentów; jego wyniki doprowadziły do zaakceptowania stentu uwalniającego sirolimus przez FDA w USA w 2003

STRESS – (ang. Stent Restenosis Study), badanie, w którym 407 pacjentów z ChNS poddano klasycznemu PTCA lub wszczępieniu stentu Palmaz-Schatz'a

TAXUS - (ang. Randomized, Double-Blind Trial of a Slow-Release Paklitaksel-Eluting Stent for de Novo Coronary Lesions), seria badań przeprowadzona nad stentami uwalniającymi paklitaksel

TF – (ang. tissue factor), czynnik tkankowy, zwany też płytkowym czynnikiem tkankowym, czynnikiem III, trombokinazą, CD142;

TGF- β – (ang. transforming growth factor beta), transformujący czynnik wzrostu- β ,

TIMI – (ang. thrombolysis in myocardial infarction), skala służąca do oceny przepływu krwi przez tętnice wieńcowe,

Tn - troponina

TNF – (ang. tumor necrosis factor), czynnik martwicy guza, czynnik nekrozy nowotworów, dawniej kachektyna lub kacheksyna;

TNF- α – cytokina z grupy TNF, produkowana głównie przez aktywne monocyty i makrofagi oraz w znacznie mniejszych ilościach przez inne tkanki (adipocyty, keratynocyty, fibroblasty, neutrofile, mastocyty oraz niektóre limfocyty)

TRILOGY ACS – (ang. Targeted Platelet Inhibition to Clarify the Optimal Strategy to Medically Manage Acute Coronary Syndromes), badanie porównujące efektywność i bezpieczeństwo prasugrelu z kłopidogrelem u pacjentów leczonych z powodu ostrego stanu wieńcowego

TRITON-TIMI – (ang. The Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition with Prasugrel – Thrombolysis In Myocardial Infarction), badanie przeprowadzone na pacjentach z ostrym zespołem wieńcowym, poddanych PCI, a następnie leczonych prasugrelem lub kłopidogrelem

Tx – (ang. thromboxane), tromboksan,

TxA₂ – (ang. thromboxane A₂), tromboksan A₂,

TxB₂ – (ang. thromboxane B₂), tromboksan B₂,

U – jednostka międzynarodowa

uPAR – (ang. urokinase plasminogen activator surface receptor), receptor dla urokinazy, znany też jako uPA, Mo3 (ang. monocyte activation antigen) lub CD87

VASP – (ang. vasodilator-stimulated phosphoprotein), fosfoproteina stymulowana przez związki rozszerzające naczynia, wewnątrzplótkowe białko ulegające defosforylacji pod wpływem kłopidogrelu

VCAM-1 – (ang. vascular cell adhesion protein 1, vascular cell adhesion molecule 1), inaczej CD106;

vWF – (ang. Von Willebrand factor), czynnik von Willebranda

WZ – współczynnik zmienności.

1. Wprowadzenie

1.1. Charakterystyka choroby niedokrwiennej serca

Choroba niedokrwienne serca – (ChNS) to zespół objawów chorobowych będących następstwem przewlekłego stanu niedostatecznego zaopatrzenia komórek mięśnia sercowego w tlen i substancje odżywcze. Pierwsze opisy choroby pochodzą ze starożytności i znalazły się w papirusie Ebersa, jednak objawy te łączono z dolegliwościami żołądka. Dokładny opis objawów tej choroby zawdzięczamy Hipokratesowi. Zaburzenie równowagi pomiędzy zapotrzebowaniem a możliwością ich dostarczenia, pomimo wykorzystania mechanizmów autoregulacyjnych zwiększających przepływ przez mięsień sercowy, zwanych rezerwą wieńcową doprowadza do niedotlenienia zwanego również niewydolnością wieńcową. W konsekwencji często powoduje dusznicę bolesną, a także zawał mięśnia sercowego.

W badaniach POL-MONICA określono czynniki ryzyka wystąpienia i progresji choroby niedokrwiennej serca:

- a) czynniki socjalne: poziom wykształcenia, rodzaj zatrudnienia (stanowisko, typ pracy, aktywność fizyczna w pracy, stres związany z pracą), dochód, stan cywilny, struktura gospodarstwa domowego, poziom wsparcia socjalnego oraz zadowolenie z kontaktów społecznych
- b) czynniki behawioralne: osobowość typu A, palenie papierosów, spożywanie alkoholu, sposób i rodzaj odżywiania, poziom aktywności fizycznej, zaburzenia snu
- c) somatyczne: nadciśnienie tętnicze, hipercholesterolemia, otyłość brzuszna, cukrzyca.

Polskie Towarzystwo Kardiologiczne (PTK), za najważniejsze czynniki ryzyka uważa: styl życia, palenie papierosów, dietę obfitującą w kalorie i tłuszcze zwierzęce, czynniki fizjologiczne i biochemiczne, podwyższone stężenie cholesterolu, zwłaszcza LDL, podwyższone stężenie trójglicerydów, hiperglikemia lub cukrzyca, zwiększone stężenie homocysteiny, zwiększone stężenie czynników prozakrzepowych, np. fibrynogenu.

Styl życia i czynniki biochemiczne uważane są za czynniki modyfikowalne. Za czynniki nie poddające się modyfikacji PTK uważa: wiek powyżej 45 lat u mężczyzn i 55 lat u kobiet przedwczesną menopauzę, chorobę innych tętnic (kończyn dolnych, mózgu) na tle miażdżycowym.

ChNS ze wszystkimi jej podtypami jest najczęstszą przyczyną śmierci w większości państw Europy zachodniej¹. Dla Polski częstość zachorowania wynosi średnio 620 przypadków na 100 tysięcy dla mężczyzn i 220 przypadków na 100 tysięcy u kobiet.

W ponad 90% przypadków odpowiedzialna za chorobę jest miażdżyca tętnic wieńcowych (blaszka miażdżycowa), doprowadzająca do ich zwężenia i tym samym upośledzenia przepływu wieńcowego. W pozostałych 10% przypadków za mechanizm niedokrwienia odpowiedzialne są inne (pozawieńcowe) mechanizmy: niedokrwistość, hipotonia lub hipowolemia, niewydolność oddechowa, nadczynność tarczycy, wady serca (zwłaszcza zwężenie zastawki aortalnej), kardiomiopatie (zwłaszcza przerostowa), nadciśnienie tętnicze, rzadkie choroby naczyń wieńcowych, dławica Prinzmetala, zaprzestanie przyjmowania azotanów.

W odpowiedzi na chwilowe, trwające kilka minut, niedokrwienie i następny powrót krążenia (reperfuzja) dochodzi do zjawiska ischaemic preconditioning czyli hartowania mięśnia przez niedokrwienie, które polega na utrzymywaniu się przez 1–2 godziny po incydencie niedokrwienia zwiększonej tolerancji na ewentualne kolejne niedokrwienie. Uważane jest ono obecnie za najskuteczniejszy mechanizm obronny serca przed skutkami niedokrwienia. Niestety ten mechanizm jest wydolny w przypadku niedokrwienia krótkotrwałego. W przypadkach długiego (kilkanaście minut) utrzymywania się niedokrwienia dochodzi do rozwoju tak zwanego ogłuszenia mięśnia sercowego (stunned myocardium), czyli zjawiska upośledzenia czynności mechanicznej serca trwającego nawet kilka tygodni. Ten mechanizm funkcjonuje głównie w odpowiedzi na ostre niedokrwienie. W przypadkach przewlekłego niedokrwienia pojawia się natomiast stan zwany hibernacją mięśnia sercowego (hibernating myocardium), który jest potencjalnie odwracalny po reperfuzji, ale w jego przebiegu pojawiają się zaburzenia takie jak dyskineza, hipokineza lub akineza niedokrwionego segmentu mięśnia sercowego. Niedokrwienie trwające dłużej niż 20 minut doprowadza do rozwoju martwicy znanej jako zawał mięśnia sercowego.

Zawał mięśnia sercowego jest często spowodowany zamknięciem tętnic wieńcowych skrzepliną powstającą w miejscu uszkodzenia ciągłości śródbłonna naczyniowego, jak to ma miejsce przy pęknięciu lub erozji blaszki miażdżycowej.

1.2. Interakcje ściany naczyń z komórkami krwi sprzyjające powstaniu i rozwojowi ChNS

Odsłonięcie warstwy podśródbłonkowej naczynia, np. kolagenu, albo uwolnienie czynnika von Willebranda (vWF) z uszkodzonego naczynia prowadzi niemal natychmiast do aktywacji płytek krwi. Zaczyna się ona od przejściowej adhezji płytek z udziałem płytkowej glikoproteiny Ib (GPIb, łączącej się z vWF) i glikoproteiny VI (GPVI, łączącej się z kolagenem), a potem trwałej adhezji płytek z udziałem płytkowego receptora dla fibrynogenu (GPIIb/IIIa)^{2,3}. Ta interakcja prowadzi do rekrutacji kolejnych płytek przez mostki fibrynogenu i w końcu do lawinowego procesu obejmującego też inne elementy morfotyczne krwi oraz w pełni zaktywowaną kaskadę krzepnięcia.

Aktywność płytek krwi jest podwyższona w zakrzepicy na podłożu miażdżycowym i to bez względu na to, czy blaszka miażdżycowa rozwija się w naczyniach wieńcowych, mózgowych, czy w innych miejscach⁴. Nadmierna aktywacja płytek krwi jest szczególnie zaznaczona w cukrzycy, a świadczą o tym choćby podwyższone stężenia wyznaczników aktywności płytek w osoczu, takich jak na przykład tromboksan B₂ (TXB₂), rozpuszczalny ligand dla CD40 (CD40L), β-tromboglobulina czy czynnik tkankowy 4 (PF4)⁵⁻⁷. Płytki krwi nie przylegają do nieuszkodzonego śródbłonna, jeżeli nie jest on uprzednio aktywowany przez bodźce zapalne. Zdrowy śródbłonek nie uwalnia bowiem tak łatwo selektyny P oraz vWF i wytwarza co najmniej trzy ważne przekazywniki, które powstrzymują aktywację krążących płytek krwi: PGI₂, NO i CD39 (ADP-aza). Najważniejsza z nich jest PGI₂, której przeciwplatekcyjne działanie wspomagają NO i adenozyzna (wytwarzana przez ADP-azę z ATP lub ADP). W przypadku aktywacji śródbłonna na tle zapalnym dochodzi do adhezji płytek do śródbłonna, co wywołuje ich aktywację, a następnie zaktywowane płytki zwrótnie podtrzymują aktywację śródbłonna. Płytki krwi posiada bogactwo przekazywników prozapalnych. Gdy jest aktywowana, uwalnia lub czynna na swojej powierzchni białka,

które są kluczowe dla interakcji międzykomórkowych (fibrynogen, fibronektyna, trombospondyna, witronektyna, selektyna P, glikoproteina IIb/IIIa), uwalnia czynniki wzrostowe (PDGF, TGF- β , FGF), chemokiny (RANTES, czynnik płytkowy 4, MIP-1 α), cytokiny (IL-1 β , CD40L, β -tromboglobulina) oraz czynniki prozakrzepowe (czynnik V, PAI)⁸. Główną cytokiną uwalnianą przez płytki krwi, która nasila aktywację śródbłonna, jest interleukina 1 β (IL-1 β). Jej uwolnienie jest ściśle związane z adhezją płytek do śródbłonna. IL-1 β uruchamia wytwarzanie dwóch ważnych cytokin zapalnych przez śródbłonek (IL-6, i IL-8)⁹ oraz głównej chemokiny odpowiedzialnej za migrację monocytów przez ścianę naczyniową (MCP-1)¹⁰. Aktywacja śródbłonna przez płytkową IL-1 β aktywuje też inne szlaki odpowiedzi zapalnej śródbłonna zależne od czynnika transkrypcyjnego NF-kB, w tym ekspresję śródbłonkowych cząsteczek adhezyjnych, takich jak np. ICAM-1^{11,12}. Stała adhezja płytek do śródbłonna zależy od płytkowych receptorów dla fibrynogenu (GPIIb/IIIa) prowadzi z kolei do uwolnienia rozpuszczalnego ligandu dla CD40 (CD40L), który po połączeniu z receptorem CD40 obecnym na śródbłonku jest potężnym i ważnym aktywatorem dalszej odpowiedzi zapalnej śródbłonna^{13,14}. Dzieje się tak dlatego, że interakcja ligandu CD40L z receptorem CD40 z jednej strony aktywuje uwolnienie IL-8 i MCP-1 ze śródbłonna – podstawowych przekaźników neutrofilów i monocytów, a z drugiej zwiększa ekspresję różnych cząsteczek adhezyjnych śródbłonna, takich jak selektyna E, ICAM-1 czy VCAM-1, umożliwiających interakcję ze śródbłonkiem nie tylko monocytów, ale również neutrofilów i limfocytów⁸. Połączenie ligandu CD40 (CD40L) z receptorem CD40 prowadzi również do ekspresji czynnika tkankowego (TF)¹⁵ i metaloproteinaz macierzy pozakomórkowej (MMP) przez śródbłonek¹³, przez co może prowadzić do dalszej aktywacji procesów zakrzepowych i przebudowy ściany naczynia, w tym destrukcji błony elastynowej pod śródbłonkiem, nieodłącznie towarzyszącej migracji monocytów do warstwy podśródbłonkowej ściany naczynia. W analogiczny sposób zaktywowane płytki mogą uruchamiać procesy proteolityczne w blaszce miażdżycowej i przyczyniać się do rozwoju niestabilności tej blaszki^{16,17}. Płytki krwi wpływa też na adhezję leukocytów do śródbłonna. W krążeniu tętnicznym przy wysokich wartościach sił ścinających mechanizmy adhezji leukocytów do śródbłonna zachodzą za pośrednictwem przyczepionych do śródbłonna płytek krwi¹⁵. Uwalniana z płytek chemokina RANTES przyłącza się do aktywowanego zapalnie śródbłonna (ale do nieaktywowanego już nie)¹⁸ i przyciąga monocyty, które łączą się z płytkami za pomocą selektyny P¹⁹. Interakcja płytkowej selektyny P z jej receptorem na błonie monocytów (PSGL-1) wyzwala również odpowiedź zapalną monocytów obejmującą produkcję cytokin (IL-8, TNF- α), chemokin dla monocytów (MCP-1, MIP-1 α)^{8,20-23} oraz stymulację mechanizmów zakrzepowych (TF) i proteolitycznych (MMP, uPAR) monocytów⁸.

Płytki krwi odgrywają więc kluczową rolę w regulacji nasilenia zapalenia śródbłonna a także uruchamianiu i podsycaniu procesów zakrzepowych. Zahamowanie przylegania płytek krwi do śródbłonna przez zablokowanie aktywności płytkowej GPIb lub GPIIb/IIIa wstrzymuje odpowiedź zapalną śródbłonna, zmniejsza kumulację komórek zapalnych w błonie wewnętrznej ściany naczyniowej i przeciwdziała rozwojowi blaszki miażdżycowej^{24,25}. Wyłączenie aktywności płytkowej chemokiny RANTES wstrzymuje migrację leukocytów i rozwój miażdżycy^{19,26}. Wyłączenie odpowiedzi zapalnej śródbłonna i zahamowanie rozwoju miażdżycy przynosi również unieczynnienie uwalnianych z płytek krwi aktywatorów odpowiedzi zapalnej śródbłonna, takich jak IL-1 β czy CD40L^{27,28}. Zatem zablokowanie któregośkolwiek z omawianych powyżej mechanizmów płytkowych ma działanie przeciwmiażdżycowe, a co za tym idzie prewencyjne w odniesieniu do zawału mięśnia sercowego.

1.3. Leczenie choroby niedokrwiennej serca

1.3.1. Farmakoterapia

Leczenie ChNS, mające na celu poprawę jakości życia pacjenta (zmniejszenie liczby i ilości napadów niedokrwienia) oraz prewencję wystąpienia zawału mięśnia sercowego polega przede wszystkim na stosowaniu leków przeciwplatek: kwasu acetylosalicylowego (stosowany w dawce 75–150 mg na dobę do końca życia), tiklopidyny (nie powinna być aktualnie stosowana z uwagi na ryzyko neutropenii), kłopidogrelu (powinien być stosowany w wybranych sytuacjach). Poza tym farmakoterapię w ChNS stanowią:

- a) leki hipolipemizujące: rozuwastatyna (wykazuje najsilniejsze działanie spowalniające progresję miażdżycy), atorwastatyna, prawastatyna, simwastatyna, lowastatyna
- b) β -adrenolityki (skuteczne zwłaszcza w przypadkach leczenia choroby niedokrwiennej serca u osób po zawale mięśnia sercowego, gdyż w tej grupie redukują śmiertelność o 30%). Zalecane jest stosowanie beta-blokera kardioselektywnego, bez własnej aktywności wewnętrznej, czyli: bisoprololu, atenololu, metoprololu lub karwedilolu
- c) antagoniści kanału wapniowego (mogą być stosowane jedynie te, które zwalniają częstość akcji serca, czyli leki podobne do werapamilu)
- d) inhibitory konwertazy angiotensyny (na przykład perindopril, lizynopril - powinny być zastosowane w przypadku współistnienia nadciśnienia tętniczego lub objawów niewydolności krążenia. Muszą być też bezwzględnie stosowane u osób z chorobą niedokrwinną serca po zawale mięśnia sercowego, gdyż jak wykazały liczne badania (HOPE, EUROPA) wiąże się to ze zmniejszeniem śmiertelności u osób je stosujących.
- e) nitraty (pochodne nitrogliceryny) krótko i długodziałające
- f) trimetazydyna (lek o działaniu metabolicznym, cytoprotekcyjnym). Działa przez poprawę wykorzystania energii w warunkach niedokrwienia czyli niejako imituje zjawisko hartowania przez niedokrwienie.

1.3.2. Leczenie inwazyjne

Pacjentów z ChNS oprócz farmakoterapii poddaje się koronarografii (angiografii tętnic wieńcowych). Badanie to w panelu badań diagnostycznych stanowi standard, do którego odnosi się wyniki badań nieinwazyjnych. Polega na podaniu do tętnic wieńcowych kontrastu, umożliwiającego uwidocznienie ich za pomocą promieniowania rentgenowskiego. Umożliwia to stwierdzenie obecności lub braku istotnych przewężeń w tętnicach wieńcowych. W zależności od uzyskanego obrazu pacjentów kieruje się do leczenia zachowawczego lub poddaje leczeniu inwazyjnemu:

- a) przezskórnej wewnątrznaczyniowej plastyce wieńcowej (PTCA)
- b) zabiegowi wszczepienia pomostów aortalno-wieńcowych (CABG)

Koronarografia jest badaniem inwazyjnym i niesie ze sobą ryzyko wystąpienia szeregu powikłań. Można je podzielić na związane z układem krążenia, miejscowe (dotyczące miejsca wprowadzania cewnika do tętnicy) oraz wynikające z podawania kontrastu. Wśród wyżej wymienionych mających związek z hemostazą wymienić należy: incydenty zatorowe (powikłania krążeniowe i miejscowe), krwihak lub zakrzep w miejscu wkłucia do tętnicy i wewnątrz cewnika oraz wstrząs anafilaktyczny aktywujący układ krzepnięcia jako reakcja alergiczna na kontrast. Wszystkie powikłania miejscowe, podobnie jak reakcje uczuleniowe dotyczą w przybliżeniu 1% przypadków.

1.3.2.1. Implantacja stentu – historia, rozwój, powikłania

Leczenie inwazyjne ChNS to głównie zabiegi angioplastyki wieńcowej, z których 80% przebiega w Polsce z implantacją stentu (dane Polskiego Towarzystwa Kardiologicznego).

Cewnik zakończony niewielkim balonem, na który nałożony jest stent, wprowadza się do tętnicy wieńcowej poprzez nakłucie tętnicy biodrowej, ramiennej lub promieniowej. Balonik ten, poza utrzymaniem stentu, umożliwia jednocześnie udrożnienie tętnicy, zgniatając blaszkę miażdżycową zwążającą jej światło. Cały proces trwa około 30 minut. Zabieg wykonuje się w pracowni radiologicznej, monitorując na bieżąco położenie stentu w naczyniu wieńcowym. Gdy stent zostanie już wprowadzony do docelowego fragmentu tętnicy rozpręża się balon wprowadzając do niego płyn izotoniczny. Następnie usuwa się cewnik pozostawiając sam stent.

Historia przezskórnego wprowadzania protez w celu utrzymania drożności zmienionego chorobowo naczynia rozpoczęła się w 1964 r., kiedy to Dotter i Judkins zaproponowali takie rozwiązanie²⁹, czyli na długo przed wprowadzeniem angioplastyki wieńcowej przez Grüntziga i wsp. W 1977 r.³⁰. W roku 1985 Palmaz i wsp. zastosowali w tętnicach obwodowych stenty rozprężane balonem (takie, jakie stosuje się obecnie w tętnicach wieńcowych)³¹. Schatz i wsp zmodyfikowali później stent Palmaza, co doprowadziło do opracowania pierwszego stentu, który odniósł komercyjny sukces, stentu Palmaza-Schatza³². Paul i Sigwart jako pierwsi implantowali stent do tętnicy wieńcowej człowieka w marcu 1986 r. Zastosowali wówczas stent samorozprężalny z siatki. Sigwart i wsp. również jako pierwsi (w 1987 r) opisali zastosowanie tego stentu w trybie nagłym w zamknięciu naczynia podczas angioplastyki balonowej³³. Podstawę teoretyczną stanowiła możliwość wykorzystania go jako rusztowania uniemożliwiającego zapadanie się błony wewnętrznej i środkowej, a zatem utrzymującego średnicę światła naczynia i chroniącego przed wystąpieniem zjawiska elastycznego obkurczania się jego ściany³⁴. Wczesne badania obserwacyjne zwróciły uwagę na problemy związane ze stosowaniem stentów, a zwłaszcza dużą częstość podostrego zamknięcia naczynia mimo agresywnego leczenia przeciwkrzepliwego, wydłużającego pobyt w szpitalu i wiążącego się z powikłaniami krwotocznymi, które były trudne do opanowania i niekiedy prowadziły do poważnych incydentów³⁵. W późniejszych doniesieniach obejmujących większą liczbę pacjentów potwierdzono przydatność i skuteczność stentów jako metody pozwalającej uniknąć pomostowania tętnic wieńcowych w trybie nagłym³⁶. W 1993 r. w dwóch ważnych randomizowanych próbach klinicznych porównano stosowanie stentu Palmaza-Schatza z angioplastyką balonową, ustalając rolę planowej implantacji stentów wieńcowych jako standardowego leczenia. W 1999 stenty wszczepiano już w 84% przezskórnych interwencji wieńcowych³⁷. Implantacja stentu do tętnicy wieńcowej zapobiega ostremu obkurczeniu naczynia, również w reakcji na uraz (przebudowa skurczowa) po angioplastyce balonowej, ale jak wspomniano wcześniej zwiększa ryzyko podostrej

zakrzepicy oraz powoduje zastąpienie miażdżycy tętnic wieńcowych poważniejszym, jatrogennym stanem hiperplazji neointymy w stencie, tj wzrostu tkanki blizny wewnątrz stentu w wyniku podziałów komórkowych oraz proliferacji i migracji komórek mięśni gładkich naczyń.

Badania STRESS i BENESTENT wykazały, że mimo intensywnego leczenia przeciwkrzepliwego podostre zamknięcie naczynia nastąpiło u 3,7% pacjentów, a odsetek ten był większy od obserwowanego w przypadku samej angioplastyki balonowej. Zastosowanie rozprężania balonem pod wysokim ciśnieniem w celu zapewnienia optymalnego przylegania stentu do ściany naczynia, a także skojarzone leczenie przeciwplatekcyjne kwasem acetylosalicylowym (ASA) i tiklopidyną (tienopirydyny) zamiast leczenia przeciwkrzepliwego, spowodowało znaczne zmniejszenie częstości występowania zakrzepicy w stencie³⁸. Obecnie częściej stosuje się klopidoogrel ze względu na lepszy profil bezpieczeństwa, wyrażający się rzadszym występowaniem wysypki i neutropenii³⁹.

Po wykazaniu roli planowej implantacji stentów następnym celem stało się ograniczenie, za pomocą środków farmakologicznych i fizycznych, powikłań w postaci podostrej zakrzepicy oraz hiperplazji nowo wytworzonej błony wewnętrznej. Wspomniane powikłania dotyczą protez metalowych (BMS). Implantacja stentu inicjuje złożoną interakcję składników krwi z metalową powierzchnią stentu. Składa się na nią odkładanie białek, aktywacja płytek, układu dopełniacza i czynników krzepnięcia, a w końcu wykrzepianie na powierzchni stentu⁴⁰ oraz powstanie ciągłej warstwy śródbłonna. Próbując ograniczyć restenozę i zakrzepicę stenty ze stali nierdzewnej powlekano różnymi biologicznie nieaktywnymi materiałami (węgiel, platyna, fosforylocholina i złoto), jednak skuteczność tych rozwiązań nie została udowodniona w próbach klinicznych. Powłoki ze złota powodowały wręcz zwiększenie występowania restenozy⁴¹. Dokonywano także prób powlekania stentów metalowych heparyną. Analiza danych dużego jednośrodkowego rejestru wykazała, że w porównaniu z niepowlekanymi stentami metalowymi stenty powlekane heparyną istotnie zmniejszyły częstość zakrzepicy⁴².

Poznanie mechanizmów wzrostu nowej błony wewnętrznej w niepowlekanym stencie metalowym doprowadziło do opracowania stentów uwalniających lek antyproliferacyjny (DES), które zaprojektowano w celu zmniejszenia częstości występowania restenozy⁴³. W stencie uwalniającym lek można wyróżnić platformę (stent), nośnik (zwykle polimer) oraz środek zapobiegający restenozie (lek). Stenty są idealnymi systemami podawania leków, ponieważ miejscowo uwalniają substancję czynną do obszaru uszkodzenia naczynia, eliminując w ten sposób konieczność systemowego jej podawania w dużych dawkach. Opracowanie nośnika nadającego się do transportowania odpowiedniego leku było trudne, ponieważ musi wykazywać on mechaniczną odporność na ścieranie w czasie implantacji, nadawać się do sterylizacji, umożliwiać kontrolowane uwalnianie określonej dawki leku w określonym czasie oraz nie sprzyjać trombogenezie i nie wywoływać zapalenia ściany naczyniowej i tkanki⁴⁴. Wykorzystuje się różne powłoki, w tym fosforylocholinę, biokompatybilne polimery nieulegające erozji, a podlegające biodegradacji lub ulegające biowchłanianiu, a także powłoki ceramiczne⁴⁵⁻⁵⁰. Najczęściej stosowanymi nośnikami są polimery. Lek uwalniany ze stentu powinien hamować złożoną kaskadę zdarzeń, która prowadzi do powstania nowej błony wewnętrznej po implantacji stentu. Potencjalnymi celami interwencji terapeutycznych mających ograniczać proliferację nowej błony wewnętrznej są mechanizmy zapalne i proliferacyjne związane z procesem gojenia, a także elementy składowe procesów naprawczych naczyń, swoistych dla krwi i ściany naczyniowej. Skuteczność urządzeń uwalniających lek zależy w znacznym stopniu od każdego z elementów

składowych kompleksu, a także od ich interakcji. Różne stenty uwalniające lek różnią się zdolnością hamowania wzrostu nowej błony wewnętrznej⁵¹.

Pierwsze korzystne dane kliniczne na temat stentów uwalniających lek uzyskano w próbach klinicznych oceniających stenty powlekanie sirolimusem. Sirolimus, naturalny makrocykliczny lakton mający silne działanie antyproliferacyjne, przeciwzapalne i immunosupresyjne działa przez aktywację białka docelowego dla rapamycyny u ssaków (mTOR), powodując zatrzymanie podziałów w cyklu komórkowym^{52,53}. Stent Cypher uwalniający sirolimus (Cordis, Johnson & Johnson) jest wytwarzany przez pokrywanie stentu ze stali nierdzewnej cienką powłoką nieulegającego erozji polimeru zawierającego sirolimus. W badaniu RAVEL (Randomized Study with the Sirolimus-eluting Bx Velocity Balloon Expandable Stent) w grupie ze stentem uwalniającym sirolimus wykazano zdumiewającą, zerową częstość występowania restenozy oraz całkowite zahamowanie hiperplazji nowej błony wewnętrznej w ocenie angiograficznej. Doprowadziło to do rejestracji tego stentu do stosowania w Europie⁵⁴. Wyniki randomizowanego, przeprowadzonego z podwójnie ślepą próbą, badania SIRIUS (Sirolimus Eluting Stent in de Novo Coronary Lesions), w którym uczestniczyło 1055 pacjentów, doprowadziły do zaakceptowania urządzenia przez FDA w USA w 2003 r⁵⁵.

Innymi stentami uwalniającymi lek są stenty polimerowe uwalniające paklitaksel. Jest to silny lek antyproliferacyjny hamujący depolimeryzację mikrotubul. Powłoka kopolimerowa (Translute, Angiotech) umożliwia dwufazowe uwalnianie paklitakselu: początkowo większej ilości w ciągu pierwszych dwóch dni, a następnie wolniejsze uwalnianie przez 10 dni. W celu uzyskania danych na temat dwóch stentów uwalniających paklitaksel: NIR i Express (Boston Scientific) przeprowadzono serię badań TAXUS (Randomized, Double-Blind Trial of a Slow-Release Paklitaksel-Eluting Stent for de Novo Coronary Lesions). W badaniu TAXUS-I oceniano praktyczne możliwości stosowania i bezpieczeństwo stentów uwalniających paklitaksel w porównaniu z niepowlekanymi stentami metalowymi. Stwierdzono różnicę w występowaniu po 6 miesiącach restenozy- odpowiednio 0 i 10%⁴⁶. W badaniu TAXUS-II oceniano dwa rodzaje stentów uwalniających paklitaksel: o powolnym i pośrednim uwalnianiu⁵⁶. Mimo, że oba urządzenia zawierają taką samą łączną dawkę leku, w ciągu pierwszych 10 dni jego uwalnianie ze stentu o pośrednim uwalnianiu jest 8-krotnie szybsze. Oba rodzaje stentu określono jako bardzo skuteczne, ale do zastosowań komercyjnych przygotowano jedynie wersję o powolnym uwalnianiu i ona uzyskała rejestrację w Europie. Badanie TAXUS-IV (randomizowane, z podwójnie ślepą próbą) przeprowadzono na 1314 pacjentów i oceniano bezpieczeństwo oraz skuteczność stentu o powolnym uwalnianiu paklitakselu w pojedynczych, uprzednio nieleczonych zmianach. Na podstawie tego badania stent uwalniający paklitaksel uzyskał w 2004 r. akceptację FDA⁵⁷. Badania TAXUS-V i TAXUS-VI potwierdziły skuteczność tego stentu w małych naczyniach (o średnicy < 2,5 mm) i długich zmianach, a także bezpieczeństwo zabiegów obejmujących wprowadzanie nakładających się stentów uwalniających paklitaksel.

W badaniu REALITY (Prospective Randomized, Multi-Center Comparison of the Cypher Sirolimus-Eluting and the Taxus Paclitaxel-Eluting Stent Systems) porównano stenty uwalniające sirolimus i paklitaksel⁵¹. Późna redukcja światła tętnicy (wskaźnik hiperplazji nowej błony wewnętrznej oceniany za pomocą ilościowej angiografii wieńcowej) była mniejsza w przypadku stentów uwalniających sirolimus niż w przypadku stentów uwalniających paklitaksel, ale częstość występowania angiograficznej restenozy oraz, co ważniejsze, konieczność reinterwencji dotyczącej leczonej zmiany nie różniła się istotnie między grupami (5 vs 5,4%).

W fazie badań są stenty uwalniające zotarolimus, ewerolimus, biolimus A9, takrolimus (wszystkie w/w są analogami sirolimusu) i paklitaksel umieszczony w zbiornikach wewnątrz stentów. Zotarolimus blokuje czynność mTOR i jest uwalniany albo z macierzy fosforylocholinowej (stent Driver ze stopu kobaltu, Medtronic) albo ze zmodyfikowanej macierzy fosforylocholinowej (stent Zomaxx, niskoprofilowy, trójwarstwowy, zbudowany z tantalu i stali nierdzewnej, Abbott), co pozwala na jego wolniejsze uwalnianie. Ewerolimus, jako analog sirolimusu, również blokuje mTOR. Bada się też bezpieczeństwo stentów uwalniających ewerolimus z ultracienkiej powłoki z biowchłanialnego polimeru polihydroksykwasy (Biosensors International).

Umieszczenie leków na platformie stentów, pomimo znaczącego ograniczenia restenozy, stwarza jednak ryzyko potencjalnego toksycznego wpływu na ścianę naczynia, opóźnienia procesu zdrowienia naczynia po zabiegu i może prowadzić do wystąpienia wczesnej i późnej zakrzepicy w stencie⁵⁸. Wykrzepianie w obrębie implantowanego DES jest też spowodowane reakcją nadwrażliwości na zastosowany w stencie polimer poprzez wytworzenie miejscowej reakcji zapalnej⁵⁹. Najczęstszą przyczyną wczesnej zakrzepicy w stencie jest działanie czynników mechanicznych (nierozpoznane rozwarstwienie naczynia lub niedostateczne rozprężenie stentu), natomiast późna zakrzepica w stencie może wynikać z niedopasowania stentu do naczynia (nieprawidłowe położenie stentu), nadwrażliwości lub nieprawidłowego śródbłonkowania⁶⁰. Badania autopsyjne Kotani i wsp. sugerują, że niepełne pokrycie śródbłonką implantowanych DES w ciągu 3-6 miesięcy może korelować z formowaniem się skrzeplin⁶¹. Na podstawie opublikowanych dotychczas danych za czynniki ryzyka wykrzepiania wewnątrz implantowanego DES związane z pacjentem można uznać: przedwczesne zakończenie terapii przeciwplatekowej, cukrzycę insulinozależną, niewydolność nerek, ostre zespoły wieńcowe, obniżoną frakcję wyrzutową lewej komory oraz zaawansowany wiek, natomiast wśród czynników angiograficznych wymienia się: brak optymalnego przepływu, tj. TIMI <3, leczenie wielu zmian oraz wielonaczyniowej choroby wieńcowej, całkowitą długość stentu lub stentów, mocno uwapnione zmiany, interwencje w obrębie zamkniętych tętnic, zmian ostialnych, miejsc rozwidlenia oraz restenozy w stencie⁶²⁻⁶⁶.

Zakrzepica jest poważnym zdarzeniem niepożądanym, które często wiąże się z nagłym zgonem lub świeżym zawałem mięśnia sercowego. Jak wspomniano istnieje wiele czynników ryzyka takich incydentów, w tym złożone zmiany w tętnicach wieńcowych oraz współistniejące stany kliniczne⁴³. Dodatkowo ryzyko zakrzepicy u poszczególnych osób jest uzależnione od czynników genetycznych, zarówno dziedzicznych, jak i nabytych, do których należą dieta, palenie tytoniu, zakażenia, brak wysiłku fizycznego⁶⁷. Wykazano związek ze zwiększonym ryzykiem zakrzepicy polimorfizmów genów kodujących protrombinę, czynnik VII, V i fibrynogen. Na rozwój zakrzepicy bardziej podatne mogą być osoby z polimorfizmami genów kodujących czynniki przeciwkrzepliwe (trombomodulina, antytrombina) czy inhibitory fibrylizacji – n.p. PAI-1⁶⁷. Metaanaliza badań porównawczych stentów BMS (metalowe, niepowlekanie) i DES obejmująca 4037 chorych⁶⁸ (TAXUS II, IV, VI, RAVEL SIRIUS, E-SIRIUS, C-SIRIUS) pokazała, że w ciągu pierwszych 9 miesięcy po zabiegu częstość występowania zakrzepicy w stentach BMS i DES jest identyczna i wynosi 0.6%. Późna zakrzepica wystąpiła w przypadku zastosowania DES u 1.2% pacjentów i u żadnego pacjenta z BMS. Przedstawione badanie zwraca uwagę na istotnie wyższe ryzyko późnej zakrzepicy w DES w stosunku do BMS. Trzeba jednak zaznaczyć, że po pierwsze DES często otrzymują pacjenci z grupy wyższego ryzyka zakrzepicy⁶⁹, a po drugie implantacja DES związana jest z rzadszą potrzebą rewaskularyzacji obszaru zaopatrywanego przez tętnicę poddaną angioplastyce⁷⁰. Zarejestrowane wskazania do stosowania stentów

uwalniających lek obejmują tylko leczenie dobrze odgraniczonych, uprzednio nieleczonych zmian w naturalnych tętnicach wieńcowych. Ponad 60% takich stentów jest jednak stosowana z niezarejestrowanych wskazań, w tym u pacjentów z bardziej złożonymi problemami klinicznymi (choroba wielonaczyniowa lub świeży zawał serca) lub ze złożonymi zmianami w naczyniach wieńcowych (np. zwężenia w pomostach z żyły odpiszczelowej, w rozwidleniach naczyń, a także przewlekłe całkowite zamknięcia)⁷¹. Ocena częstotliwości występowania zakrzepicy w stencie w przypadku stosowania stentów uwalniających lek ze wskazań, które nie są objęte rejestracją, jest trudniejsza ze względu na różne definicje, populacje pacjentów oraz schematy leczenia przeciwplatekowego. Z danych z rejestrów wynika, że częstość występowania zdarzeń niepożądanych, w tym zgonów, zawałów mięśnia sercowego nieprowadzących do zgonu oraz zakrzepicy w stencie jest większa w przypadku stosowania tych stentów z niezarejestrowanych niż zarejestrowanych wskazań, ale to samo dotyczy również niepowlekanych stentów metalowych⁷¹.

1.4. Leki przeciwplatekowe – dobra, ale wciąż niedoskonała broń w walce z zakrzepicą w stencie

Epizody zakrzepicy w stencie pojawiają się zarówno po zakończeniu stosowania leczenia przeciwplatekowego jak i w czasie jego trwania. Przyczyna takiego stanu często tkwi w braku współpracy ze strony pacjenta i przerwach w pobieraniu leku. Można też rozważyć w tych przypadkach oporność na kwas acetylosalicylowy i pochodne tienopirydyn. Coraz częściej podnoszona jest kwestia wprowadzenia kontroli skuteczności zastosowanego leczenia przeciwplatekowego poprzez ocenę reaktywności płytek krwi, które pełnią kluczową rolę w procesie powstawania zakrzepu i w konsekwencji ostrych zespołów wieńcowych.

1.4.1. Mechanizm działania leków przeciwplatekowych

Kwas acetylosalicylowy nieodwracalnie inaktywuje cyklooksyzgenazę-1 (COX-1) przez acetylację seryny w pozycji 529. To w rezultacie hamuje konwersję kwasu arachidonowego do prostaglandyny H₂ (PGH₂) i tworzenie platekowego TxA₂. Z kolei tienopirydyny (tiklopidyna i kłopidogrel) blokują wiązanie ADP do P2Y₁₂ (P2Y₁₂ i P2Y₁ to receptory purynowe dla ADP, znane wcześniej jako P2T czy P2Y_{AC}) hamując w ten sposób aktywację kompleksu GPIIb/IIIa⁷². Ze względu na mniej działań niepożądanych w większości krajów kłopidogrel zastąpił tiklopidynę. Kłopidogrel hamuje agregację płytek zależną od ADP nieodwracalnie. Ocenia się, że 85% podanej dawki leku jest inaktywowana przez esterazy osocza, natomiast pozostałe 15% zostaje przekształcone w wątrobie do aktywnego metabolitu. Transformacja ta przebiega dwuetapowo, przy udziale wielu izoenzymów cytochromu P450⁷³, z których kluczową rolę odgrywają 2C19 i 3A4. Aspiryna i kłopidogrel są w pewnym sensie analogiczne i uzupełniają się – hamują dwa podstawowe mechanizmy zwrotnego potęgowania aktywacji płytek krwi⁷⁴.

Leki przeciwplatekcyjne hamując aktywację płytek powodują przez to również zahamowanie zapalenia śródbłonka i rozwoju miażdżycy, co zmniejsza ryzyko zawału serca.

Przemawiają za tym stwierdzeniem następujące dane:

- aspiryna i klopidoogrel hamują uwalnianie sCD40L przez płytki krwi^{75,76},
- aspiryna upośledza uwalnianie IL-8 (zależnie od płytkowej IL-1 β) ze śródbłonka⁷⁷.
- aspiryna hamuje zależną od płytek adhezję leukocytów do aktywowanego śródbłonka w mikrokrążeniu mózgowym (badania in vivo)⁷⁸.
- aspiryna poprawia zależną od NO czynność śródbłonka u pacjentów z hipercholesterolemią⁷⁹, u osób z miażdżycą naczyń wieńcowych⁸⁰, ale nie u pacjentów bez zmian miażdżycowych⁸¹ (jest mało prawdopodobne, by poprawa aktywności biologicznej NO pod wpływem aspiryny wynikała z zahamowania aktywności cyklooksygenazy w ścianie naczynia przez aspirynę, bo inne inhibitory cyklooksygenazy nie wykazują takiego działania⁸²,
- tiklopidyna działa ochronnie na śródbłonkowy NO u pacjentów z rozwijającą się miażdżycą po przeszczepie serca⁸³ (rozwój zapalenia śródbłonka jest w warunkach klinicznych wykrywany jako upośledzenie biologicznej aktywności NO⁷⁴),
- u pacjentów z chorobą niedokrwinną serca aspiryna obniża stężenie wytwarzanego przez śródbłonek czynnika wzrostowego dla makrofagów (MCSF) i IL-6 (główniej prozapalnej cytokiny śródbłonkowej), czemu towarzyszy obniżenie stężenia CRP⁸⁴,

Wydaje się mało prawdopodobne, by obniżenie stężenia CRP przez aspirynę, klopidoogrel lub antagonistów receptora GPIIb/IIIa wynikało z bezpośredniego hamowania odpowiedzi zapalnej wątroby przez te leki. Bardziej prawdopodobne jest to, że leki przeciwplatekcyjne wstrzymują aktywację płytek krwi i jej pozapalne skutki, co prowadzi do obniżenia stężeń prozapalnych cytokin produkowanych przez śródbłonek i ścianę naczynia, a w konsekwencji do zmniejszenia wytwarzania CRP przez wątrobę⁸⁴. Łączne podawanie aspiryny i klopidoogrelu wygasza procesy zapalne jeszcze skuteczniej, bo obniża stężenia TNF- α i CRP do wartości niższych niż każdy z tych leków osobno⁸⁵. Oczywiście dzieje się tak tylko wtedy, gdy aktywność płytek jest zwiększona. Takiego działania leków przeciwplatekcyjnych nie obserwuje się u osób zdrowych. Zahamowanie zależnych od płytek mechanizmów uczestniczących w odpowiedzi zapalnej śródbłonka i całej ściany naczyniowej prowadzi więc do wygaszenia ogólnoustrojowego zapalenia w zakrzepicy na tle miażdżycowym⁷⁴. CRP jest nie tylko markerem rozwoju zapalenia w zakrzepicy na podłożu miażdżycowym, ale nasila zapalenie ściany naczynia przez aktywację kluczowych mechanizmów odpowiedzi zapalnej śródbłonka⁸⁶. Z klinicznego punktu widzenia ważne jest, żeby zahamowanie aktywności płytek z następującym wytlumieniem zapalenia śródbłonka i ściany naczyniowej było na tyle znaczące, by doprowadzić do obniżenia odpowiedzi zapalnej wątroby. Jednoznaczna interpretacja śródbłonkowych skutków działania leków przeciwplatekcyjnych poprzez obniżenie aktywacji płytek utrudnia jednak fakt, że aspiryna i tienopirydyna działają również bezpośrednio na śródbłonek⁷⁴.

Przemawiają za tym następujące dane:

- aspiryna i kwas salicylowy unieczynnijają aktywność czynników transkrypcyjnych [C/EBP β (CCAAT/enhancer binding protein beta) NF κ B/Rel, czynnik transkrypcyjny AP1] odpowiedzialnych za uruchamianie odpowiedzi zapalnej komórki⁸⁷ (należy jednak pamiętać, że okres półtrwania aspiryny w krążeniu wynosi 15-20 minut i że

stężenia kwasu acetylosalicylowego po spożyciu przeciwplatekowej dawki aspiryny są niższe od tych stosowanych *in vitro*),

- aspiryna poprzez acetylację Ser 530 w COX-2 wywołuje syntezę 15 epichodnych kwasu arachidonowego, które są metabolizowane przez lipoksygenazę do ALX⁸⁸ (Aspirin-Triggered Lipoxins), które z kolei hamują odpowiedź zapalną śródbłonna poprzez uwolnienie śródbłonkowego NO⁸⁹,
- mikromolarne stężenia aspiryny indukują syntezę ferrytyny w komórkach śródbłonna i uodparniają śródbłonek na uszkodzenie wywołane stresem oksydacyjnym⁹⁰,
- tienopirydyny wywierają działanie trombolityczne (niezależne od działania przeciwplatekowego), zależne od endogennej PGI₂⁹¹⁻⁹⁵,

1.4.2. Problem oporności na leki przeciwplatekowe

Brak oczekiwanej odpowiedzi na lek przeciwplatekowy najczęściej związany jest z nieregularnym jego przyjmowaniem przez pacjenta. Niekiedy przyczyna tkwi jednak w wystąpieniu oporności na leki przeciwplatekowe. Klinicznie coraz częściej stwierdza się osobniczą zmienność działania przeciwplatekowego zarówno kłopidogrelu^{96,97} jak i ASA⁹⁸. W zależności od rodzaju doniesienia przyjmuje się, że 5-22% pacjentów to osoby niereagujące na leczenie kłopidogrelem, a kolejne 9-32% to pacjenci reagujący na ten lek słabo^{97,99-101}. W badaniu przeprowadzonym przez Lepantalo i wsp¹⁰², po 2,5 godzinie od przyjęcia nasycającej dawki 300 mg kłopidogrelu, aż 40% pacjentów zakwalifikowano jako niewrażliwych na lek. Efekty działania standardowej dawki ASA u poszczególnych pacjentów określa rozkład normalny. Pozostaje niewiadomą od którego punktu na krzywej Gaussa wzrasta ryzyko powikłań zakrzepowych. Krasopoulos i wsp.⁹⁸ dokonali metaanalizy 20 badań obejmujących 2930 pacjentów z chorobami sercowo-naczyniowymi, u których stosowano ASA w dawce 75-325 mg/dl (w 6 badaniach stosowano łączoną terapię przeciwplatekową). U 28% badanych stwierdzono laboratoryjne cechy oporności płytek krwi na ASA. W tej grupie aż u 41% osób wystąpił incydent sercowo-naczyniowy, u 39% ostry zespół wieńcowy a u 5,7% zgon. Oporność na insulinę, zwiększony wskaźnik masy ciała i cukrzyca wiążą się z większą częstością oporności¹⁰².

1.4.2.1. Definicja oporności na ASA

Nie określono dotychczas precyzyjnie użytecznej klinicznie definicji oporności na ASA.

Proponuje się kilka możliwości:

1. nieskuteczność kliniczna ASA. Definicja oporności na ASA, określająca ją jako nieskuteczność kliniczną tego leku w zapobieganiu incydentom sercowo-naczyniowym jest nieściśła. Ograniczenia wynikają z niemożności zróżnicowania między zmniejszoną wrażliwością na ASA a innymi czynnikami przyczynowymi. Wielu takich pacjentów można równie dobrze określić jako opornych na statynę, beta-adrenolityki lub rewaskularyzację. Definicja nie opiera się na podłożu fizjologicznym i nie należy jej stosować.

2. agregacja płytek pod wpływem ADP i kwasu arachidonowego, oceniana turbidymetrycznie. Test tradycyjnie traktowany jako złoty standard w określaniu oporności na ASA. Większość autorów definiowało oporność na ASA jako średnią agregację > 70% w odpowiedzi na 10 μ M ADP i średnią agregację > 20% pod wpływem 0,5 mg/ml kwasu arachidonowego. Osoby spełniające tylko jeden z powyższych kryteriów zdefiniowano jako częściowo reagujące na ASA (semiresponders). Ograniczeniem tej definicji jest fakt, że nie ocenia się tu bezpośrednio hamującego działania ASA na COX-1. Ponadto TxA₂ pobudza płytki w fizjologicznie mierzalny sposób tylko przy mniejszych stężeniach ADP (<5 μ M). Stężenia ADP stosowane w tych testach agregacji, czyli 10 μ M może maksymalnie pobudzić płytki niezależnie od TxA₂. Zatem ten test może tylko mierzyć różnice we wrażliwości na ADP. Pomiar agregacji płytek trwa długo i wymaga technicznego doświadczenia. Ponadto w agregometrii nie uwzględnia się interakcji płytek z erytrocytami i leukocytami w odpowiedzi agregacyjnej. Tradycyjny aparat do agregometrii wykorzystuje ponadto naprężenia ścinające, które są znacznie mniejsze od występujących w normalnych tętnicach¹⁰³.
3. szybki test funkcji płytek
Szybki test funkcji płytek (RPFA) mierzy aglutynację płytek w pełnej krwi z cytrynianem, przy użyciu turbidymetrycznego systemu detekcji optycznej. Aglutynację mikrocząstek opłaszczonych fibrynogenem pobudza kationowy tiogalusan pypylu. Adhezja jest proporcjonalna do liczby dostępnych receptorów płytkowych – wynik podaje się w jednostkach odpowiedzi na ASA (ARU). Oporność na ASA w tym teście definiuje się jako wynik > 550 ARU. Użyteczność metody potwierdzono testami agregacji płytek, stwierdzając swoistość 85%^{104,105}. Nie jest to idealny test badania oporności na ASA, ponieważ wynik zależy również od działania antagonistów receptora płytkowego GPIIb/IIIa, dipirydamolu, klopidogrelu i streptokinazy.
4. pomiar czasu okluzji aparatem PFA-100
PFA-100 bada funkcję płytek naśladując pomiar czasu krwawienia w badaniu hemostazy. Pełną krew z antykoagulantem aspiruje się przez otwór przez błonę pokrytą kolagenem i ADP (kaseta CADP) lub kolagenem i adrenaliną (kaseta CEPI). Powstaje czop płytkowy, który stopniowo zatyka otwór. Czas upływający do momentu zatrzymania przepływu krwi nazywa się czasem okluzji (zamknięcia). Oporność na ASA w PFA-100 definiuje się jako prawidłowy czas zamknięcia na kasecie z kolagenem i adrenaliną (<165-193s). Wynik testu zależy jednak od wielu zmiennych, na które ASA nie ma wpływu: liczby płytek, hematokrytu, interakcji płytek z erytrocytami i stężenia osoczonego czynnika von Willebranda (vWF). Wykazano, że stężenie vWF i jego interakcje z GP Ib oraz GP IIb/IIIa są głównymi determinantami czasu okluzji¹⁰⁶. Częstość oporności na ASA w chorobach układu sercowo-naczyniowego i mózgowo-naczyniowego wykrywana na aparacie PFA-100 jest większa w porównaniu z wykrywaną poprzez tradycyjną agregometrię¹⁰⁶⁻¹¹¹. Andersen i wsp.¹⁰⁷ podali w wątpliwość wartość tego testu wykazując, że leczenie ASA hamowało produkcję TxB₂ w tym samym stopniu u pacjentów z krótkim i długim czasem okluzji. Zatem PFA-100 może nie być optymalną metodą badania oporności na ASA, ponieważ podlega wpływowi czynników, które nie zależą od jego działania.

5. pomiar stężenia TxB₂ w surowicy lub moczu

Najbardziej precyzyjna definicja oporności na ASA odwołuje się do jego działania farmakologicznego, czyli zahamowania aktywności COX-1. Oporność na ASA może wynikać z niezdolności do zahamowania COX-1 lub wzmożonej syntezy tromboksanu na szlaku alternatywnym, niezależnym od COX-1. Ze względu na krótki czas półtrwania TxA₂ jego syntezę in vivo najlepiej oceniać mierząc stężenie 11-dehydro-TxB₂ w osoczu lub w moczu. Nie ustalono dokładnych kryteriów oceny wyników tego testu. Być może najbardziej użyteczne punkty odcięcia ustalono w badaniu HOPE (Heart Outcomes Prevention Evaluation)¹¹², w którym podzielono stężenia TxB₂ w moczu na kwartyle. Opornych na leczenie (nonresponders) zdefiniowano jako osoby ze stężeniem TxB₂ w moczu >33,8 ng/mmol kreatyniny, a za reagujących częściowo uznano pacjentów z TxB₂ w moczu 15,1-33,8 ng/mmol kreatyniny.

1.4.2.2. Definicja oporności na kłopidogrel

Oporność na kłopidogrel stwierdza się po uzyskaniu nieprawidłowych wyników następujących testów:

1. Cytofluorymetrycznej oceny fosforylacji białka VASP

Jest to referencyjna metoda oceny aktywności płytkowego receptora P2Y₁₂. W nieaktywowanej płytce krwi, na skutek działania cykazy adenylowej związanej z receptorem P2Y₁₂, PGE₁ prowadzi do fosforylacji wewnątrzpłytkowego białka VASP. Stymulacja receptora P2Y₁₂ przez ADP zmniejsza poziom fosforylacji VASP (inhibicji ulega cykaza adenylowa). Kłopidogrel blokując receptor P2Y₁₂ uniemożliwia hamowanie fosforylacji VASP przez ADP. VASP w formie fosforyzowanej znakuje się odpowiednimi przeciwciałami IgG, co pozwala na ilościową ocenę skuteczności kłopidogrelu. Końcowym wynikiem testu jest tzw. współczynnik reaktywności receptora P2Y₁₂ płytek krwi (PRI), obliczony jako poziom fosforylacji VASP po stymulacji PGE₁ i ADP/poziom fosforylacji VASP po stymulacji PGE₁. Im niższy współczynnik, tym skuteczniejsza inhibicja receptora P2Y₁₂ przez lek¹¹³ (wartość PRI < 50% oznacza dobrą reakcję na kłopidogrel, a > 50% słabą).

2. agregometrii pod wpływem ADP

Jest to najlepiej przebadana, dostępna i tania metoda monitorująca działanie pochodnych tienopirydyny. Obecnie traktowana jako „złoty standard”. Polega na turbidymetrycznym pomiarze zmian przejrzystości badanego osocza bogatopłytkowego, co odzwierciedla natężenie agregacji płytek krwi. Zastosowanie ADP jako agonisty agregacji umożliwia ocenę stopnia blokady receptorów P2Y₁₂. Jej ograniczeniem jest czasochłonność i skomplikowana metodyka wykonania.

Gurbel PA i wsp.⁹⁷ postulują, aby stosując tę metodę oceniać skuteczność działania kłopidogrelu na podstawie obniżenia intensywności agregacji pod wpływem 5µM ADP w stosunku do wartości uzyskanych przed leczeniem. Zaproponowali następujące kryteria: oporność na kłopidogrel definiować jako obniżenie intensywności agregacji mniejsze niż 10%, częściową odpowiedź jako obniżenie intensywności agregacji o 10-30%, a oczekiwaną reakcją na leczenie

uznać, gdy wystąpi obniżenie intensywności agregacji o 30% większe w porównaniu do wartości wyjściowych.

Jeszcze inne kryteria zaproponowali Serebruany VL i wsp.¹¹⁴ Autorzy zastosowali jako agonistę agregacji ADP również w stężeniu 5 μM , a ponieważ rozkład hamującego działania klopidoogrelu na płytki opisywała krzywa dzwonowa, oporność na klopidoogrel stwierdzano, gdy obniżenie intensywności agregacji było większe niż 2 odchylenia standardowe od średniej.

Najprostszym kryterium wystąpienia oporności na klopidoogrel jest wartość intensywności agregacji płytek krwi, powyżej której odnotowuje się u badanej osoby wzrost ryzyka incydentów zakrzepowych. Jest to wartość $>60\%$ (dla ADP o stężeniu 20 μM) lub $>50\%$ (dla ADP o stężeniu 5 μM).¹¹⁵

1.4.2.3. Mechanizmy oporności na leki przeciwplatekcyjne

1.4.2.3.1. Kwas acetylosalicylowy

Proponuje się różne możliwe mechanizmy oporności na ASA, jednak pozostają one wciąż niejasne. Można je podzielić na zależne i niezależne od tromboksanu.

Mechanizmy zależne od tromboksanu

W przypadku mechanizmów zależnych od tromboksanu ma miejsce ciągła synteza TxA_2 . Chociaż COX-1 jest główną izoformą cyklooksygenazy obecnej w płytkach i w największym stopniu przyczynia się do powstania TxA_2 , to związek ten może również powstawać w procesach przebiegających bez udziału COX-1, zależnie od źródeł pozapłytkowych.

Szczególne zainteresowanie budzi możliwość **udziału COX-2 w syntezie TxA_2** , pozwalająca na ominięcie działań ASA. U zdrowych osób COX-2 występuje tylko w 8% płytek, głównie w płytkach młodszych¹¹⁶. U pacjentów po operacji pomostowania aortalno-wieńcowego stwierdza się dużą częstość oporności na ASA, a ekspresja COX-2 wzrasta 16-krotnie w piątym dniu po operacji¹¹⁷. Jednak zahamowanie COX-2 przy użyciu celekoksybu w tej populacji nie wpływało na stężenia TxB_2 . TxA_2 może również powstawać pozapłytkowo, w procesach zależnych zarówno od COX-1, jak i COX-2. Inkubacja płytek poddanych działaniu ASA z komórkami śródbłonna poddanymi działaniu trombiny przywraca im zdolność syntezy TxA_2 ¹¹⁸. Tromboksan może być produkowany, obok prostacyklin, również przez śródbłonek¹¹⁹. Ponadto stwierdzono, że indobufen, lek przeciwplatekcyjny hamujący płytkową COX-1 i COX-2 w monocytach silniej hamuje biosyntezę niż ASA (selektywny inhibitor płytkowej COX-1) w małych dawkach¹²⁰.

Strukturalne zmiany genów dla COX-1, COX-2 czy genu dla syntazy tromboksanu mogą upośledzać skuteczność ASA. Polimorfizmy genu dla COX-1 mogą upośledzać wiązanie ASA z Ser529 w COX-1. Ostatnio wykryto polimorfizm COX-1, w którym dwa polimorfizmy pojedynczych nukleotydów: A842G i C50T występowały w pełnym niezrównoważeniu stężeń. U heterozygot pod względem haplotypu A842G/C50T stwierdzano istotnie większe zahamowanie powstawania PGH_2 przez ASA w porównaniu z homozygotami dla tych alleli¹²¹. Wciąż nie wiadomo, czy ten polimorfizm ma jakiegokolwiek znaczenie kliniczne.

Polimorfizm -765 G-C genu promotora dla COX-2 wiąże się z mniejszą aktywnością promotora, mniejszym stężeniem COX-2 a także z mniejszymi stężeniami takich substancji jak: białko C-reaktywne (CRP), tkankowa metaloproteinaza macierzy (MMP). Zmniejszać końcową skuteczność ASA może również polimorfizm receptora płytkowego GP IIb/IIIa. Allel P1A2, obecny u 20-25% osób rasy białej wiąże się z upośledzonym działaniem przeciwzakrzepowym ASA in vivo, a także ze skróconym czasem krwawienia i zwiększoną produkcją trombiny¹²².

Przyczyny oporności na ASA wiążące się z mechanizmami zależnymi od tromboksanu mogą też wynikać z **czynników farmakokinetycznych i farmakodynamicznych**. Niedostateczne zahamowanie płytkowej COX-1 może wynikać ze zmniejszonej biodostępności i wchłaniania ASA. Jak wykazano w badaniu, w którym oceniano funkcję płytek 15 i 30 min po podaniu pojedynczej dawki ASA (81-325 mg), u niektórych pacjentów stwierdza się opóźnioną odpowiedź przeciwplatekową. Średnie zahamowanie agregacji wyniosło wprawdzie 97% po 15 minutach, ale u 22% badanych po 15 minutach było mniejsze niż 20% i zwiększyło się do ponad 90% po 30 minutach¹²³. Działanie ASA zależy również od efektywności wiązania z COX-1. Stwierdzono, że podawanie ibuprofenu przed przyjęciem ASA hamuje jego działanie przeciwplatekowe¹²⁴. W przeciwieństwie do ASA ibuprofen to kompetycyjny, odwracalny inhibitor COX-1. Jeżeli leki podaje się razem, opóźnienie wchłaniania salicylanów może prowadzić do wiązania ibuprofenu z COX-1 i zablokowania wiązania ASA do tego enzymu. Ibuprofen prawdopodobnie odłączy się od COX-1 w ciągu kilku godzin, pozostawiając enzym w niezmiennym stanie w momencie, gdy stężenia salicylanów spadną i nie wystarczą do jego inaktywacji. W dużych badaniach epidemiologicznych wykazano, że ibuprofen zwiększa ryzyko incydentów sercowo-naczyniowych, jeżeli jest podawany razem z ASA¹²⁵. Rola innych niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) i naproksenu jest mniej jasna.

Z uwagi na fakt, że ASA ma krótki czas półtrwania w krążeniu (około 15-20 min), hamować jego działanie może również **szybki obrót płytek**. Przy zwiększonym obrocie płytkowym zwiększa się, obok COX-1 ekspresja COX-2. COX-2 występuje w mniej niż 10% krążących płytek uzyskanych od zdrowej grupy kontrolnej, ale u pacjentów po przeszczepieniu komórek macierzystych (gdzie szybkość obrotu płytkowego jest duża) do 60% płytek zawiera COX-2.

Mechanizmy niezależne od tromboksanu

Za oporność na ASA, poprzez mechanizmy niezależne od tromboksanu, może odpowiadać zwiększona wrażliwość płytek na inne aktywatory (niezależne od tromboksanu): kolagen, trombina i ADP^{126,127}. U niektórych pacjentów w aktywacji płytek i powstawaniu oporności na ASA mogą odgrywać rolę również erytrocyty¹²⁸. Zwiększony stres oksydacyjny może wywoływać oporność na ASA, zwiększając produkcję izoprostanów (8-izo-PGF_{2a})^{129,130}, które z kolei zmniejszają właściwości antyagregacyjne tlenku azotu i wywołują zależną od dawki nieodwracalną agregację płytek przy takich stężeniach kolagenu, ADP, kwasu arachidonowego i analogów TxA₂, które działając pojedynczo nie wywołują agregacji¹³¹.

1.4.2.3.2. Klopidoğrel

Mechanizmy oporności na klopidoğrel nie są jasne, chociaż pewne możliwości są badane.

Czynniki genetyczne:

Oporność na klopidoğrel może być następstwem zmniejszonej aktywności cytochromu P450 (CYP) 3A4. Ponieważ klopidoğrel jest prolekiem wymagającym aktywacji CYP3A4, można oczekiwać, że indywidualna zmienność aktywności enzymatycznej wpłynie na działanie terapeutyczne. Wykazali to w swoim badaniu Lau i wsp.¹³² stwierdzając istotną korelację między aktywnością CYP3A4 a skutecznością klopidoğrelu.

Ostatnio stwierdzono polimorfizm receptora P2Y₁₂¹³³. Może on wiązać się ze zmniejszonym powinowactwem receptora do klopidoğrelu. Grossmann i wsp.¹⁰¹ stwierdzili pojedynczą niemą mutację w egzonie 2 w pozycji 1828 (GA).

Zmniejszona biodostępność klopidoğrelu

Możliwa jest międzyosobnicza zmienność biodostępności klopidoğrelu. Dawka nasycająca klopidoğrelu jest nadal niepewna. W badaniu CREDO (Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation), w którym podawano 300 mg klopidoğrelu na więcej niż 6 godzin przed angioplastyką stwierdzono istotną redukcję częstości incydentów po 28 dniach. Potwierdzili to w swoim badaniu Lepantalo i wsp.¹⁰², wykazując bardzo zmienne działanie przeciwplatek w 2,5 godziny po doustnym podaniu 300 mg klopidoğrelu. Po kolejnej analizie badania CREDO wykazano jednak, że największe korzyści z podania dawki nasycającej 300 mg klopidoğrelu stwierdzono, jeśli zastosowano ją przynajmniej 15 godzin przed PCI¹³⁴. Większa dawka nasycająca (600 mg) jest kontrowersyjna. W badaniu ISAR-REACT (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen-Rapid Early Action for Coronary Treatment)¹³⁵ podawanie 600 mg dawki nasycającej krótko przed zabiegiem nie przyniosło wyraźnych korzyści w porównaniu z podaniem bardziej odległym w czasie. U niektórych pacjentów może zaistnieć potrzeba stosowania dawek większych niż zgodnie z aktualnymi standardami (75 mg/24h), ale problem ten wymaga jeszcze oceny.

Interakcje z innymi lekami

U ludzi klopidoğrel ulega aktywacji w wątrobie, w układach enzymatycznych CYP3A4 i 1A2. Na wątrobowy układ CYP3A4 wpływają hamująco lub pobudzająco również inne leki, co może zakłócić działania przeciwplatekowe klopidoğrelu. Stwierdzono, że statyny hamują przekształcanie klopidoğrelu do aktywnego leku^{100,132}. Jednak w kilku badaniach nie udało się wykazać związku między statynami a skutecznością klopidoğrelu^{102,136}.

Wrażliwość płytek krwi na procesy aktywacji niezależne od ADP

Podobnie jak przy oporności na ASA, płytki mogą być bardziej wrażliwe na zależne i niezależne od ADP procesy aktywacji płytek i wymykać się wpływom klopidoğrelu⁹⁷. Angiolillo i wsp.¹³⁷ stwierdzili, że u osób ze słabą odpowiedzią na klopidoğrel stopień aktywacji receptora GP IIb/IIIa przed podaniem klopidoğrelu był większy, w porównaniu do pacjentów z prawidłową reakcją, i utrzymywał się nawet przez 24h po 300-mg dawce nasycającej.

1.4.2.4. Postępowanie z pacjentami opornymi na leki przeciwplatekcyjne

Dotychczas nie rozstrzygnięto definitywnie problemu leczenia pacjentów opornych na ASA i/lub kłopidogrel. Ponieważ ibuprofen upośledza wiązanie ASA z COX-1, prosty sposób postępowania z osobami przyjmującymi niesteroidowe leki przeciwzapalne polega na doradzeniu przyjmowania tych leków kilka godzin po przyjęciu dobowej dawki ASA. Inną możliwością może być zwiększenie dawki ASA, mimo, że nie ma danych wskazujących, czy oporność na ASA to zjawisko zależne od dawki. Sugerowano również, że kłopidogrel stanowi opcję alternatywną dla ASA. Dane przytoczone przez Lev EI i wsp¹³⁸ wskazują jednak, że 50% pacjentów opornych na ASA jest również opornych na kłopidogrel. Zatem kłopidogrel może nie być właściwym leczeniem oporności na ASA i vice versa. Konieczne są dalsze badania mechanizmów oporności, mające na celu ustalenie właściwych metod leczenia.

1.4.3. Ocena skuteczności leczenia przeciwplatekcyjnego

Oporność na ASA i kłopidogrel ma ogromne znaczenie ze względu na częstość występowania tego zjawiska. Obecnie nie wiadomo, kogo badać i w jaki sposób, by było to efektywne. Biorąc pod uwagę dużą liczbę pacjentów, którzy mogą być dotknięci tym problemem, wiele osób przewlekłe leczonych ASA i kłopidogrelem teoretycznie wymagałoby badań pod kątem oporności. Niestety, jak dotąd, nie potwierdzono znaczenia dostępnych testów w badaniach prospektywnych¹³⁹. Dostępne informacje dotyczące mechanizmów wywołujących te zjawiska i metod leczenia tworzą jedynie zarys. Konieczne są dalsze badania mające na celu wyodrębnienie pacjentów opornych na leczenie i opracowanie szybkich, potwierdzonych testów umożliwiających właściwe leczenie tych osób.

1.4.3.1. Inne metody badania reaktywności płytek krwi

1. Ocena zmian gęstości płytek krwi po zadziałaniu aktywatorów

Płytki krwi zawierają ziarnistości wypełnione czynnikami uwalnianymi na zewnątrz płytek po ich aktywacji. Procesowi degranulacji płytek towarzyszy obniżenie ich gęstości optycznej.

Analizator hematologiczny ADVIA 120 firmy SIEMENS oprócz oceny ilości i objętości płytek krwi mierzy przy pomocy metody optycznej także ich gęstość, z czego uzyskiwany jest parametr MPC (mean platelet component concentration). Przy pomiarze w/w parametrów płytkowych zastosowanie znajduje teoria fizyczna MIE (dyskryminacja cząstek sferycznych w oparciu o pomiar kąta załamania światła laserowego rozproszonego przez te cząstki).

Etapy analizy płytek krwi na analizatorze ADVIA 120 przebiegają następująco:

1. mieszanie w komorze reakcyjnej aparatu porcji krwi z odczynnikiem sferującym izowolumetrycznie płytki krwi
2. przepływ powstałej zawiesiny komórkowej przez kuwetę z jednoczesnym pomiarem rozproszenia światła laserowego padającego na płytki krwi (przepływ regulowany przez ogniskowanie hydrodynamiczne)
3. dwuwymiarowa analiza (2D-PLT) każdego trombocyta przy pomocy pomiaru sygnałów świetlnych otrzymywanych na poziomie nisko (MPV – objętość płytek krwi) i wysokokątowym (MPC – gęstość płytek krwi).

W kontekście oceny przydatności klinicznej parametru MPC istotna jest wielkość jego zmiany po aktywacji płytek krwi, świadczyć to bowiem będzie o jego przydatności do oceny zdolności agregacyjnych płytek krwi u pacjentów przyjmujących leki antyagregacyjne. To z kolei może znaleźć przełożenie w ocenie skuteczności działania wspomnianych leków.

Kilku autorów porównywało wielkość zmiany MPC z markerami aktywacji płytek krwi.

E.S. Chapman i wsp¹⁴⁰ opisali doświadczenie, w którym do kolejnych próbek krwi ochotników dodawano wzrastające stężenia trombiny (od 0 do 0.087 U/L). W badanych próbkach stwierdzono, że wraz ze wzrostem stężenia trombiny wartość MFI (średnia intensywność fluorescencji) dla przeciwciał anti-CD62P wzrosła z 2 do 328 U, a MPC (mean platelet component) spadło z 25.8 do 17.8 g/dl.

Giacomini i wsp¹⁴¹ aktywowali próbki krwi ADP o stężeniu 20µmol/L. Po 60 min. inkubacji współczynnik korelacji pomiędzy obniżeniem MPC a odsetkiem płytek wykazujących ekspresję P-selektyny i granulofizyny wyniósł odpowiednio: -0,66 i -0,58.

Z kolei Charaf E i wsp¹⁴² poddali obserwacji grupę pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym, którzy zostali poddani PCI. Przed zabiegiem pacjenci otrzymali klopidoogrel w dawce 300 mg lub abcixymab w dawce 0.25 mg/kg m.c. Wyróżniono dwie grupy pacjentów: z dużą aktywnością płytek krwi przy przyjęciu do szpitala, która zmniejszyła się po zastosowaniu leczenia i z brakiem wykrywalnej aktywacji płytek przed i po leczeniu. Aktywację płytek oznaczano przy pomocy oceny ekspresji CD62P. Stwierdzono, że odsetek płytek z ekspresją CD62P był ujemnie skorelowany z wartością MPC u pacjentów przed podaniem leku ($r = -0,776$) i w trakcie leczenia ($r = -0,775$).

2. Ocena stężenia mikrocząstek pochodzenia płytkowego

Aktywacji płytek krwi towarzyszy proces odłączania przez nie mikrocząstek (PMP), lub mikropecherzyków (PMV), które wykazują właściwości prozakrzepowe. Zjawisko odłączania fragmentów błony komórkowej przez zaktywowane komórki eukariotyczne i uwalniania ich do przestrzeni zewnątrzkomórkowej jest szeroko opisywane. Fragmenty te, nazwane mikropecherzykami (MV) lub mikrocząstkami (MP)¹⁴³⁻¹⁴⁶, są wykrywane w wielu płynach biologicznych, włączając krew obwodową¹⁴⁷⁻¹⁵². Mikropecherzyki odłączające się od płytek (PMV, MV) lub też mikrocząstki odłączające się od płytek (PMP, MP) powstają po stymulacji płytek między innymi trombiną lub kolagenem¹⁵⁰.

Zjawisko uwalniania MV z aktywowanych płytek zostało dobrze udokumentowane^{147,153}. W trombocytach następuje reakcja powstawania pęcherzyków równoczesowa z utworzeniem prozakrzepowej powierzchni. Powstaje ujemnie naładowana fosfolipidowa warstwa, a następnie z powierzchni błonowej oddzielają się mikrocząstki. Są one nośnikami czynnika tkankowego (TF- tissue factor), tworzą nowe miejsca wbudowywania czynnika krzepnięcia VIIIa i Va, wzmagają efektywność przejścia czynnika X w Xa i protrombiny w trombinę. Niektórzy podkreślają znaczącą rolę MV jako cząstek przekazujących sygnał do wnętrza komórki¹⁵⁴⁻¹⁵⁷. PMV zawierają na swojej powierzchni liczne białka, podobne, lecz nie identyczne z białkami obecnymi w błonie komórkowej cząsteczek, z których pochodzą.

Analiza uwalnianych mikrocząstek wykazuje różnice w ich budowie zależne od procesu powstawania^{147,150}. Na swojej powierzchni PMV mają liczne wyspecjalizowane receptory: glikoproteinę IIa/IIIa (CD41), Ib, IaIIa i selektynę P (CD62P)^{154,156}. Ponadto mogą zawierać aktywne biologicznie lipidy, sfingozynę (S1P) oraz kwas arachidonowy (AA)^{155,158-160}.

Interakcja PMV z komórkami docelowymi wywołuje różnorodne biologiczne następstwa, m. in. aktywację komórek śródbłonna, stymulację wydzielania cytokin, ekspresję czynnika tkankowego na powierzchni komórek śródbłonna¹⁶¹⁻¹⁶³ oraz chemotaksję monocytów^{143,161}.

Pod względem wielkości można wyróżnić dwa rodzaje PMV (izolowane przy różnych gradientach wirowania) – pęcherzyki uwalniane z powierzchni błon komórkowych, relatywnie większe, wielkości około 100 nm^{150,164} oraz egzosomy. Egzosomy, mniejsze cząstki (30–100 nm), są uwalniane w trakcie fuzji α -ziarnistości płytkowych z błoną komórkową, gdzie funkcjonują jako pęcherzyki związane z błoną komórkową; po egzocytocie, przenikają do przestrzeni pozakomórkowej¹⁴⁶.

PMV zbudowane są przede wszystkim z białek i lipidów, około 10% stanowią glikolipidy i glikoproteiny^{146,150}. Gęstość PMV jest ściśle związana z ilością białek, które mogą być biochemicznie aktywnymi składnikami błony komórkowej – receptorami, cząsteczkami adhezyjnymi, transporterami błonowymi, enzymami, włączając w to metaloproteinazy macierzy komórkowej (MMPs). PMV poprzez ich prozapalne działanie mogą przyczynić się do rozwoju miażdżycy tętnic¹⁶⁵, ponadto obecność mikrocząstek wykazano w ostrych zespołach wieńcowych, podczas angioplastyki wieńcowej, w cukrzycy¹⁶⁶⁻¹⁶⁹, ostrym udarze niedokrwinnym, chorobach naczyń obwodowych, rzucawce, chorobie Alzheimera¹⁶⁷, nocnej napadowej hemoglobinurii i niedokrwistości aplastycznej¹⁷⁰ oraz zakrzepowej płamicy małopłytkowej¹⁷¹.

Istnieje kilka metod oznaczania stężenia, wielkości, morfologii, a nawet składu biochemicznego mikrocząstek (MP), niezależnie od tego z jakich komórek pochodzą. Ze względu na technikę pomiaru metody te dzielą się na optyczne i nieoptyczne. Każda z nich posiada zalety, ale obarczona jest też wadami. Obecnie podstawową metodą z wyboru do oceny liczby MP są badania wykonywane na cytometrze przepływowym. Pozwalają one na ocenę dużej liczby MP (kilka tysięcy), a także uzyskanie informacji o ich rozmiarze i granularności. W badaniu stosuje się aneksynę V, która w obecności jonów Ca^{2+} wiąże się selektywnie z obecnymi na MP ujemnie naładowanymi fosfolipidami (głównie fosfatydyloseryną, będącą podstawowym markerem wszystkich MP). Z uwagi na fakt, że MP pochodzą z różnych komórek, do ich oceny używa się dodatkowego markera, który jest charakterystyczny dla danych komórek. Zwykle aneksyna V jest znakowana fikoerytryną (PE), a przeciwciała do identyfikacji pochodzenia MP izotiocyanianem fluoresceiny (FITC). Stosując przeciwciała skierowane przeciwko kilku antygenom komórkowym, sprzężone z różnymi chromoforami, można charakteryzować dużą liczbę antygenów na pojedynczej MP.

Jakkolwiek analiza cytometryczna MP nie jest łatwa, to metoda ta jest ciągle „złotym standardem” ich identyfikacji. Aby jakość uzyskanego pomiaru była zadowalająca aparat winien być odpowiednio skalibrowany (mała wielkość i zoptymalizowany kształt komory przepływowej) a materiał do badań starannie przygotowany (wirowanie na wysokich obrotach, a czasem nawet filtrowanie osocza).

Interesującym testem, którego metodyka opiera się na wykorzystaniu prokoagulacyjnych właściwości mikrocząstek pochodzenia płytkowego jest test Zymuphen MP-activity firmy HYPHEN BioMed Research. Oznaczenie jest wykonywane na płytkach ELISA, których dołki reakcyjne pokryte są streptawidyną i aneksyną V. Po dodaniu osocza do pól reakcyjnych następuje przyłączanie obecnych w nim mikrocząstek do aneksyny V. Po inkubacji dodaje się mieszaninę Xa-Va z jonami wapnia i protrombinę. Fosfolipidowa powierzchnia mikrocząstek służy jako matryca, na której kompleks Xa-Va, w obecności jonów wapnia, przekształca protrombinę w trombinę. Kolejnym krokiem jest dodanie substratu dla wygenerowanej trombiny. Ilość wytworzonego chromogennego produktu oznacza się spektrofotometrycznie, przy długości fali 405 nm.

Z nowych badań wynika, że mikrocząstki zawierające czynnik tkankowy odgrywają dużą rolę w procesie generacji trombiny i tworzenia się zakrzepu.

2. Cele pracy

1. Ocena wpływu koronarografii i implantacji stentu do naczyń wieńcowych serca na:
 - a) morfologię płytek (ilość, objętość, gęstość i masę)
 - b) czynność płytek (agregacja pod wpływem ADP, keasu arachidonowego, kolagenu i adrenaliny)
 - c) generację mikrocząstek o działaniu prozakrzepowymu chorych przyjmujących lek antyagregacyjny z grupy tienopirydyn łącznie z ASA

2. Ocena korelacji markerów aktywacji płytek i ich degranulacji (gęstość trombocytów /stężenie mikrocząstek o działaniu prozakrzepowym) z agregacją.

3. Ocena skuteczności leczenia przeciwplatekowego u pacjentów poddanych koronarografii i implantacji stentów

3. Materiały i metody

Badaniami objęto 130 pacjentów (76 mężczyzn i 54 kobiety) z rozpoznaną chorobą niedokrwienną serca, przyjętych do Szpitala Wojewódzkiego w Poznaniu, w celu wykonania planowej koronarografii i 26 osób zdrowych (dawców krwi), nie przyjmujących leków przeciwplatek. Z badań wyłączeni zostali pacjenci, którzy przyjmowali przed badaniem inne niż pochodne tienopirydyny i ASA leki wpływające na hemostazę (acenokumarol, steroidowe i niesteroidowe leki przeciwzapalne).

Badania rozpoczęto 03 czerwca 2008 roku a zakończono 13 października 2010 roku.

Przedział wiekowy pacjentów: 35-81 lat

Średnia wieku pacjentów: 61 lat

Pacjentom, oprócz choroby niedokrwiennej serca, postawiono również następujące rozpoznania:

rozpoznanie	Liczba pacjentów w sumie	Bez wszczepiania stentów	Wszczepiane stenty
Nadciśnienie tętnicze	103	74	29
Miażdżyca tętnic wieńcowych	78	43	35
Dyslipidemia	68	49	19
Cukrzyca	31	22	9
Niewydolność serca	26	16	10
Zawał serca w wywiadzie	29	20	9
Udar niedokrwienny mózgu w wywiadzie	6	5	1

Przed planowanym badaniem pacjenci pobierali przez 7 dni skojarzone, podwójne leczenie przeciwplatekowe (tzn.: kłopidogrel 1x75 mg/dobę łącznie z ASA 1x75 mg/dobę lub tiklopidyna 2x250 mg/dobę łącznie z ASA 1x75 mg/dobę).

ASA przyjęły 132 osoby, kłopidogrel 64, tiklopidynę 68.

W zależności od wyniku angiografii wieńcowej pacjenci zostali podzieleni na dwie grupy:

1. Pacjenci niezakwalifikowani do wszczepienia stentów, którzy po planowym badaniu zaprzestali stosowania leków z grupy tienopirydyn (w przypadku nie przebytego w odstępie roku od badania zawału mięśnia sercowego) i kontynuowali przewlekłe leczenie ASA (n = 95)
2. Pacjenci zakwalifikowani do PCI z wszczepieniem stentów metalowych (BMS) lub uwalniających leki antymitotyczne (DES). W zależności od implantowanego stentu pacjenci kontynuowali podwójne leczenie przeciwplatekowe przez: 4 tygodnie (BMS) lub 12 miesięcy (DES) (n = 35)

Podwójne leczenie przeciwplatek kontynuowano pod postacią następujących leków: ASA: 34 , kłopidogrel: 32, tiklopidyna: 2

Od wykonania koronarografii odstąpiono w przypadku dwóch pacjentów (kobiety i mężczyzny). Z uwagi na fakt, że wykonano u tych osób badania przed koronarografią wyniki tych badań ujęto również w opracowaniu i włączono do pierwszej grupy.

Koronarografia była wykonywana u badanych pacjentów w Pracowni Kardiologii Inwazyjnej Szpitala Wojewódzkiego w Poznaniu, z nakłucia techniką Seldingera prawej bądź lewej tętnicy udowej z użyciem standardowych cewników diagnostycznych typu Judkins, kalibru 6 F (French). Angiogram każdej tętnicy był rejestrowany w co najmniej dwóch przeciwstawnych projekcjach. Analiza jakościowa wykrytych zwężeń była dokonywana przy pomocy programu kalkulacyjnego QCA firmy Philips.

Podczas PCI pacjentom podano dożylnie heparynę niefrakcjonowaną - bolus 70 j.m./kg m.c

Pacjentom wszczepiono następujące stenty:

RODZAJ STENTU	ILOŚĆ WSZCZEPIONYCH STENTÓW
BMS	40
LIBERTE	14
VISION, MINI VISION, ML VISION	6
COROFLEX, COROFLEX BLUE	5
GAZELLE	4
CLEARFLEX	4
EVOLUTION	2
PRO KINETIC	2
ZETA, ML ZETA	2
GENIUS MAGIC	1
DES	5
TAXUS, TAXUS LIBERTE	3
XIENCE	1
ENDEAVOR	1

26 pacjentom wszczepiono jeden stent, 8 pacjentom wszczepiono dwa stenty, 1 pacjentowi wszczepiono trzy stenty.

Od pacjentów obu badanych grup przed badaniem, następnego dnia po badaniu oraz miesiąc po badaniu zostały pobrane próbki krwi w celu wykonania następujących oznaczeń:

- liczba płytek krwi, średnia objętość, średnia gęstość i średnia masa płytek krwi (odpowiednio: PLT, MPV, MPC, MPM)
- zmiana MPV, MPC i MPM pod wpływem roztworu ADP o stężeniu w próbie 20 μ M/L;
- intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem aktywatorów (ADP, kwas arachidonowy, kolagen, adrenalina)
- stężenie mikrocząstek (MP) o właściwościach prozakrzepowych w osoczu.

W dniu zabiegu, w godzinach popołudniowych została pobrana próbka krwi w celu wykonania oznaczenia troponiny (Tn) i/lub izoenzymu MB kinazy kreatynowej (CKMB)

Próbki krwi pobierano z żyły łokciowej metodą próżniową, do jednorazowych probówek firmy Sarsted. Do oznaczenia Tn i CKMB krew pobierana była bez użycia antykoagulantu.

W przypadku pozostałych oznaczeń użyto następujących antykoagulantów:

Badany parametr	Zastosowany antykoagulant
PLT	wersenian sodu (EDTA) o stężeniu 74 mmol/L
MPV, zmiana MPV pod wpływem ADP	
MPC, zmiana MPC pod wpływem ADP	
MPM, zmiana MPM pod wpływem ADP	
Intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem aktywatorów	cytrynian sodu o stężeniu 109 mmol/L
Stężenie MP o właściwościach prozakrzepowych	

Badania Tn i CKMB wykonywano w surowicy krwi odwirowanej przez 5 min przy 10.000 obr/min na aparatach: Vitros 2500 firmy Johnson&Johnson, Dimension Xpand firmy Siemens.

PLT, MPV, MPC i MPM oraz zmianę w/w parametrów płytkowych pod wpływem ADP oceniano we krwi pełnej przy użyciu analizatora hematologicznego ADVIA 120 firmy Siemens.

Analiza płytek krwi w analizatorze ADVIA 120 opiera się na zasadzie teorii fizycznej MIE - dyskryminacja cząstek sferycznych w oparciu o pomiar kąta załamania światła laserowego rozproszonego przez te cząstki.

Etapy analizy wyglądają następująco:

1. Mieszanie w komorze reakcyjnej aparatu porcji krwi z odczynnikiem sferującym izowolumetrycznie płytki krwi
2. Przepływ powstałej zawiesiny komórkowej przez kuwetę z jednoczesnym pomiarem rozproszenia światła laserowego padającego na płytki krwi (przepływ regulowany przez ogniskowanie hydrodynamiczne)
3. Dwuwymiarowa analiza (2D-PLT) każdego trombocyta przy pomocy pomiaru sygnałów świetlnych otrzymywanych na poziomie niskim i wysokokątowym
4. Uzyskanie następujących parametrów:
 - PLT – ilość sygnałów świetlnych
 - MPV – detektor niskiego kąta
 - MPC – detektor wysokiego kąta
 - MPM – MPC skorygowana przez MPV

Pomiarów w/w parametrów dokonywano w czasie 20-60 min od momentu pobrania krwi.

Do wywołania zmiany gęstości, objętości i masy płytek krwi zastosowano wodny roztwór ADP firmy SIGMA o stężeniu 200µm/L. Aby uzyskać stężenie 20 µM/L do 2,7 ml krwi (objętość krwi w próbówce) dodawano 270 µL ADP o stężeniu 200 µM/L. Do rozpuszczenia liofilizatu ADP stosowano wodę destylowaną.

Zmianę wspomnianych parametrów oceniano następująco:

1. pomiar w/w parametrów po 20-60 min od pobrania krwi
2. niezwłoczne dodawanie do próbówki roztworu ADP
3. powtórny pomiar w/w parametrów po 60 min od dodania ADP

Intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem aktywatorów oceniano w osoczu, w którym stężenie płytek krwi wynosiło 250.000+/- 25.000/ μ L.

W tym celu krew pacjentów wirowano 10 min, 800 obr/min, w temperaturze pokojowej, a następnie uzyskane w ten sposób osocze bogatopłytkowe (PRP) rozcieńczano odpowiednio osoczem ubogopłytkowym (PPP), uzyskanym przez wirowanie krwi 20 min, 5.000 obr/min, w temperaturze pokojowej. Intensywność agregacji oceniano przy użyciu aparatu BCT firmy Siemens, po zastosowaniu następujących aktywatorów:

Aktywator	Stężenie aktywatora w analizowanej próbce	Producent aktywatora
Kwas arachidonowy	0,5 mM/L	Dynabyte
ADP	20 μ M/L	Siemens
Kolagen	0,2 mg/ml	Siemens
Adrenalina	0,01%	Polfa

Ocena agregacji płytek krwi na analizatorze BCT opiera się na zasadzie pomiaru nefelometrycznego przejrzystości ośrodka jakim jest zawiesina płytek w osoczu. Pomiar dokonywany jest w sposób ciągły przez 3 min od momentu dodania do zawiesiny płytek aktywatora wywołującego ich agregację. Agregujące płytki krwi opadają na dno kuwety reakcyjnej, a zmniejszająca się przez to ich liczba w zawieszynie powoduje wzrost przejrzystości ośrodka. Analizator wykreśla krzywą zmian gęstości ośrodka (co odpowiada intensywności agregacji) i wylicza następujące dane:

1. przejrzystość ośrodka przed dodaniem aktywatora
2. przejrzystość ośrodka 3 min po dodaniu aktywatora
3. maksymalną prędkość zmian gęstości ośrodka (co odpowiada maksymalnej prędkości agregacji)
4. kąt nachylenia krzywej zmian gęstości ośrodka (zwanej inaczej krzywą agregacji) w momencie maksymalnej prędkości zmian gęstości ośrodka (maksymalnej prędkości agregacji)
5. czas uzyskania maksymalnej prędkości zmian gęstości ośrodka od momentu dodania do zawiesiny aktywatora (co odpowiada czasowi, jaki upływa od dodania aktywatora do zawiesiny do momentu uzyskania przez zaktywowane płytki maksymalnej prędkości agregacji).

Przejrzystość ośrodka uzyskaną w dowolnej minucie trwania badania można samodzielnie wyliczyć analizując krzywą agregacji.

Do analizy charakteru agregacji płytek krwi pod wpływem kwasu arachidonowego, kolagenu i adrenaliny wykorzystano tylko dane opisujące intensywność ich agregacji po 3 min od momentu dodania aktywatora. Uzyskano tę wartość z różnicy przejrzystości ośrodka 3 min po i przed dodaniem aktywatora. W przypadku zastosowania jako aktywatora ADP oceniano maksymalną intensywność agregacji oraz czy występuje zjawisko dezagregacji (na podstawie różnicy pomiędzy maksymalną a minimalną intensywnością agregacji).

Stężenie MP o właściwościach prozakrzepowych oceniano w PPP przy użyciu testu Zymuphen MP-Activity. PPP uzyskiwano według zaleceń producenta testu: od pacjentów pobierano krew z dodatkiem cytrynianu sodu, następnie wirowano 10 min przy obrotach 3.000/min. Tak uzyskane osocze wirowano następnie 2 min przy obrotach 20.000/min, w temperaturze pokojowej i zamrażano do temp. -80°C do czasu wykonania testu.

Zasada metody testu ZYMUPHEN MP-Activity jest następująca:

1. Oznaczenie jest wykonywane na płytkach ELISA, których dołki reakcyjne pokryte są streptawidyną i aneksyną V.
2. Po dodaniu osocza cytrynianowego następuje w czasie inkubacji przyłączenie obecnych w nim mikrocząstek do aneksyny V.
3. Następnie dodaje się mieszaninę Xa-Va z jonami wapnia i protrombinę. Fosfolipidowa powierzchnia mikrocząstek służy jako matryca, na której kompleks Xa-Va w obecności jonów wapnia przekształca protrombinę w trombinę.
4. Kolejnym krokiem jest dodanie substratu dla wygenerowanej trombiny, a ilość wytworzonego chromogenego produktu oznacza się spektrofotometrycznie przy długości fali 405 nm.
5. Ilość wytworzonego chromogenego produktu jest wprost proporcjonalna do stężenia mikrocząstek

Nie wszyscy pacjenci posiadają założony komplet wyników. Wpłynęło na to kilka przyczyn:

1. problemy techniczne (aparaturowo-odczynnikowe):
nie wykonano siedmiu oznaczeń agregacji płytek krwi (trzech pod wpływem ADP i czterech pod wpływem kwasu arachidonowego)
2. problemy z pobraniem krwi w sposób, który warunkowałby wiarygodność uzyskanych wyników (zbyt długotrwały wypływ krwi z żyły, wystąpienie skrzepu):
nie wykonano czterech oznaczeń agregacji płytek krwi u tego samego pacjenta
3. nieprzybycie pacjenta na pobranie krwi następnego dnia i/lub po miesiącu od wykonania koronarografii bądź implantacji stentu:
nie wykonano badań u jednego pacjenta następnego dnia po implantacji stentu, u czterech pacjentów miesiąc po implantacji stentu, u dwóch pacjentów następnego dnia po koronarografii i u czterdziestu ośmiu pacjentów miesiąc po koronarografii
4. ograniczenia finansowe:
test ZYMUPHEN – MP Activity przeprowadzono na grupie 74 pacjentów i na grupie kontrolnej.

4. Wyniki

Wyniki opracowano według następującego schematu:

I. Otrzymane wartości badanych parametrów:

- ilość, objętość, gęstość i masa płytek krwi,
- zmiana objętości, gęstości i masy płytek krwi pod wpływem ADP,
- intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem: ADP, kwasu arachidonowego, kolagenu i adrenaliny
- stężenie mikrocząstek o właściwościach prozakrzepowych

umieszczono w tabelach (po dwie na każdy parametr).

W pierwszych tabelach usystematyzowano wyniki analizowanego parametru w oparciu o:

- a) rodzaj wykonywanych u badanych pacjentów podczas koronarografii procedur medycznych:
 - plastyka tętnic wieńcowych z implantacją stentu
 - koronarografia diagnostyczna
- b) rodzaj stosowanych przez badanych pacjentów leków przeciwplatekowych:
 - ASA + pochodna tienopirydyny: wszyscy pacjenci przed koronarografią; wszyscy pacjenci następnego dnia po koronarografii; pacjenci, którym implantowano stenty – próba pobrana miesiąc po koronarografii
 - ASA: miesiąc po koronarografii pacjenci, którym nie implantowano stentów
- c) czas pobrania próby do badań:
 - w dniu badania, przed koronarografią (przed),
 - następnego dnia po koronarografii (24h po),
 - miesiąc po koronarografii (miesiąc po)
- d) płeć badanych pacjentów:
 - mężczyźni (M)
 - kobiety (K)

W drugich tabelach zamieszczono wyniki wartości „p” określającej istotność statystyczną zmienności analizowanego parametru pomiędzy następującymi próbkami krwi (analiza w obrębie jednego pacjenta):

- przed koronarografią versus dzień po koronarografii (przed vs 24h po)
- przed koronarografią versus miesiąc po koronarografii (przed vs miesiąc po)

W celu lepszego zobrazowania wyników, uzyskane wartości przedstawiono w formie wykresów i porównano z wynikami uzyskanymi w próbie kontrolnej.

Wnioski dotyczące uzyskanych dla danego parametru wyników umieszczono na końcu każdego podrozdziału.

II Wyniki parametrów:

- troponina I
- CKMB masa

pochodzące z jednego pobrania krwi (w dniu wykonywania koronarografii, parę godzin po zabiegu) usystematyzowano w tabeli oparciu o:

- rodzaj wykonywanych u badanych pacjentów podczas koronarografii procedur medycznych: plastyka tętnic wieńcowych z implantacją stentu lub koronarografia diagnostyczna
- płeć badanych pacjentów: mężczyźni (M) i kobiety (K)

Uzyskane wyniki zobrazowano w formie wykresów i opatrzone komentarzem.

III W przypadku następujących par parametrów:

- zmiana gęstości płytek krwi pod wpływem ADP / zmiana objętości płytek krwi pod wpływem ADP
- zmiana gęstości płytek krwi pod wpływem ADP / zmiana masy płytek krwi pod wpływem ADP
- zmiana gęstości płytek krwi pod wpływem ADP / intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem ADP

dokonano analizy ich wzajemnej korelacji w następującej chronologii:

1. Wyniki uzyskane od pacjentów, którym podczas koronarografii implantowano stenty. Próbkę krwi pobrana:
 - w dniu badania, przed koronarografią
 - dzień po koronarografii
 - miesiąc po koronarografii
2. Wyniki uzyskane od pacjentów, którym podczas koronarografii nie implantowano stentów. Próbkę krwi pobrana:
 - parę godzin przed koronarografią
 - dzień po koronarografii
 - miesiąc po koronarografii

Wyniki analiz przedstawiono w formie wykresów.

Wnioski dotyczące uzyskanych wyników umieszczono na końcu każdego podrozdziału.

IV. Wyniki uzyskane w grupie kontrolnej

V. Charakterystyka pacjentów w kontekście ich profilu wrażliwości na leki przeciwplatekcyjne

4.1. Wpływ koronarografii, implantacji stentu oraz zastosowanych leków przeciwplatek na średnią wartość liczby płytek krwi (PLT)

Tabela 4.1.1.: Wartości PLT

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii						pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii					
	przed		24h po		miesiąc po		przed		24h po		miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
PLT *	237	241	230	238	235	227	221	253	225	253	216	235
SD *	58	45	58	40	54	23	54	62	52	64	64	60
WZ [%]	25	19	25	17	23	10	24	25	23	25	29	26
liczba pacj	25	10	25	9	23	8	51	44	49	42	23	22

* [$\times 10^3/\mu\text{L}$]

Tabela 4.1.2.: Zmienność PLT

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii				pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii			
	przed vs 24h po		przed vs miesiąc po		przed vs 24h po		przed vs miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K
p	0,121	0,652	0,207	0,416	0,123	0,989	0,404	0,080

Omówienie wyników:

- u wszystkich badanych pacjentów PLT była w granicach wartości referencyjnych,
- w grupie pacjentów, którym podczas koronarografii nie wszczepiono stentów średnie wartości PLT we wszystkich grupach były nieznamiennie wyższe u kobiet niż u mężczyzn, ta obserwacja nie dotyczy pacjentów, którym podczas koronarografii wszczepiono stenty – tu wartości były zbliżone u obu płci,
- nie zaobserwowano krótkotrwałego (jeden dzień), jak i długotrwałego (miesiąc) wpływu koronarografii na PLT,
- nie zaobserwowano krótkotrwałego (jeden dzień), jak i długotrwałego (miesiąc) wpływu implantacji stentu na PLT,
- średnie wartości PLT, SD i WZ u badanych pacjentów były zbliżone do wartości uzyskanych w grupie kontrolnej

4.2. Wpływ koronarografii, implantacji stentu, stosowanych leków przeciwplatek oraz ADP na średnią wielkość objętości płytek krwi (MPV)

Tabela 4.2.1.: Wartości MPV

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii						pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii					
	przed		24h po		miesiąc po		przed		24h po		miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
MPV *	8,9	8,6	8,9	8,6	8,7	8,4	8,8	8,8	8,7	8,8	8,9	8,8
SD *	0,8	0,6	0,8	0,4	0,7	0,3	0,8	0,9	0,8	0,9	0,7	0,7
WZ [%]	9	8	9	5	9	4	9	10	9	11	8	8
liczba pacj	25	10	25	9	23	8	51	44	49	42	23	22

* [fL]

Tabela 4.2.2.: Zmienność MPV

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii				pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii			
	przed vs 24h po		przed vs miesiąc po		przed vs 24h po		przed vs miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K
p	0,625	0,473	0,461	0,529	0,0006	0,140	0,897	0,135

Omówienie wyników:

- MPV u badanych pacjentów uzyskało wartości prawidłowe we wszystkich analizowanych grupach,
- wartości MPV we wszystkich badanych grupach były podobne,
- nie zaobserwowano krótkotrwałego (jeden dzień), jak i długotrwałego (miesiąc) wpływu koronarografii na MPV
- nie zaobserwowano krótkotrwałego (jeden dzień), jak i długotrwałego (miesiąc) wpływu implantacji stentu na MPV
- średnie wartości MPV, SD i WZ u badanych pacjentów były zbliżone do wartości uzyskanych w grupie kontrolnej

Tabela 4.2.3.: Wzrost MPV pod wpływem ADP

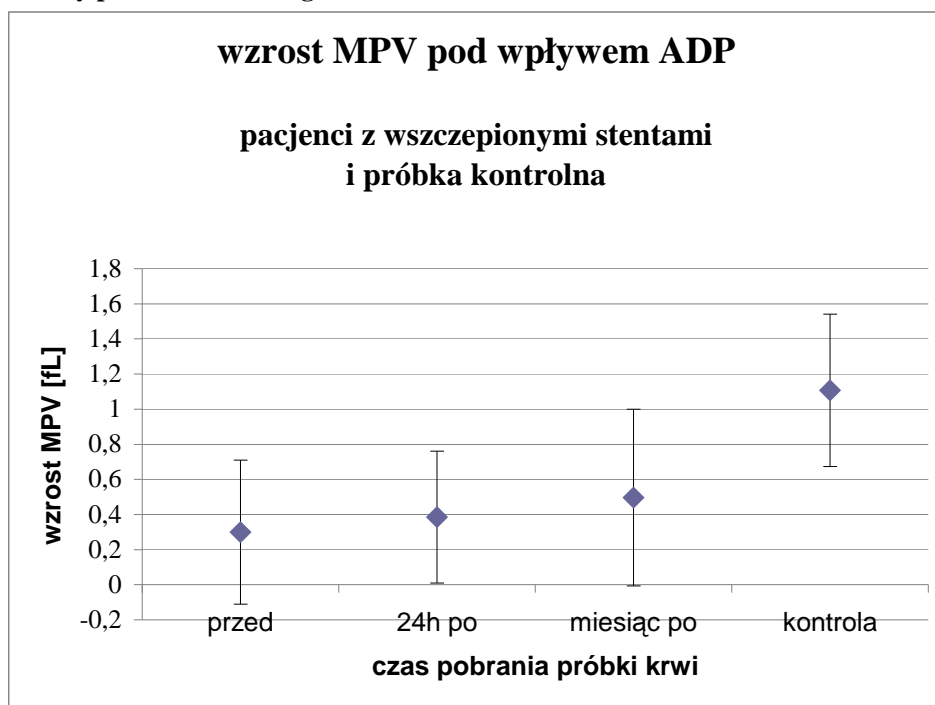
	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii						pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii					
	przed		24h po		miesiąc po		przed		24h po		miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
↑MPV ¹	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,8	0,3	0,4	0,4	0,4	0,8	0,9
SD ²	0,4	0,4	0,3	0,5	0,5	0,5	0,4	0,3	0,3	0,5	0,4	0,4
WZ [%]	129	167	91	114	115	74	140	72	83	123	55	41
liczba pacj	25	10	25	9	23	8	51	44	49	42	23	22

¹ wzrost MPV pod wpływem ADP [fL], ² [fL]

Tabela 4.2.4.: Zmienność wzrostu MPV pod wpływem ADP

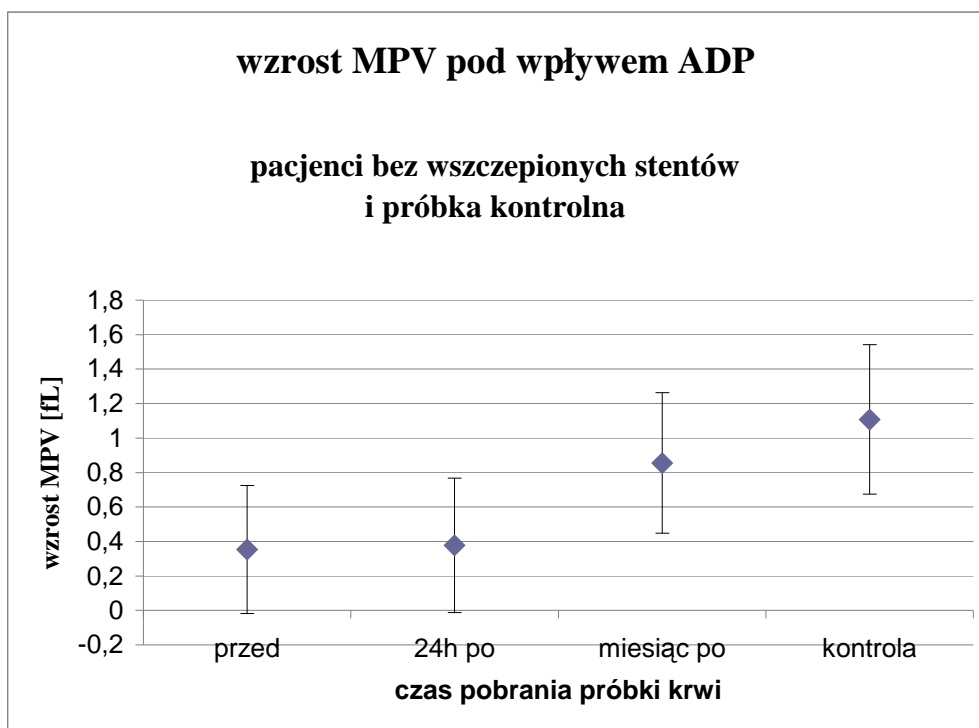
	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii				pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii			
	przed vs 24h po		przed vs miesiąc po		przed vs 24h po		przed vs miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K
p	0,606	0,229	0,073	0,0199	0,224	0,669	0,00005	0,000000

Wykres 4.2.1.: Zmienność wzrostu MPV pod wpływem ADP występująca u pacjentów, którym wszczepiono stenty podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Wykres 4.2.2.: Zmienność wzrostu MPV pod wpływem ADP występująca u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Omówienie wyników:

- po dodaniu roztworu ADP do próbek krwi pacjentów i uzyskaniu w nich stężenia ADP 20 μ mol/l zaobserwowano wzrost MPV we wszystkich badanych grupach,
- duże wzrosty MPV wystąpiły w próbkach krwi pobranych od pacjentów obu płci po miesiącu od koronarografii, podczas której nie wszczepiono stentów (jest to jedyna z badanych grup, w której pacjenci nie przyjmowali pochodnych tienopirydyny), podobne wartości uzyskano w próbie kontrolnej,
- w w/w grupie pacjentów wystąpiła również istotna statystycznie różnica we wzroście MPV w stosunku do wyników uzyskanych z prób pobranych przed koronarografią, obserwacja dotyczy obu płci,
- w pozostałych grupach nie zaobserwowano istotnych statystycznie zmian wzrostu MPV pod wpływem ADP

4.3. Wpływ koronarografii, implantacji stentu, stosowanych leków przeciwplatek oraz ADP na średnią gęstość płytek krwi (MPC)

Tabela 4.3.1.: Wartości MPC

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii						pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii					
	przed		24h po		miesiąc po		przed		24h po		miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
MPC*	26,7	26,0	26,8	26,0	26,6	26,3	26,3	26,9	26,7	26,8	26,4	26,8
SD*	0,9	1,2	0,9	1,0	1,4	0,4	1,1	0,9	0,8	0,7	0,7	0,9
WZ [%]	3	5	3	4	5	2	4	3	3	2	3	3
liczba pacj	25	10	25	9	23	8	51	44	49	42	23	22

* [g/dL]

Tabela 4.3.2.: Zmienność MPC

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii				pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii			
	przed vs 24h po		przed vs miesiąc po		przed vs 24h po		przed vs miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K
p	0,483	-1,254	0,577	-1,239	0,001	0,462	0,284	0,750

Omówienie wyników:

- średnia MPC u badanych pacjentów uzyskała wartość prawidłową we wszystkich analizowanych grupach,
- średnie wartości MPC we wszystkich badanych grupach były zbliżone do siebie i do średniej uzyskanej w próbie kontrolnej,
- nie zaobserwowano krótkotrwałego (jeden dzień), jak i długotrwałego (miesiąc) wpływu koronarografii na MPC
- nie zaobserwowano krótkotrwałego (jeden dzień), jak i długotrwałego (miesiąc) wpływu implantacji stentu na MPC

Tabela 4.3.3.: Wartości spadku MPC pod wpływem ADP

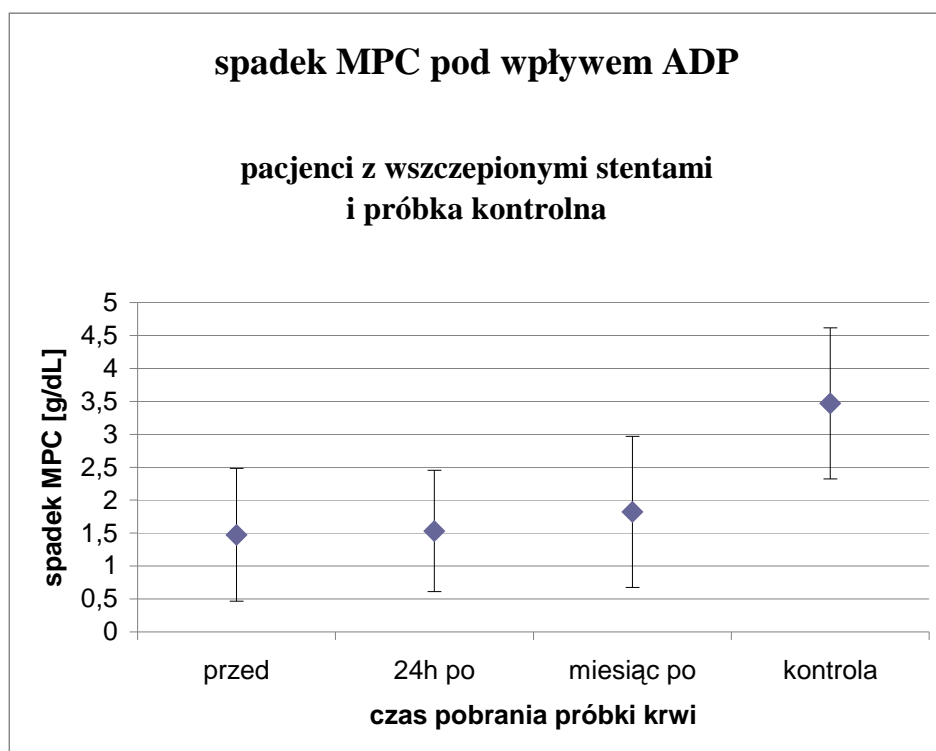
	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii						pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii					
	przed		24h po		miesiąc po		przed		24h po		miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
↓MPC ¹	1,5	1,4	1,5	1,7	1,7	2,1	1,6	1,7	1,7	1,5	3,0	3,4
SD ²	0,9	1,4	0,8	1,2	1,1	1,3	1,2	0,9	0,9	0,6	1,1	0,9
WZ [%]	58	94	57	69	63	65	75	51	52	41	36	28
liczba pacj	25	10	25	9	23	8	51	44	49	42	23	22

¹ spadek MPC pod wpływem ADP [g/dL], ² [g/dL]

Tabela 4.3.4.: Zmienność spadku MPC pod wpływem ADP

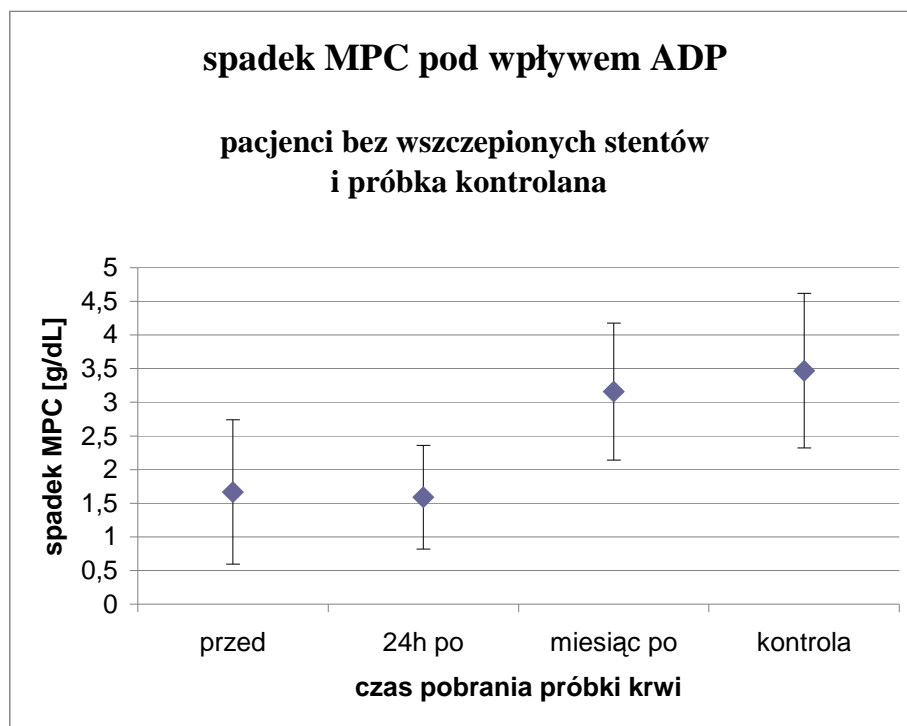
	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii				pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii			
	przed vs 24h po		przed vs miesiąc po		przed vs 24h po		przed vs miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K
p	0,915	0,338	0,117	0,057	0,731	0,071	0,0001	0,0000

Wykres 4.3.1.: Zmienność spadku MPC pod wpływem ADP występująca u pacjentów, którym wszczepiono stenty podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Wykres 4.3.2.: Zmienność spadku MPC pod wpływem ADP występująca u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Omówienie wyników:

- po dodaniu roztworu ADP do próbek krwi pacjentów i uzyskania w nich stężenia ADP $20\mu\text{mol/L}$ zaobserwowano spadek MPC we wszystkich badanych grupach,
- wielkości spadku MPC były porównywalne w grupie pacjentów, którym wszczepiono stenty (dotyczy wszystkich trzech prób: przed koronarografią, dzień po koronarografii i miesiąc po koronarografii), wielkość ta była również porównywalna z wartością uzyskaną u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów, ale tylko w próbach pobranych przed koronarografią i dzień po koronarografii
- w grupie pacjentów, którym nie wszczepiono stentów podczas koronarografii uzyskano w próbie pobranej miesiąc po koronarografii (jest to jedyna z badanych grup, w której pacjenci nie przyjmowali pochodnych tienopirydyny) wartość spadku MPC dwukrotnie wyższą niż w pozostałych próbach; wartość ta jest zbliżona do średniej uzyskanej w próbie kontrolnej

4.4. Wpływ koronarografii, implantacji stentu, stosowanych leków przeciwplatek oraz ADP na średnią wielkość masy płytek krwi (MPM)

Tabela 4.4.1.: Wartości MPM

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii						pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii					
	przed		24h po		miesiąc po		przed		24h po		miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
MPM*	2,24	2,13	2,24	2,13	2,16	2,10	2,19	2,24	2,20	2,23	2,21	2,24
SD*	0,19	0,12	0,19	0,14	0,17	0,11	0,20	0,20	0,20	0,20	0,19	0,18
WZ [%]	9	6	8	7	8	5	9	9	9	9	9	8
liczba pacj	25	10	25	9	23	8	51	44	49	42	23	22

* [pg]

Tabela 4.4.2.: Zmienność MPM

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii				pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii			
	przed vs 24h po		przed vs miesiąc po		przed vs 24h po		przed vs miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K
p	0,843	0,877	0,026	0,791	0,652	0,891	0,131	0,889

Omówienie wyników:

- MPM u badanych pacjentów uzyskało wartości prawidłowe we wszystkich analizowanych grupach,
- wartości MPM we wszystkich badanych grupach były zbliżone do siebie,
- nie zaobserwowano krótkotrwałego (jeden dzień), jak i długotrwałego (miesiąc) wpływu koronarografii na MPM
- nie zaobserwowano krótkotrwałego (jeden dzień), jak i długotrwałego (miesiąc) wpływu implantacji stentu na MPM

Tabela 4.4.3.: Wartości spadku MPM pod wpływem ADP

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii						pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii					
	przed		24h po		miesiąc po		przed		24h po		miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
↓MPM ¹	0,04	0,05	0,03	0,04	0,03	0,03	0,05	0,04	0,04	0,03	0,06	0,07
SD ²	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,02	0,05	0,04	0,03	0,04	0,05	0,04
WZ [%]	95	75	141	89	147	98	108	96	79	127	94	62
liczba pacj	25	10	25	9	23	8	51	44	49	42	23	22

¹spadek MPM pod wpływem ADP [pg], ² [pg]

Tabela 4.4.4.: Zmienność spadku MPM pod wpływem ADP

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii				pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii			
	przed vs 24h po		przed vs miesiąc po		przed vs 24h po		przed vs miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K
p	0,394	0,709	0,296	0,305	0,612	0,491	0,233	0,072

Omówienie wyników:

- po dodaniu roztworu ADP do próbek krwi pacjentów i uzyskaniu w nich stężenia ADP 20 µmol/L zaobserwowano spadek MPM we wszystkich badanych grupach,
- różnice w wielkości spadków pomiędzy poszczególnymi grupami pacjentów nie były statystycznie istotne

4.5. Wpływ koronarografii, implantacji stentu oraz stosowanych leków przeciwplatek na intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem ADP

Tabela 4.5.1.: Wartości maksymalnej intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem ADP

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii						pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii					
	przed		24h po		miesiąc po		przed		24h po		miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
ADPmax ¹	53	60	51	58	57	58	57	56	52	54	72	73
SD ²	13	15	12	15	13	14	14	13	15	11	9	9
WZ [%]	24	26	24	26	23	24	24	24	29	21	13	12
liczba pacj	25	10	25	9	22	8	50	44	47	42	23	22

¹ maksymalna intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem ADP [%], ²[%]

Tabela 4.5.2.: Zmienność maksymalnej intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem ADP

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii				pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii			
	przed vs 24h po		przed vs miesiąc po		przed vs 24h po		przed vs miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K
p	0,217	0,811	0,507	0,918	0,0005	0,462	0,0007	0,000001

Tabela 4.5.3.: Wartości minimalnej intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem ADP

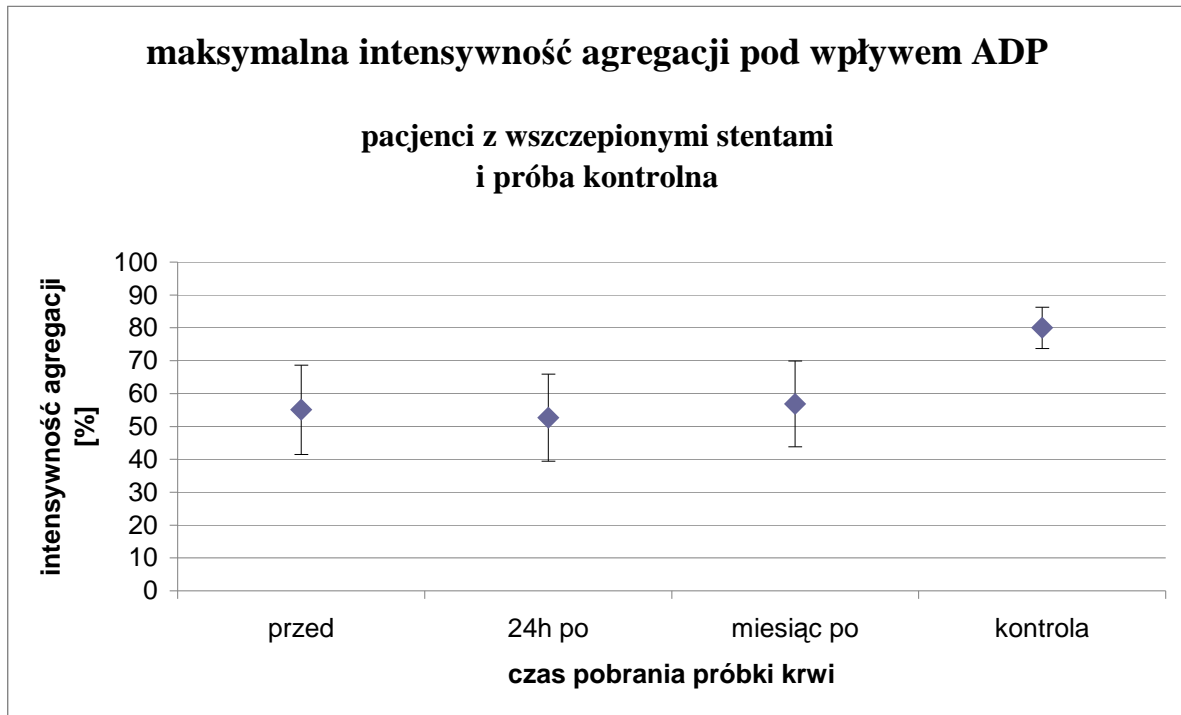
	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii						pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii					
	przed		24h po		miesiąc po		przed		24h po		miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
ADPmin ¹	35	49	34	47	42	46	44	38	37	38	71	73
SD ²	19	24	19	21	19	22	21	21	20	16	11	9
WZ [%]	55	49	56	45	46	47	45	53	54	43	15	12
liczba pacj	25	10	25	9	22	8	51	44	49	42	23	22

¹ minimalna intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem ADP [%], ²[%]

Tabela 4.5.4.: Zmienność minimalnej intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem ADP

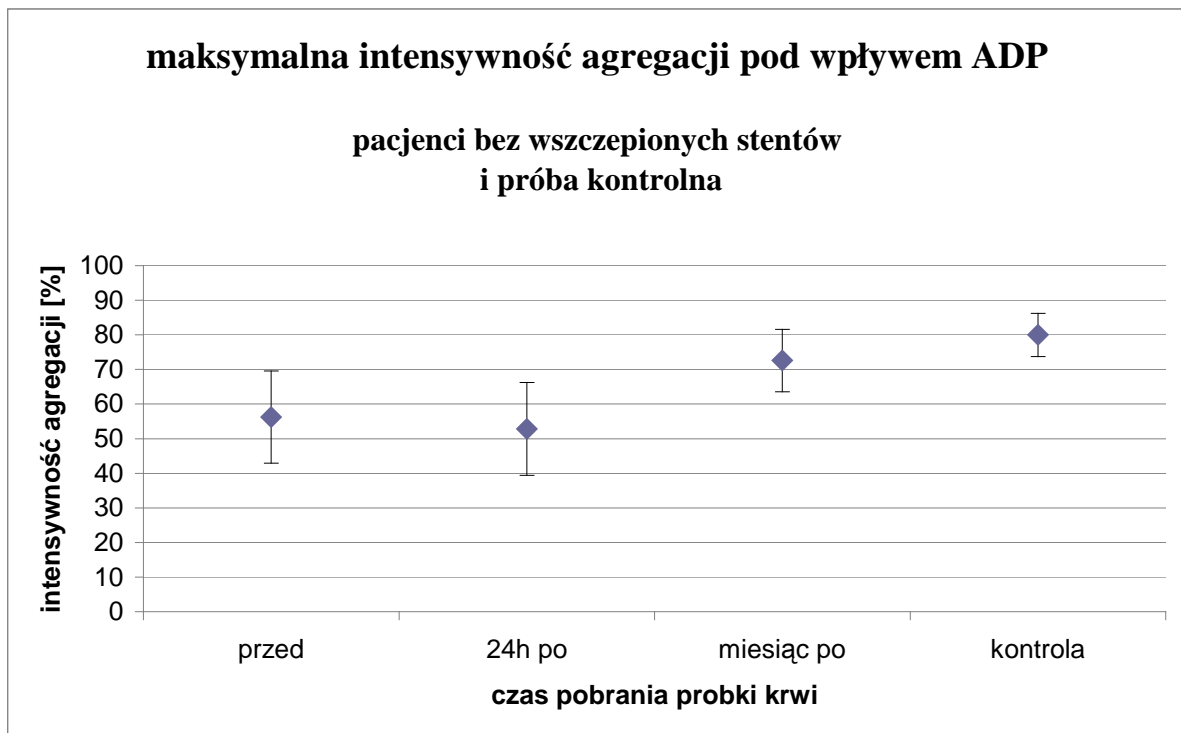
	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii				pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii			
	przed vs 24h po		przed vs miesiąc po		przed vs 24h po		przed vs miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K
p	0,652	0,813	0,328	0,723	0,0003	0,956	0,00005	0,000000

Wykres 4.5.1.: Zmienność maksymalnej intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem ADP występująca u pacjentów, którym wszczepiono stenty podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Wykres 4.5.2.: Zmienność maksymalnej intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem ADP występująca u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Omówienie wyników:

1. Uzyskane wyniki różnią się w zależności od stosownych przez pacjentów leków:

a) pacjenci przyjmujący ASA i pochodne tienopirydyny (wszystkie grupy poza pacjentami miesiąc po koronarografii bez wszczepienia stentów):

- uzyskali we wszystkich grupach podobną średnią zarówno maksymalnej jak i minimalnej intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem ADP; nie oznacza to jednak, że poszczególni pacjenci uzyskali zbliżone wyniki agregacji – odchylenia standardowe wspomnianych średnich są bardzo duże, co oznacza, że występowały zarówno pacjenci charakteryzujący się dużą jak i małą intensywnością agregacji (dokładne dane liczbowe znajdują się w rozdziale 4.16)
- uzyskali średnie wartości minimalnej intensywności agregacji niższe od średnich wartości maksymalnej intensywności agregacji – co świadczy o występowaniu dezagregacji
- średnie wartości intensywności agregacji badanych pacjentów są o połowę niższe od wartości uzyskanych w próbie kontrolnej,
- wysokie wartości agregacji płytek krwi pod wpływem ADP u pacjentów przyjmujących pochodne tienopirydyny świadczą o braku lub niedostatecznej odpowiedzi na w/w leki, co z kolei sugerować może oporność na wspomniane leki lub niedostateczną ich podaż (problem prawdomówności pacjentów); rozróżnienie tych dwóch stanów jest w przypadku zastosowanej w badaniach metodyki niemożliwe,

b) pacjenci przyjmujący ASA i nie przyjmujący pochodnych tienopirydyny:

- uzyskali bardziej jednorodne wyniki niż pozostali pacjenci (SD jest o połowę mniejsze niż w pozostałych grupach),
- średnie wartości intensywności agregacji są dużo (prawie o 50%) wyższe niż w pozostałych grupach, zbliżone do wartości uzyskanych w próbie kontrolnej,
- średnie wartości maksymalnej intensywności agregacji są zbliżone do średnich wartości minimalnej intensywności agregacji, co świadczy o niewystępowaniu zjawiska dezagregacji,

2. Nie stwierdzono istotnego wpływu implantacji stentu na wielkość intensywności agregacji płytek pod wpływem ADP

4.6. Wpływ koronarografii, implantacji stentu oraz stosowanych leków przeciwplatek na intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem kwasu arachidonowego

Tabela 4.6.1.: Wartości intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem kwasu arachidonowego

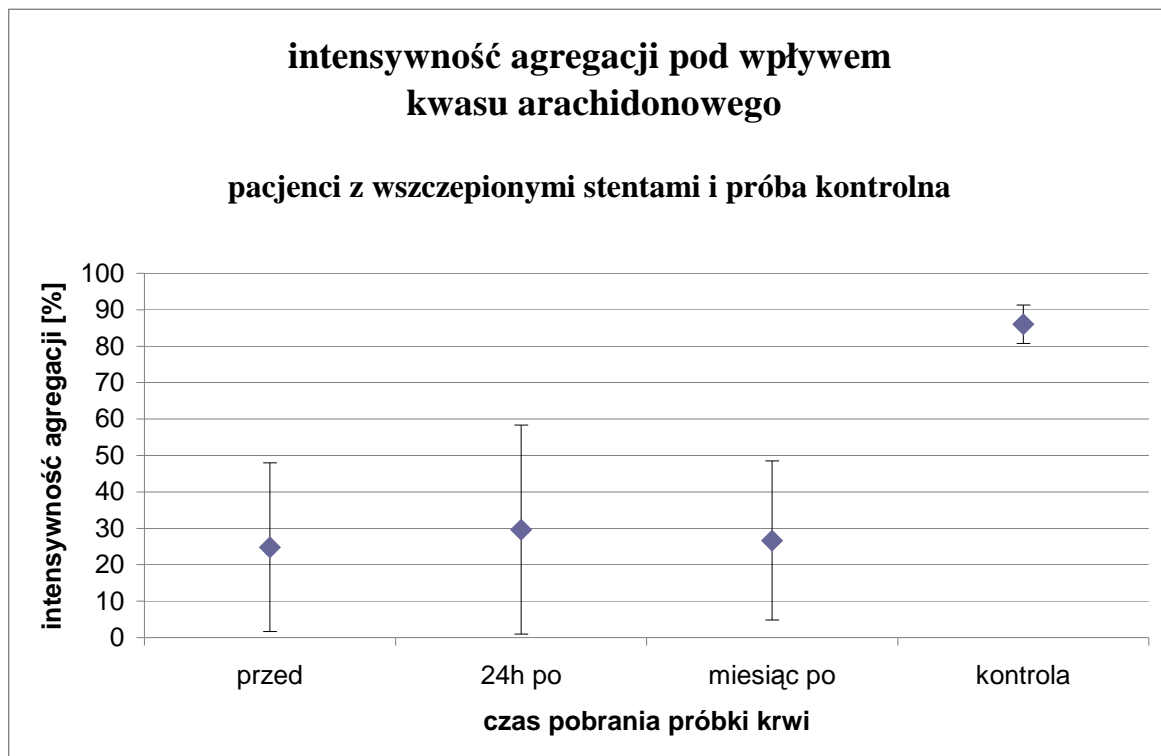
	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii						pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii					
	przed		24h po		miesiąc po		przed		24h po		miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
AA *	23	29	29	33	26	28	25	25	24	26	34	34
SD [%]	24	23	29	31	22	24	19	23	20	25	24	28
WZ [%]	104	74	100	94	83	85	75	92	84	94	71	82
liczba pacj	24	10	25	8	22	8	51	44	49	41	23	21

*intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem kwasu arachidonowego[%]

Tabela 4.6.2.: zmienność intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem kwasu arachidonowego

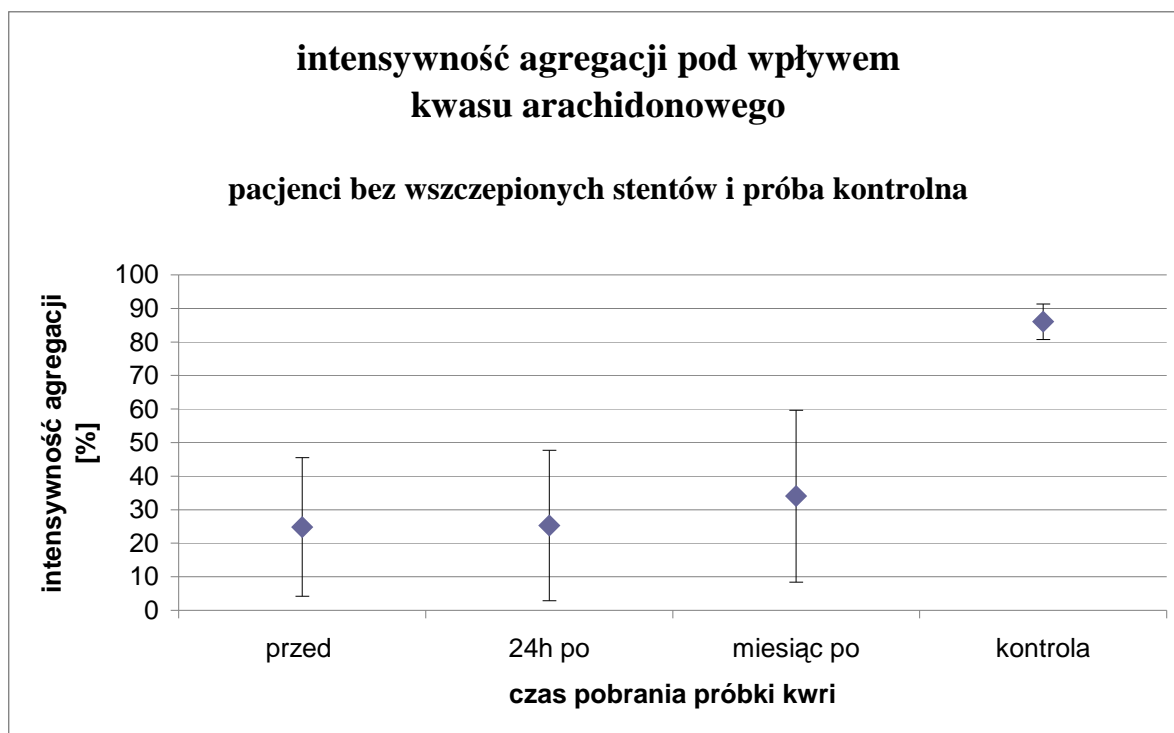
	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii				pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii			
	przed vs 24h po		przed vs miesiąc po		przed vs 24h po		przed vs miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K
p	0,183	0,865	0,671	0,621	0,980	0,539	0,215	0,104

Wykres 4.6.1.: Zmienność intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem kwasu arachidonowego występująca u pacjentów, którym wszczepiono stenty podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Wykres 4.6.2.: Zmienność intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem kwasu arachidonowego występująca u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Omówienie wyników:

- we wszystkich badanych grupach średnia intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem kwasu arachidonowego osiągnęła podobne, niskie wartości; nie oznacza to jednak, że w/w pacjenci uzyskali niskie wyniki agregacji – odchylenia standardowe wspomnianych średnich są bardzo duże, co oznacza, że występowały zarówno pacjenci o dużej jak i o małej intensywności agregacji (dokładne dane liczbowe znajdują się w rozdziale 4.16),
- wysokie wartości agregacji płytek krwi pod wpływem kwasu arachidonowego u pacjentów przyjmujących kwas acetylosalicylowy świadczą o braku lub niedostatecznym jego działaniu, co z kolei sugerować może oporność na wspomniany lek lub niedostateczną jego podaż (problem prawdziwości pacjentów); rozróżnienie tych dwóch stanów jest w przypadku zastosowanej w badaniach metodyki niemożliwe,
- nie stwierdzono istotnego wpływu ani koronarografii ani implantacji stentu na wielkość intensywności agregacji płytek pod wpływem kwasu arachidonowego

4.7. Wpływ koronarografii, implantacji stentu oraz stosowanych leków przeciwplatek na intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem kolagenu

Tabela 4.7.1.: Wartości intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem kolagenu

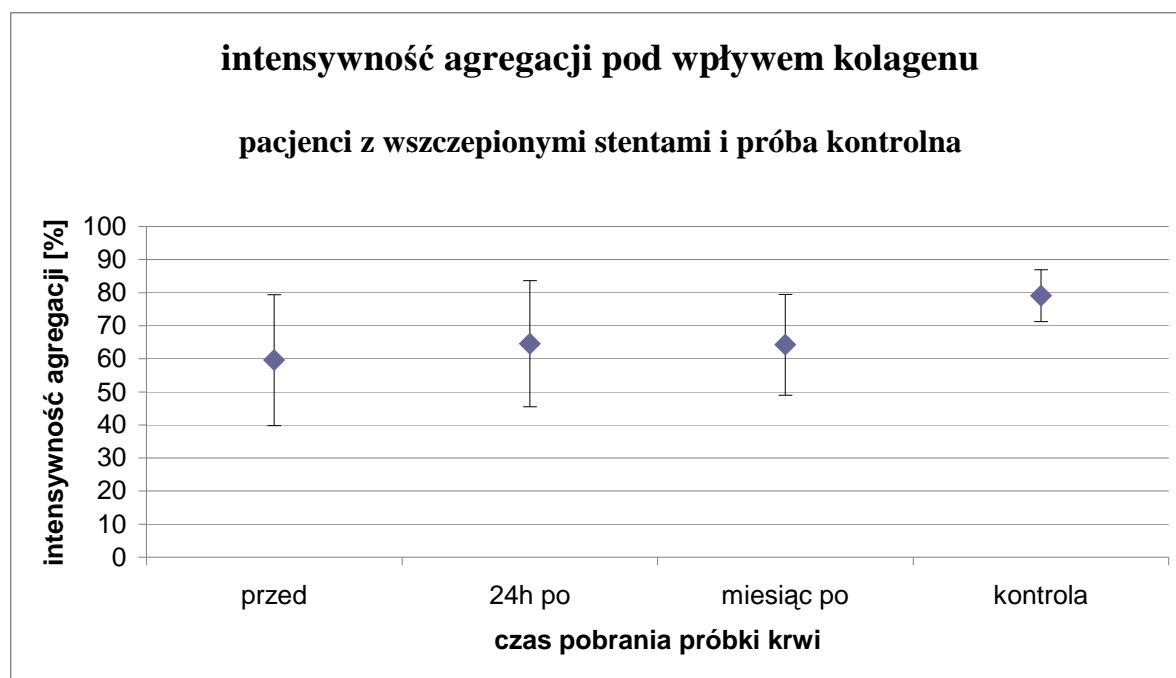
	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii						pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii					
	przed		24h po		miesiąc po		przed		24h po		miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
KOL*	57	65	67	59	64	65	66	65	65	59	65	65
SD [%]	18	24	17	25	15	17	16	24	15	25	8	17
WZ [%]	31	37	25	42	23	27	24	37	23	42	11	27
liczba pacj	25	10	25	9	22	8	51	44	49	42	23	22

*intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem kolagenu [%]

Tabela 4.7.2.: Zmienność intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem kolagenu

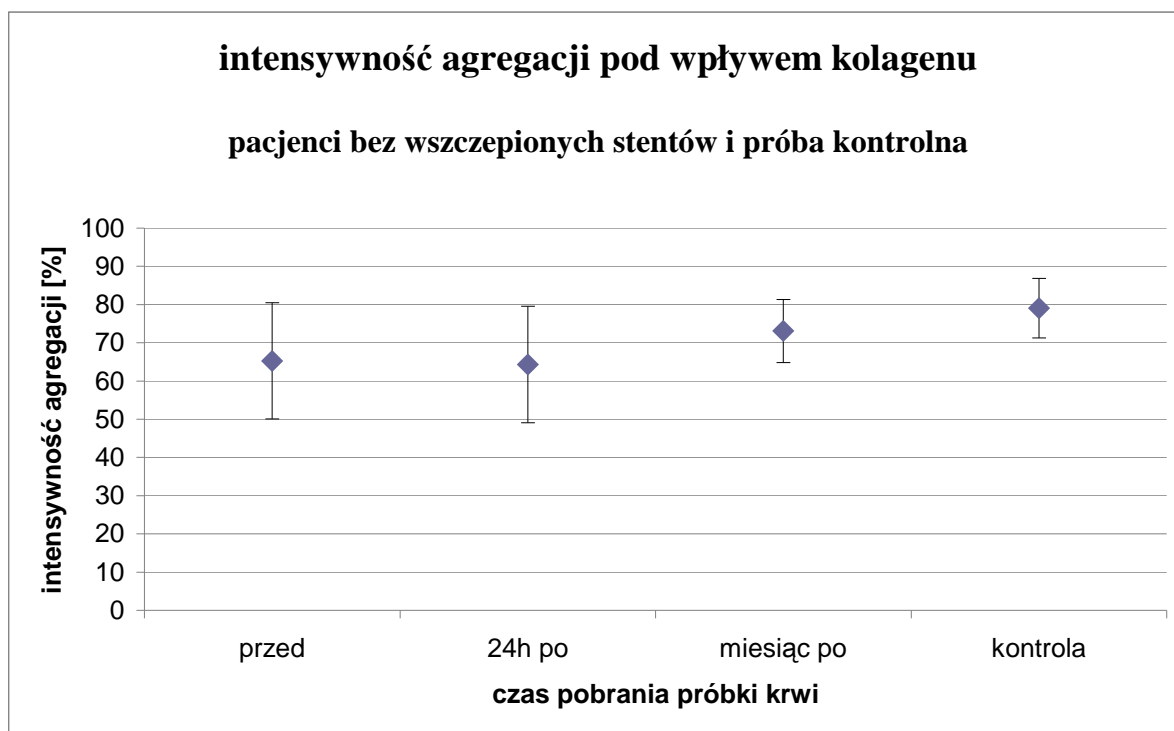
	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii				pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii			
	przed vs 24h po		przed vs miesiąc po		przed vs 24h po		przed vs miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K
p	0,016	0,412	0,214	0,753	0,818	0,210	0,021	0,113

Wykres 4.7.1.: Zmienność intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem kolagenu występująca u pacjentów, którym wszczepiono stenty podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Wykres 4.7.2.: Zmienność intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem kolagenu występująca u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Omówienie wyników:

- średnie wartości intensywności agregacji pod wpływem kolagenu we wszystkich badanych grupach były zbliżone do siebie; grupa pacjentów miesiąc po koronarografii bez implantacji stentów (i odstawieniu pochodnych tienopirydyny) uzyskała wartości o około 10% wyższe od pozostałych grup,
- wartości uzyskane u badanych pacjentów były nieznamiennie (około 15%) niższe niż w grupie kontrolnej,
- nie zaobserwowano krótkotrwałego (jeden dzień), jak i długotrwałego (miesiąc) istotnego wpływu koronarografii na średnie wartości intensywności agregacji pod wpływem kolagenu,
- nie zaobserwowano krótkotrwałego (jeden dzień), jak i długotrwałego (miesiąc) istotnego wpływu implantacji stentu na średnie wartości intensywności agregacji pod wpływem kolagenu

4.8. Wpływ koronarografii, implantacji stentu oraz stosowanych leków przeciwplatek na intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem adrenaliny

Tabela 4.8.1.: Wartości intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem adrenaliny

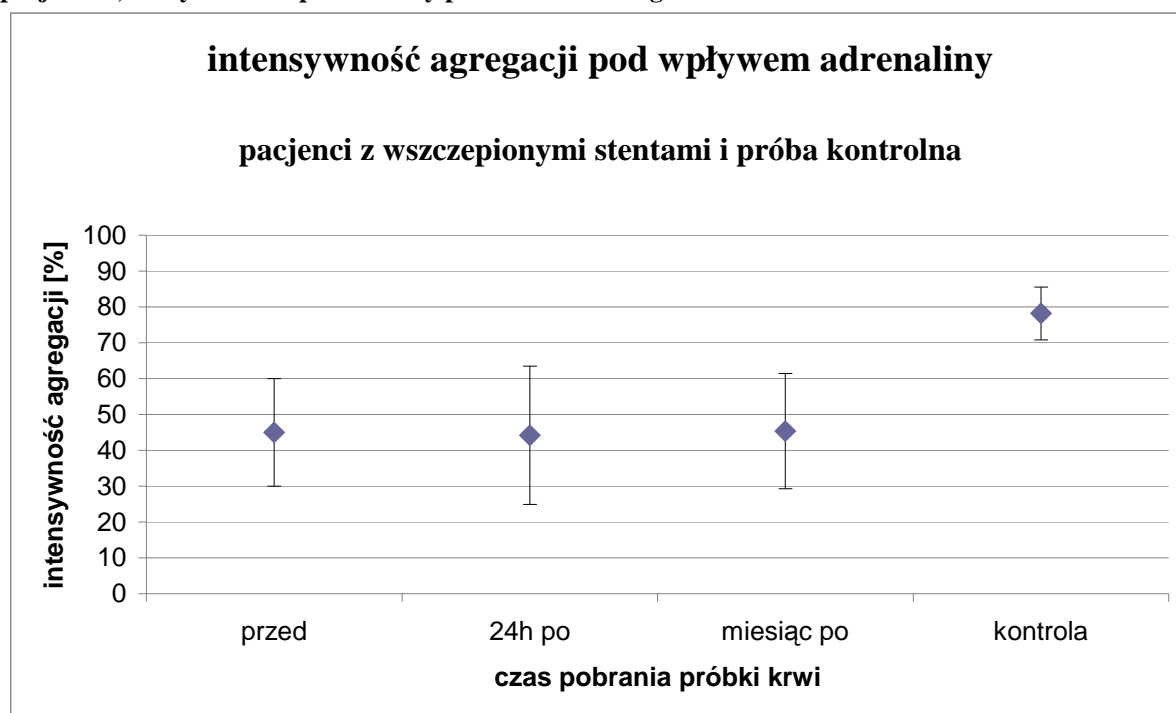
	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii						pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii					
	przed		24h po		miesiąc po		przed		24h po		miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
ADR*	44	47	46	40	46	45	48	48	45	50	53	56
SD [%]	15	15	19	21	16	17	18	18	18	15	18	18
WZ [%]	34	33	42	51	35	38	37	38	39	31	35	33
liczba pacj	25	10	25	9	22	8	51	44	49	42	23	22

*intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem adrenaliny [%]

Tabela 4.8.2.: Zmienność intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem adrenaliny

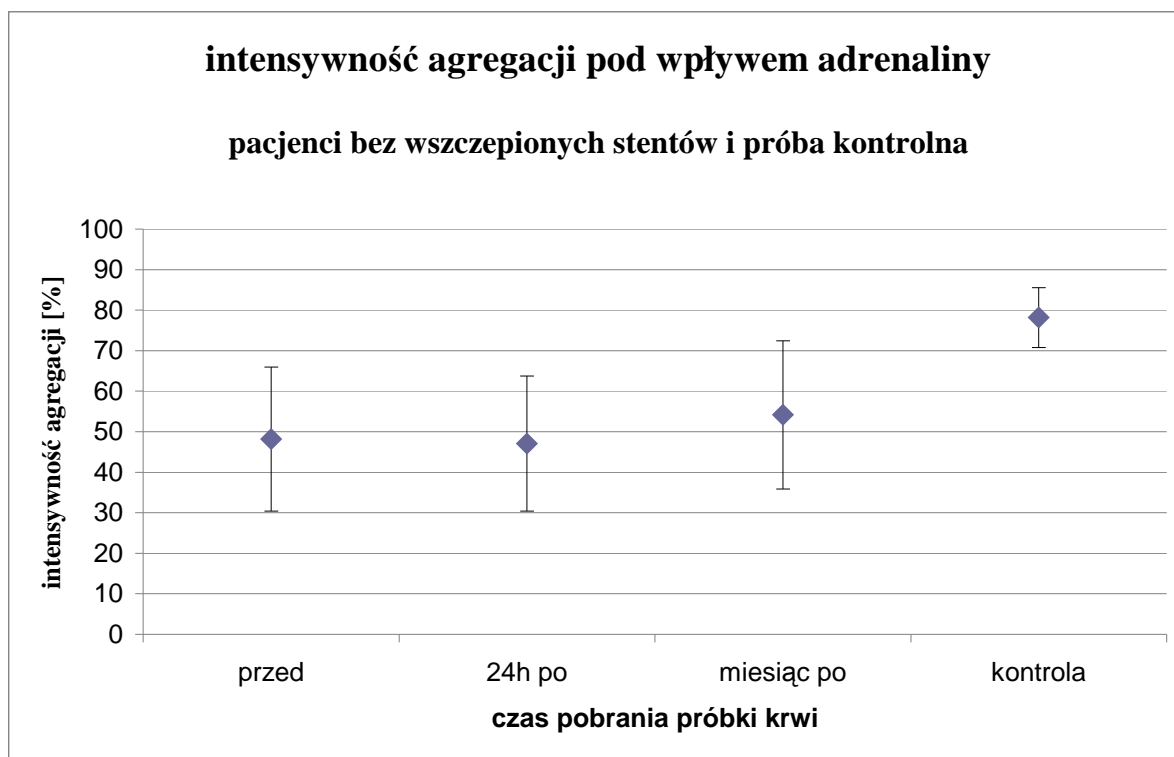
	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii				pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii			
	przed vs 24h po		przed vs miesiąc po		przed vs 24h po		przed vs miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K
p	0,622	0,321	0,687	0,815	0,076	0,614	0,333	0,065

Wykres 4.8.1.: Zmienność intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem adrenaliny występująca u pacjentów, którym wszczepiono stenty podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Wykres 4.8.2.: Zmienność intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem adrenaliny występująca u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Omówienie wyników:

- średnie wartości intensywności agregacji pod wpływem adrenaliny we wszystkich badanych grupach były zbliżone do siebie; grupa pacjentów miesiąc po koronarografii bez implantacji stentów (i odstawieniu pochodnych tienopirydyny) uzyskała wartości o około 10% wyższe od pozostałych grup,
- wartości uzyskane w grupach badanych były o około 30% niższe niż w grupie kontrolnej,
- nie zaobserwowano krótkotrwałego (jeden dzień), jak i długotrwałego (miesiąc) istotnego wpływu koronarografii na średnie wartości intensywności agregacji pod wpływem adrenaliny,
- nie zaobserwowano krótkotrwałego (jeden dzień), jak i długotrwałego (miesiąc) istotnego wpływu implantacji stentu na średnie wartości intensywności agregacji pod wpływem adrenaliny

4.9. Wpływ koronarografii, implantacji stentów oraz stosowanych leków przeciwplatek na generację mikrocząstek o właściwościach prozakrzepowych (MP)

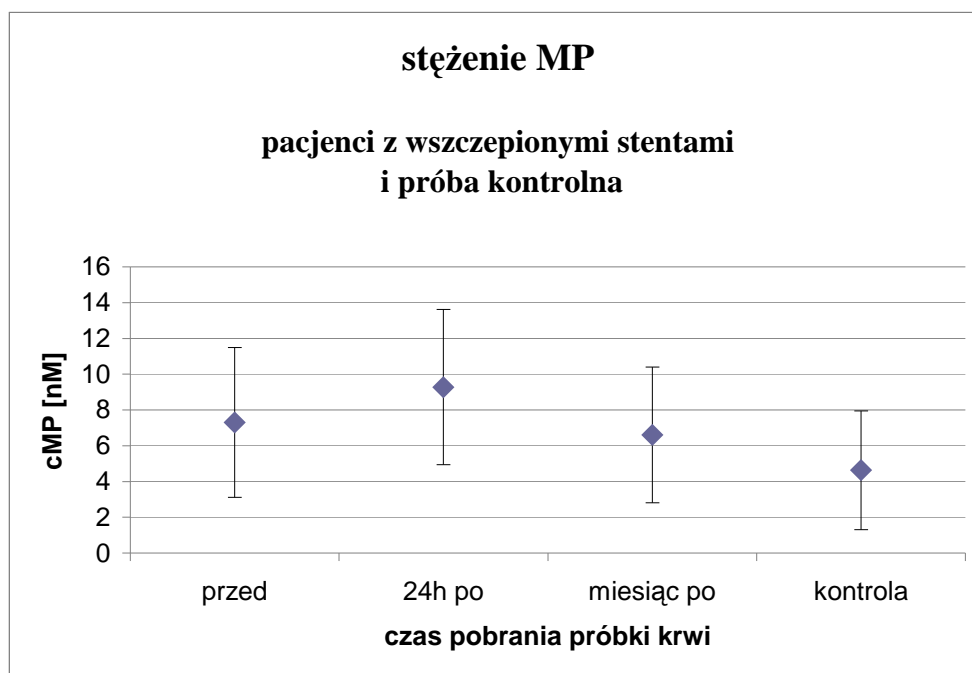
Tabela 4.9.1.: Stężenie MP w osoczu (nM)

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii						pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii					
	przed		24h po		miesiąc po		przed		24h po		miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K	M	K
cMP	8,0	5,4	10,4	6,4	6,4	7,3	6,1	5,7	7,7	9,4	7,6	7,9
SD	4,1	4,2	4,2	3,5	3,2	5,6	2,5	2,4	4,6	7,4	4,9	5,3
WZ [%]	51	76	40	54	50	77	42	42	59	79	64	68
liczba pacj	23	9	23	9	22	7	21	20	21	20	21	19

Tabela 4.9.2.: Zmienność stężenia MP w osoczu

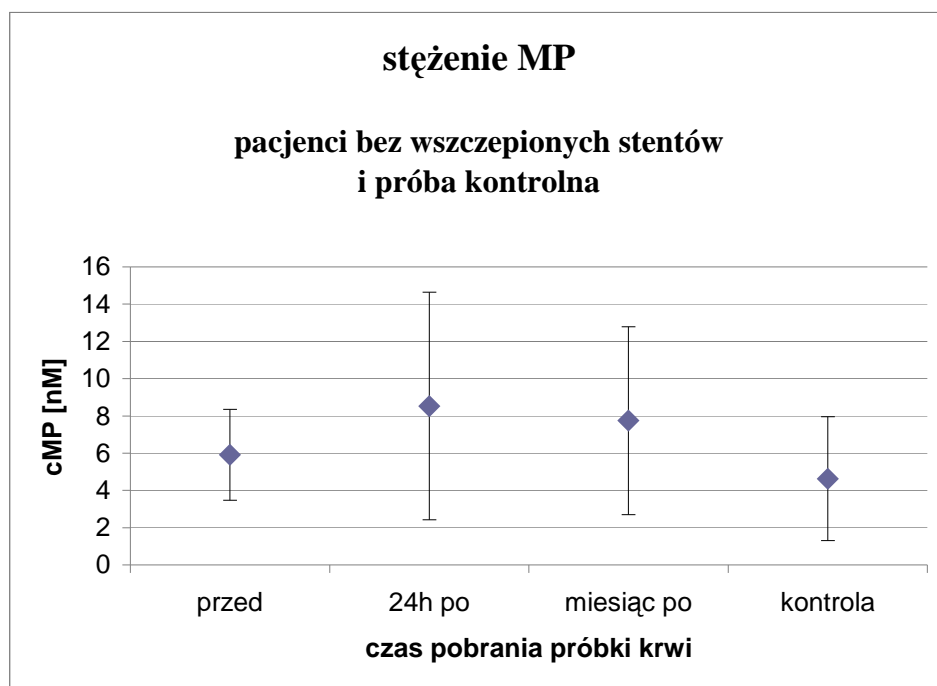
	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii				pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii			
	przed vs 24h po		przed vs miesiąc po		przed vs 24h po		przed vs miesiąc po	
	M	K	M	K	M	K	M	K
p	0,037	0,445	0,261	0,868	0,115	0,027	0,124	0,074

Wykres 4.9.1.: Stężenie MP w osoczu u pacjentów, którym wszczepiono stenty podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Wykres 4.9.2.: Stężenie MP w osoczu u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów podczas koronarografii



przed – próba pobrana przed koronarografią, 24h po – próba pobrana dzień po koronarografii, miesiąc po – próba pobrana miesiąc po koronarografii, kontrola - wartości uzyskane w próbie kontrolnej

Omówienie wyników:

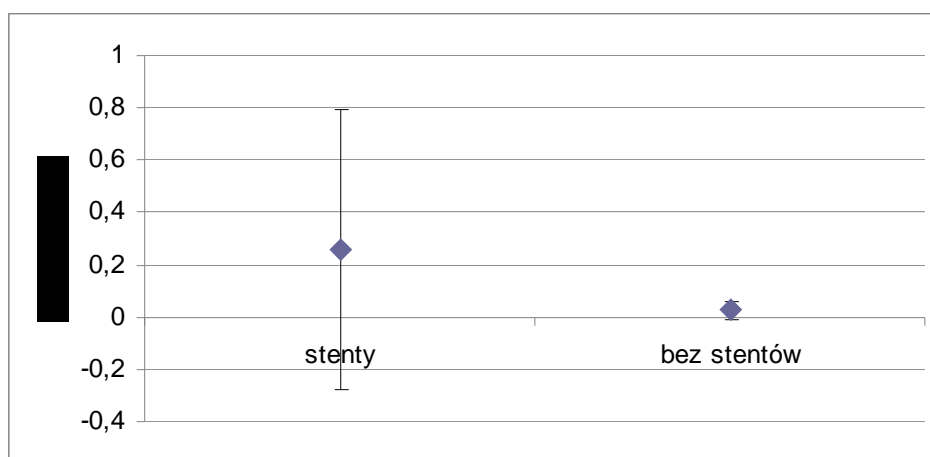
- średnie wartości stężenia MP dla badanych pacjentów są wyższe niż wartości uzyskane w grupie kontrolnej i w każdym analizowanym przypadku (przed zabiegiem, dzień po zabiegu, miesiąc po zabiegu bez implantacji stentu, miesiąc po zabiegu z implantacją stentu) przekraczają zakres wartości referencyjnych, ale nie przekraczają wartości odcięcia dla wartości uznanych za patologiczne; obserwacja ta dotyczy obu płci,
- odchylenia standardowe badanych pacjentów osiągają bardzo wysokie wartości, czyli obserwuje się duży rozrzut uzyskanych wyników; stąd pomimo, że średnia wyników przekracza wartości uznane za referencyjne i nie przekracza wartości uznanych za patologiczne, to występują pacjenci zarówno z wynikami $<5\text{nM}$ (30% wyników), jak i $>10\text{ nM}$ (20% wyników); obserwacja ta dotyczy obu płci,
- nie obserwuje się istotnego wpływu zarówno zabiegu koronarograficznego, jak i implantacji stentu na stężenia MP, obserwacja ta dotyczy obu płci,
- wartość korelacji $p<0,05$ uzyskano tylko w przypadku zmiany stężeń MP u kobiet przed koronarografią vs dzień po koronarografii bez implantacji stentu ($p=0,027$) i u mężczyzn przed koronarografią vs dzień po koronarografii z implantacją stentu ($p=0,037$).

4.10. Wpływ koronarografii, implantacji stentów oraz stosowanych leków przeciwplatekowych na stężenie troponiny I (TnI) w surowicy (ng/ml)

Tabela 4.10.1.: Wartości TnI (ng/ml)

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii		pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii	
	M	K	M	K
TnI	0,42	0,05	0,03	0,01
SD	0,70	0,08	0,04	0,01
WZ [%]	169	173	103	182
liczba pacj	4	3	13	6

Wykres 4.10.1.: Porównanie wartości stężenia TnI w surowicy (ng/ml) u pacjentów, którym wszczepiono stenty z pacjentami, którym nie wszczepiono stentów podczas koronarografii



Omówienie wyników:

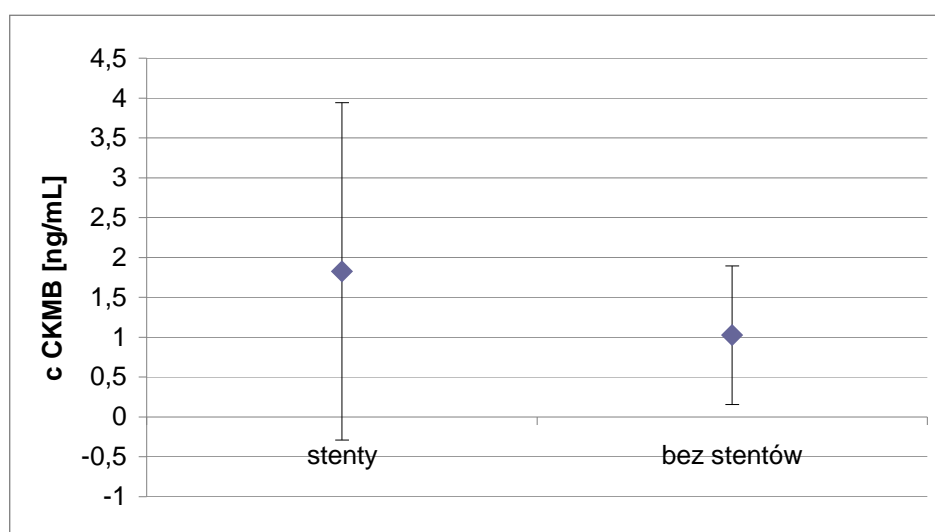
- wartość średnia we wszystkich badanych grupach mieściła się w granicach wartości referencyjnych; warto jednak zaznaczyć, że w przypadku pacjentów, którym implantowano stenty podczas koronarografii była to górna granica, a w przypadku pacjentów, którym nie wszczepiono stentów wartość niewiele wyższa od dolnej,
- średnia u pacjentów, którym w czasie koronarografii wszczepiono stenty była wyższa zarówno u mężczyzn jak i kobiet niż u pacjentów, których skierowano na leczenie zachowawcze; trzeba jednak nadmienić, że wśród nielicznej (4) grupy mężczyzn, którym podczas koronarografii wszczepiono stenty wystąpił jeden, którego wynik (1,46 ng/mL) znacząco wpłynął na wartość średnią,
- mała liczebność grup nie pozwala na ocenę istotności statystycznej uzyskanych wyników

4.11. Wpływ koronarografii, implantacji stentu oraz stosowanych leków przeciwplatek na stężenie izoenzymu B kinazy kreatynowej (CKMB masa) w surowicy (ng/ml)

Tabela 4.11.1.: Wartości CKMB masa

	pacjenci z wszczepionymi stentami podczas koronarografii		pacjenci bez wszczepionych stentów podczas koronarografii	
	M	K	M	K
CKMB	2,0	1,3	1,1	0,9
SD	2,3	1,5	0,9	0,8
WZ [%]	114	114	77	95
liczba pacj	21	9	46	40

Wykres 4.11.1.: Porównanie wartości stężenia CKMB masa w surowicy (ng/ml) u pacjentów, którym wszczepiono stenty z pacjentami, którym nie wszczepiono stentów podczas koronarografii



Omówienie wyników:

- średnia we wszystkich badanych grupach mieściła się w granicach wartości referencyjnych,
- średnia u pacjentów, którym w czasie koronarografii wszczepiono stenty była zarówno u mężczyzn jak i kobiet nieco wyższa niż u pacjentów, których skierowano na leczenie zachowawcze

4.12. Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a wzrostem MPV pod wpływem ADP

Tabela 4.12.1.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a wzrostem MPV pod wpływem ADP u pacjentów, którym wszczepiono stenty, próbka krwi pobrana przed koronarografią ($r=0,8133$, $p=0,00000$)

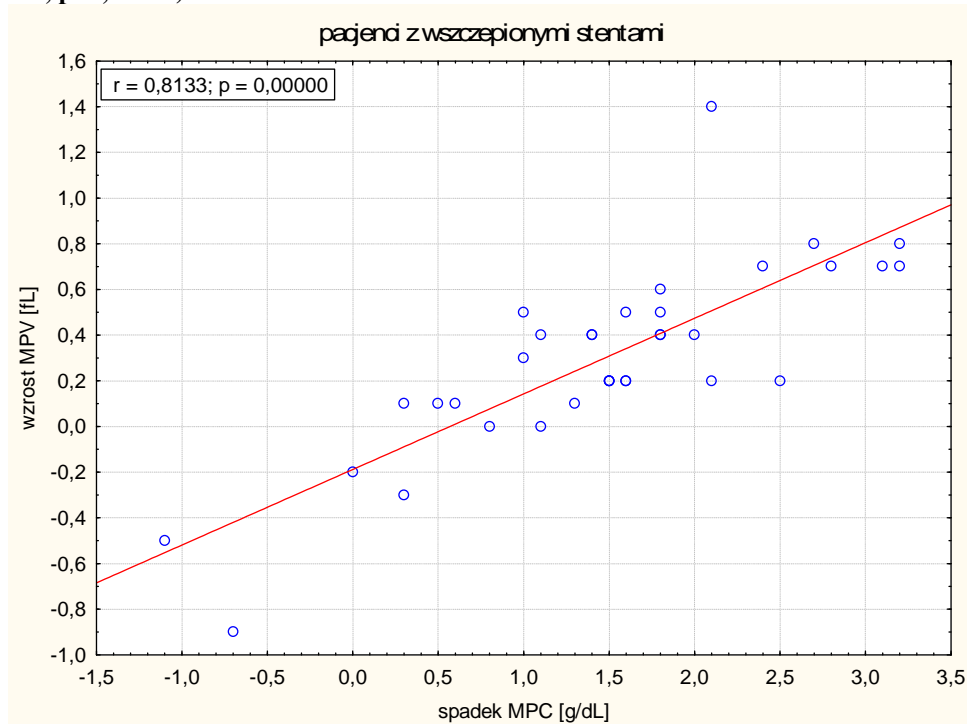


Tabela 4.12.2.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a wzrostem MPV pod wpływem ADP u pacjentów, którym wszczepiono stenty, próbka krwi pobrana dzień po koronarografii ($r=0,8508$, $p=0,0000$)

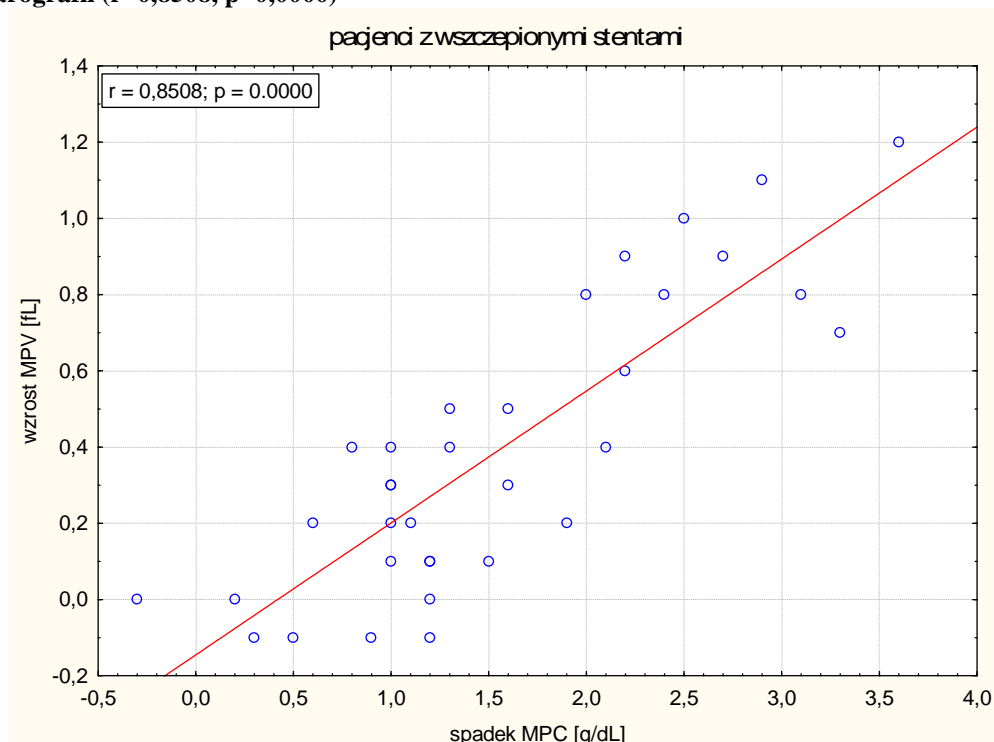


Tabela 4.12.3.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a wzrostem MPV pod wpływem ADP u pacjentów, którym wszczepiono stenty, próbka krwi pobrana miesiąc po koronarografii $r=0,8488$, $p=0,00000$

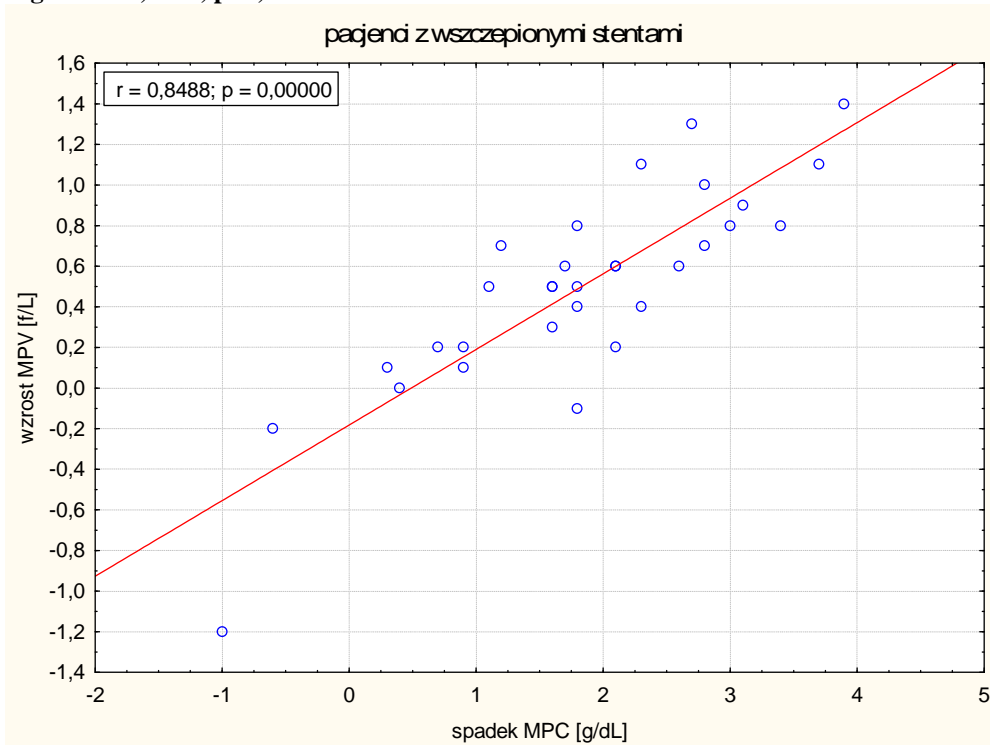


Tabela 4.12.4.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a wzrostem MPV pod wpływem ADP u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów, próbka krwi pobrana przed koronarografią ($r=0,8037$, $p=0,0000$)

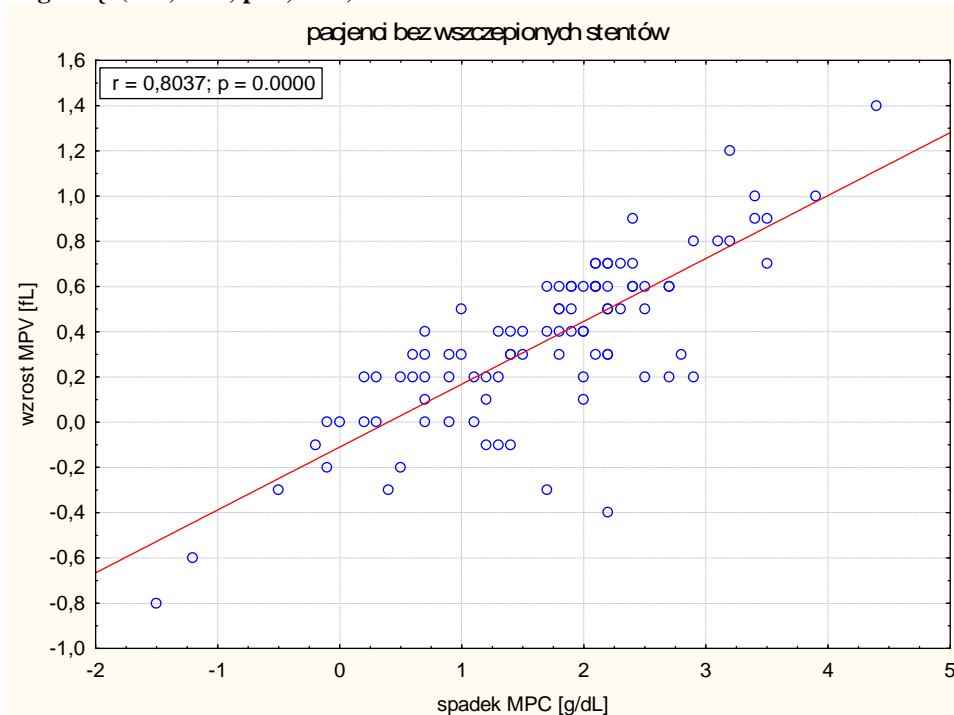


Tabela 4.12.5.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a wzrostem MPV pod wpływem ADP u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów, próbka krwi pobrana dzień po koronarografii : ($r=0,5703$; $p=0,00000$)

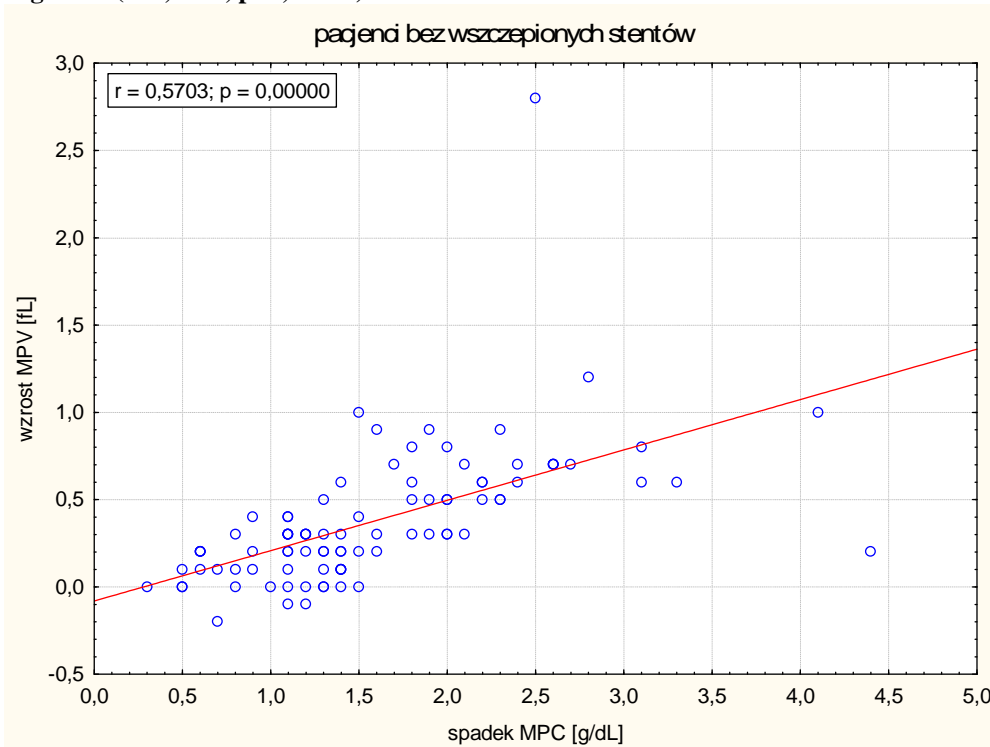
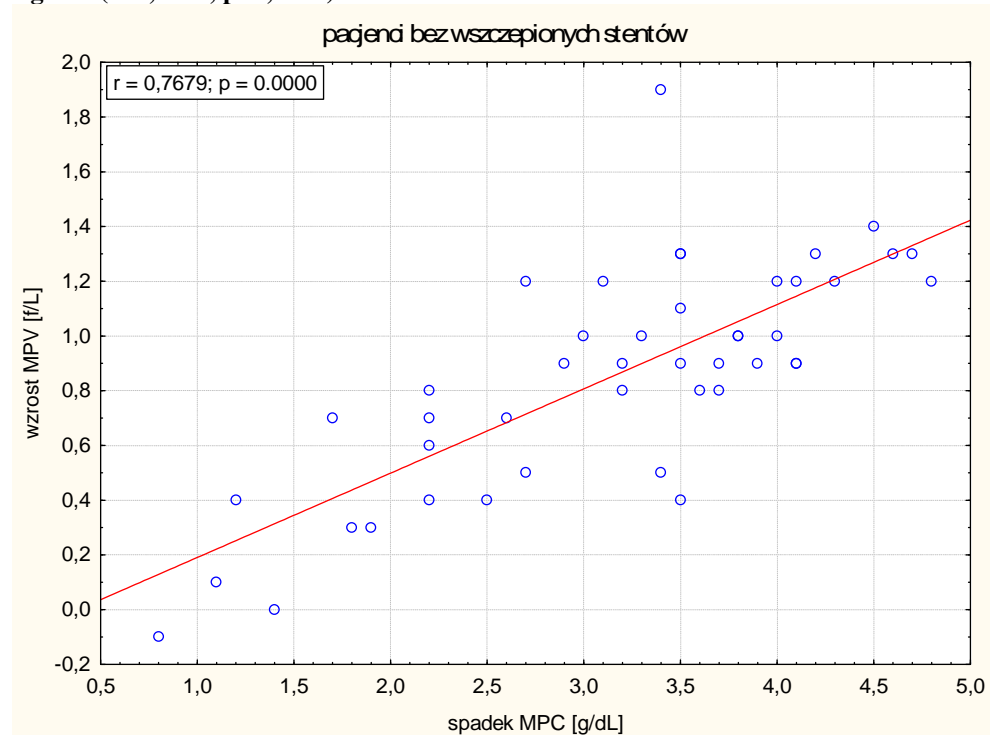


Tabela 4.12.6.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a wzrostem MPV pod wpływem ADP u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów, próbka krwi pobrana miesiąc po koronarografii ($r=0,7679$; $p=0,0000$)



We wszystkich badanych grupach zaobserwowano bardzo istotną statystycznie korelację pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a wzrostem MPV pod wpływem ADP, identyczną zależność uzyskano w grupie kontrolnej

4.13. Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a spadkiem MPM pod wpływem ADP

Tabela 4.13.1.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a spadkiem MPM pod wpływem ADP u pacjentów, którym wszczepiono stentami, próbka krwi pobrana przed koronarografią ($r=0,3747$, $p=0,0266$)

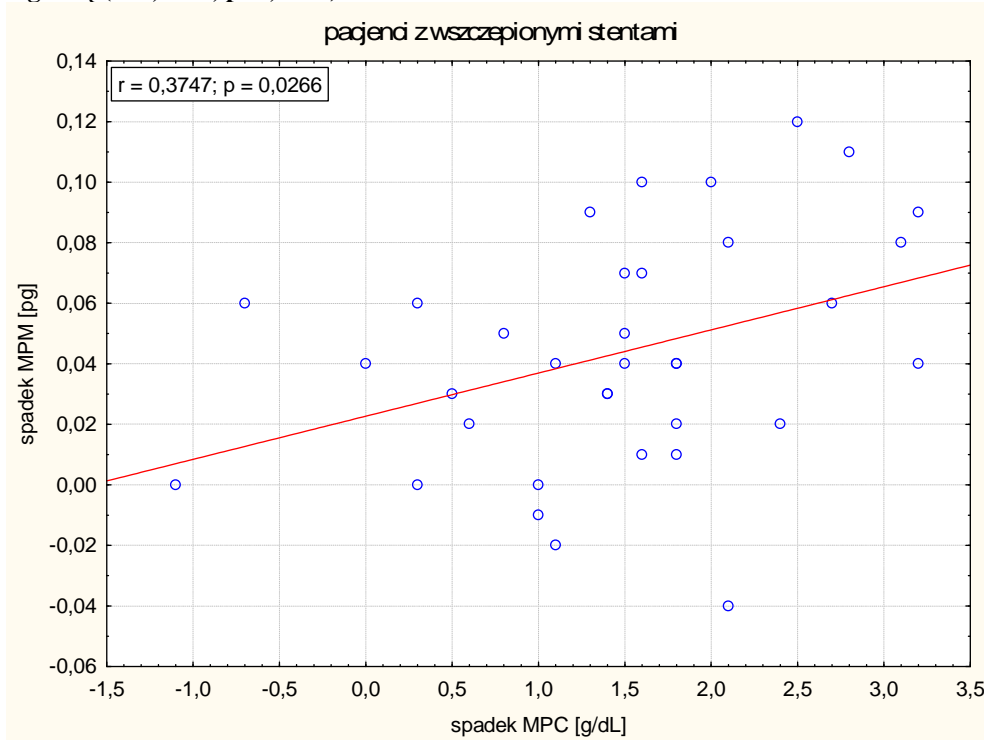


Tabela 4.13.2.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a spadkiem MPM pod wpływem ADP u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów, próbka krwi pobrana przed koronarografią ($r=0,5439$, $p=0,00000$)

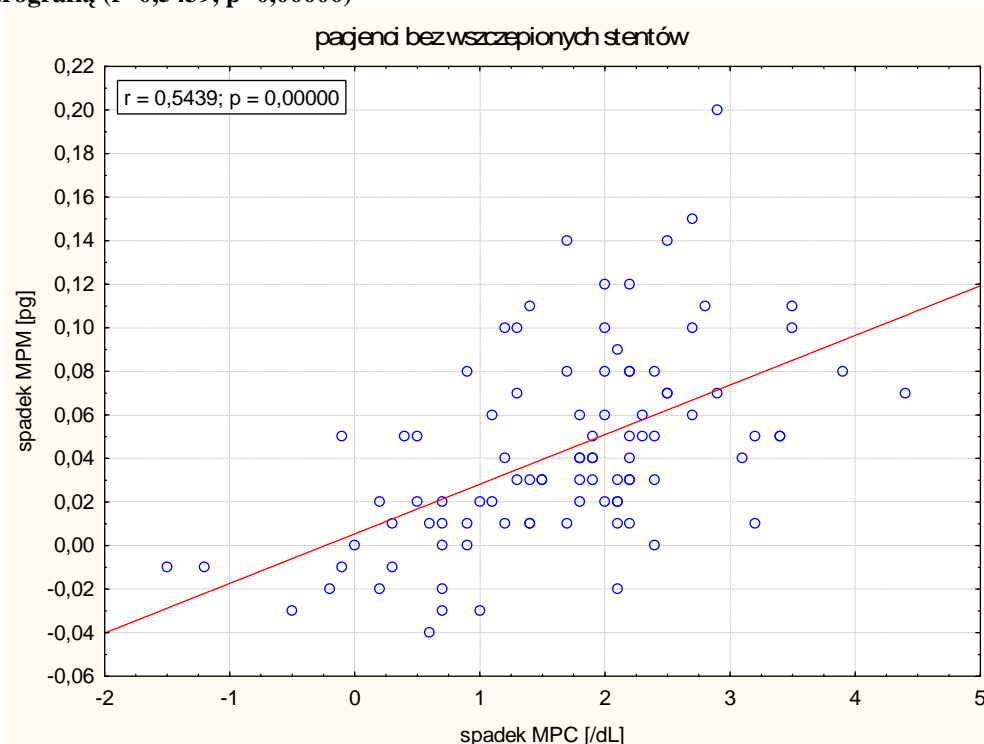
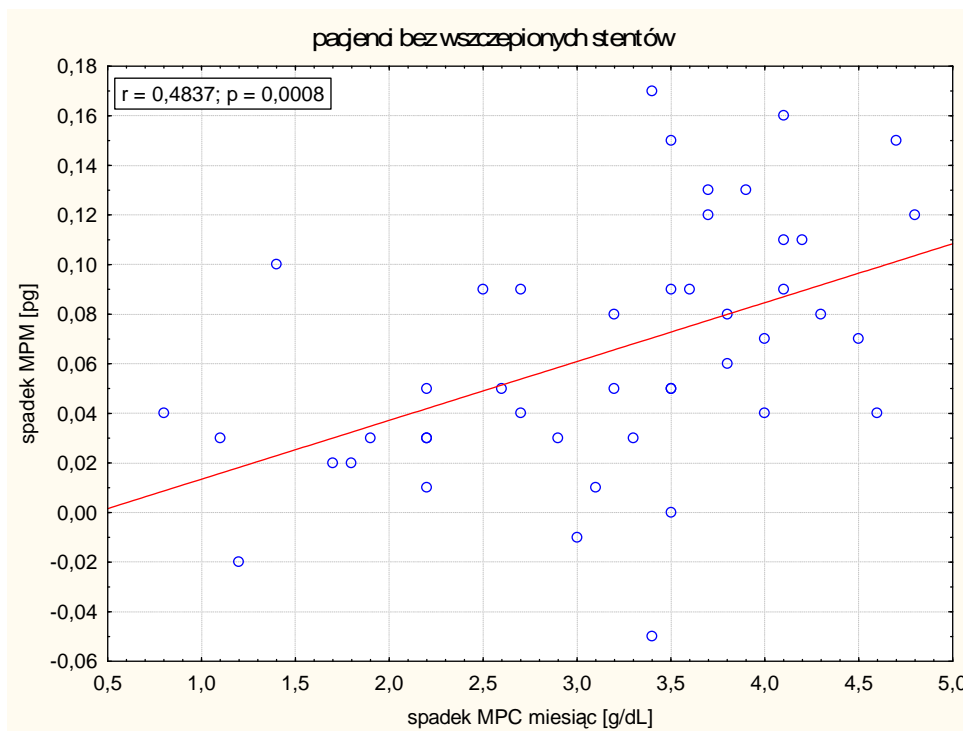


Tabela 4.13.3.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a spadkiem MPM pod wpływem ADP u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów, próbka krwi pobrana miesiąc po koronarografii ($r=0,4837$, $p=0,0008$)



- zaobserwowano istotną statystycznie korelację pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a spadkiem MPM pod wpływem ADP w próbkach pobranych przed koronarografią, jak również w próbkach pobranych miesiąc po koronarografii, podczas której nie implantowano stentów,
- dzień po koronarografii (z i bez implantacją stentu) i miesiąc po koronarografii z implantacją stentu wspomnianej korelacji nie zaobserwowano

4.14. Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a minimalną intensywnością agregacji płytek krwi pod wpływem ADP

Tabela 4.14.1.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a minimalną intensywnością agregacji płytek krwi pod wpływem ADP u pacjentów, którym wszczepiono stenty, próbka krwi pobrana przed koronarografią ($r=0,3723$, $p=0,0277$)

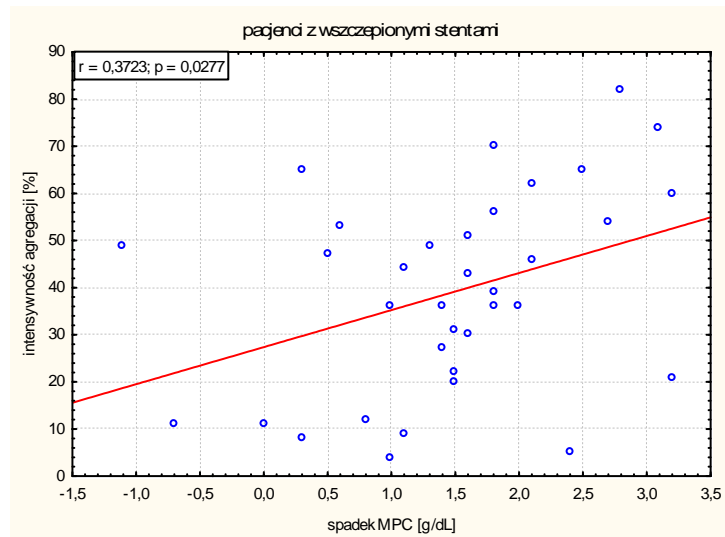


Tabela 4.14.2.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a minimalną intensywnością agregacji płytek krwi pod wpływem ADP u pacjentów, którym wszczepiono stenty, próbka krwi pobrana dzień po koronarografii ($r=0,5371$, $p=0,0011$)

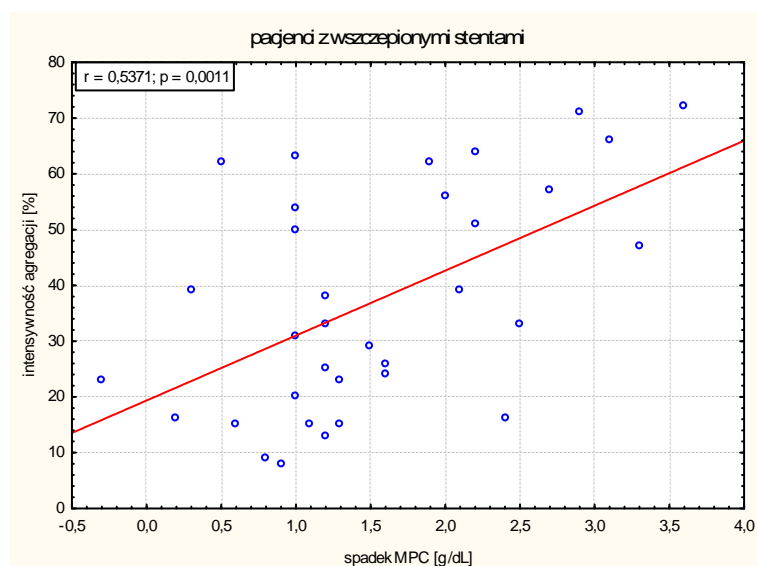


Tabela 4.14.3.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a minimalną intensywnością agregacji płytek krwi pod wpływem ADP u pacjentów, którym wszczepiono stenty, próbka krwi pobrana miesiąc po koronarografii ($r=0,6535$, $p=0,00009$)

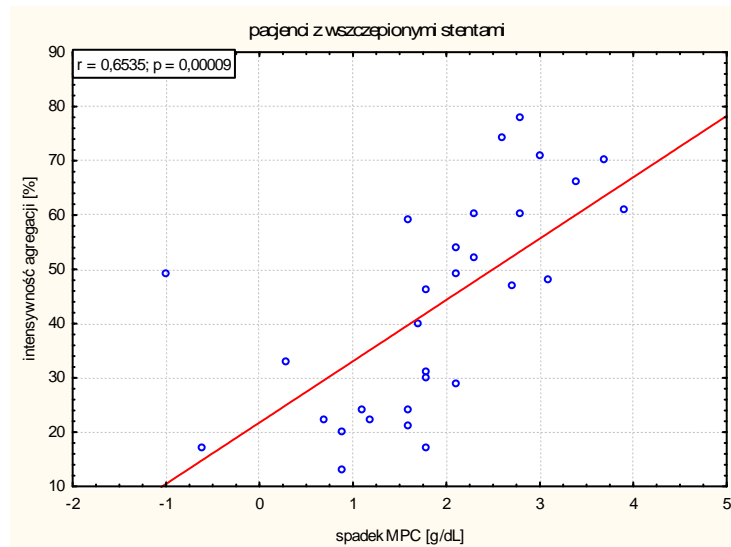


Tabela 4.14.4.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a minimalną intensywnością agregacji płytek krwi pod wpływem ADP u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów, próbka krwi pobrana przed koronarografią ($r=0,4154$, $p=0,00003$)

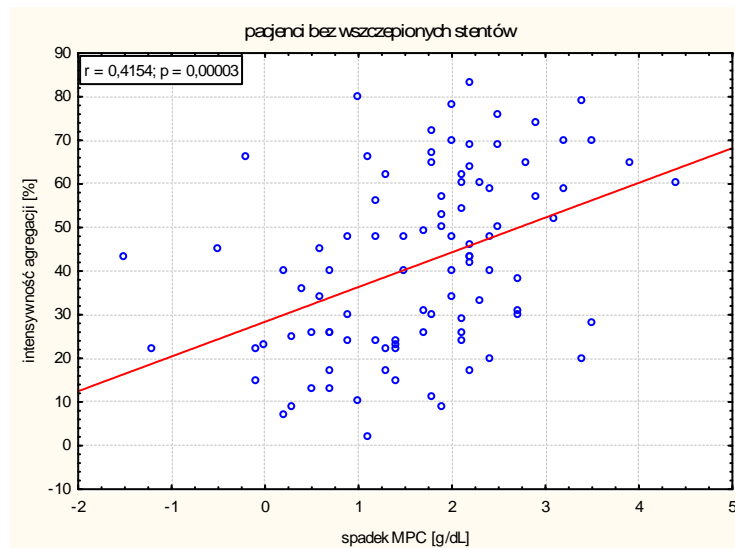


Tabela 4.14.5.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a minimalną intensywnością agregacji płytek krwi pod wpływem ADP u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów, próbka krwi pobrana dzień po koronarografii ($r=0,4686$, $p=0,00000$)

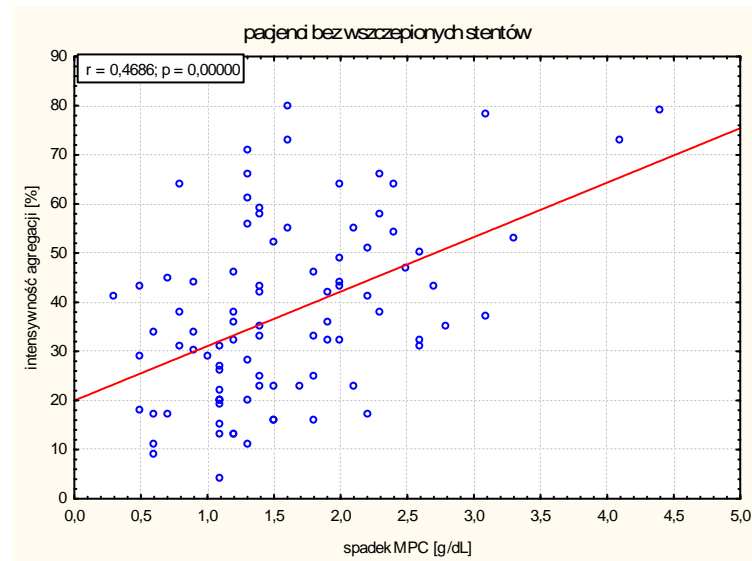
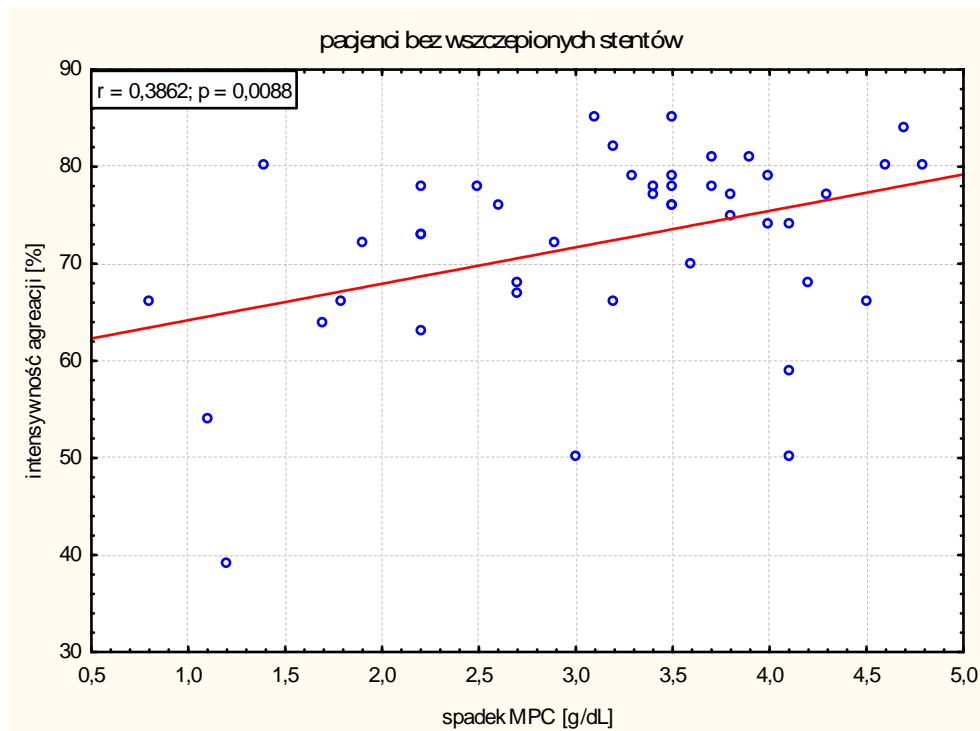


Tabela 4.14.6.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a minimalną intensywnością agregacji płytek krwi pod wpływem ADP u pacjentów, którym nie wszczepiono stentów, próbka krwi pobrana miesiąc po koronarografii ($r=0,3862$, $p=0,0088$)



We wszystkich badanych grupach zaobserwowano bardzo istotną statystycznie korelację pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a intensywnością agregacji pod wpływem ADP

4.15. Wyniki próby kontrolnej –26 dawców krwi

Tabela 4.15.1.: Wyniki uzyskane w grupie kontrolnej

parametr	Morfologia płytek krwi							Reaktywność płytek krwi				MP
	PLT	MPV	↑MPV	MPC	↓MPC	MPM	↓MPM	ADP	AA	KOL	ADR	
wartość	252	8,5	1,1	26,4	3,5	2,1	0,05	80	86	79	78	4,6
SD	56	0,9	0,4	1,9	1,1	0,2	0,04	6	5	8	7	3,3
WZ	22	10	39	7	33	10	76	8	6	10	9	72

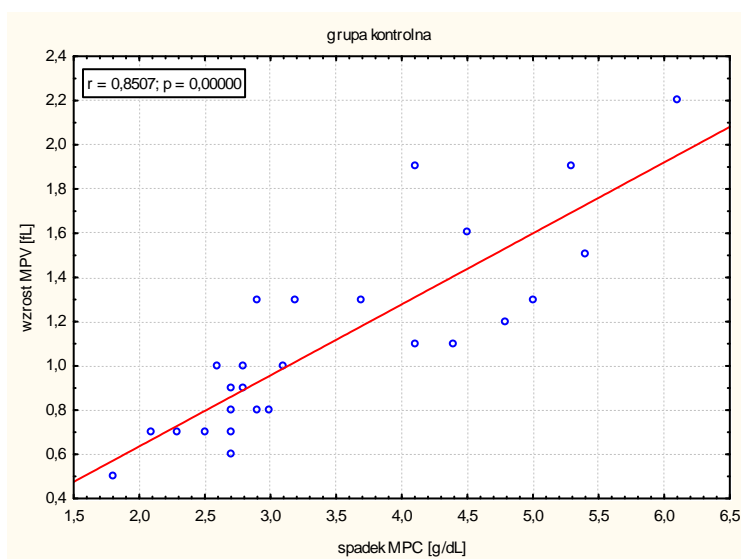
PLT - średnia ilość płytek krwi [$\times 10^3/\mu\text{L}$], MPV – średnia objętość płytek krwi [fL], ↑MPV – średni wzrost MPV pod wpływem ADP [fL], MPC – średnia gęstość płytek krwi [g/dL], ↓MPC – średni spadek MPC pod wpływem ADP [g/dL], MPM – średnia masa płytek krwi [pg], ↓MPM – średni spadek MPM pod wpływem ADP [pg], ADP – intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem ADP [%], AA - intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem kwasu arachidonowego [%], KOL - intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem kolagenu [%], ADR - intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem adrenaliny [%], MP – stężenie mikrocząstek o właściwościach prozakrzepowych [nM,], SD – odchylenie standardowe, WZ – współczynnik zmienności

- średnia wartości opisujących ilość i morfologię płytek krwi (PLT, MPV, MPC i MPM) znajdowała się w granicach wartości referencyjnych dla ludzi zdrowych; WZ był niski, czyli płytki krwi osób z grupy kontrolnej były podobne pod względem ilości i morfologii, nie odnotowano wartości przekraczającej wartości referencyjne
- średni wzrost MPV pod wpływem ADP osiągnął wartości wyższe od wartości uzyskanych u badanych pacjentów;
- średni spadek MPC pod wpływem ADP osiągnął wartości zbliżone do wartości uzyskanych u pacjentów z grupy nie przyjmującej pochodnych tienopirydyny (pacjenci miesiąc po koronarografii bez implantacji stentu),
- średni spadek MPM pod wpływem ADP osiągnął wartości zbliżone do wartości uzyskanych u badanych pacjentów,
- warto zauważyć, że WZ w przypadku wartości opisujących cechy morfologiczne płytek krwi poddanych działaniu ADP był 4-krotnie (a w przypadku MPM nawet siedmiokrotnie) wyższy niż w przypadku tych samych wartości ocenianych w próbie bez dodatku aktywatora – płytki krwi (o wyjściowo podobnej budowie) różnie reagowały na ADP
- intensywność agregacji płytek krwi osiągnęła wysokie wartości pod wpływem wszystkich zastosowanych aktywatorów, wskazując przez to na prawidłową reaktywność trombocytów u wszystkich badanych osób z grupy kontrolnej,
- średnia wartości MP mieściła w zakresie wartości referencyjnych dla ludzi zdrowych (<5nM), warto jednak zauważyć, że wystąpił dość duży rozrzut uzyskanych wyników (WZ = 72%) i aż 35 % badanych uzyskała wyniki >5nM, a wśród nich trzech nawet wyższe niż 10 nM (10,4, 11,2, 11,3), która to liczba stanowi wartość odcięcia dla wyników patologicznych

Tabela 4.15.2.: Korelacje wyników uzyskanych w grupie kontrolnej

korelacje	↓MPC / ↑MPV	↓MPC / ↓MPM	↓MPC / ADP
r	0,8507	0,2813	0,2021
p	0,00000	0,1640	0,3222

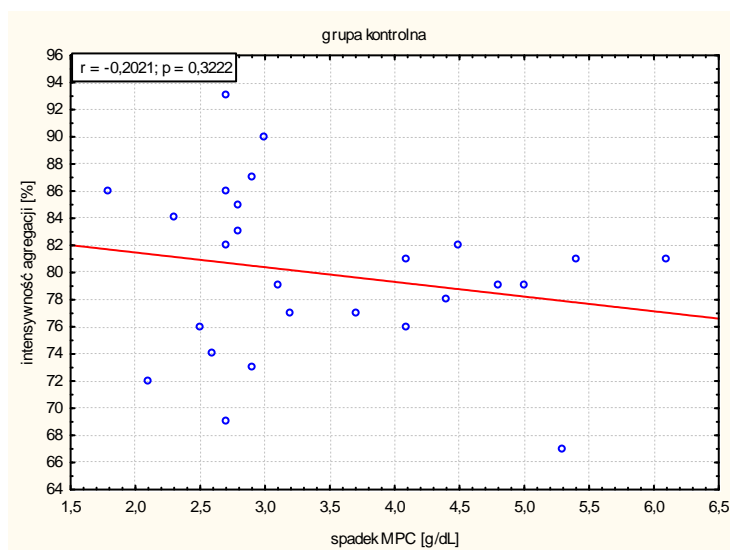
Wykres 4.15.1.:Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a wzrostem MPV pod wpływem ADP w grupie kontrolnej (r=0,8507, p=0,00000)



Zaobserwowano bardzo dużą korelację pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a wzrostem MPV pod wpływem ADP, podobnie wysoką korelację uzyskano u badanych pacjentów; świadczyć to może o tym, że korelacja ta jest niezależna od ASA, pochodnych tienopirydyny

Nie zaobserwowano korelacji pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a spadkiem MPM pod wpływem ADP.

Wykres 4.15.2.: Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a minimalną intensywnością agregacji płytek krwi pod wpływem ADP w grupie kontrolnej ($r=-0,2021$, $p=0,3222$)



W przypadku osób zdrowych, nie przyjmujących ASA, pochodnych tienopirydyny i kłopidogrelu, nie zaobserwowano tak silnej korelacji pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a minimalną intensywnością agregacji płytek krwi pod wpływem ADP; zauważyć jednak należy, że wszyscy badani z grupy kontrolnej charakteryzowali się dużym spadkiem MPC i wysoką intensywnością agregacji płytek krwi pod wpływem ADP

4.16. Charakterystyka pacjentów w kontekście ich profilu wrażliwości na leki przeciwplatekawe

Tabela 4.16.1 : Charakterystyka pacjentów opornych na dwa zastosowane leki przeciwplatek (kwas acetylosalicylowy i pochodne tienopirydyny) – wartość bezwzględna i odsetek pacjentów

AA > 20% ADP > 60%	wykonana procedura medyczna		płeć		średnia wieku	średnia ilość płytek krwi [x10 ³ /μL]	Choroby współistniejące					
	implantacja stentu	koronarografia diagnostyczna	M	K			cukrzyca	nadciśnienie tętnicze	choroby nerek / niewydolność nerek	hiperlipidemia	przebyty zawał	niewydolność serca
w jednej próbie, w tym	3	6	5	4	61	228	4 44%	6 67%		3 33%	1 11%	3 33%
przed badaniem	1	4	3	2	58	242	2 40%	3 60%		2 40%	1 20%	
24h po badaniu		2		2	51	205		1		1		1
miesiąc po badaniu	2		2		73	238	2 100%	2 100%				2 100%
w dwóch próbach (przed i po badaniu)	2	9	4	7	65	230	2 18%	7 64%	1 9%	6 55%	3 27%	5 45%
w trzech próbach		5*	5		62	186		5 100%	1 20%	5 100%		1 20%
w trzech próbach	6		4	2	57	198	1 17%	6 100%		3 50%	1 17%	2 33%

AA – intensywność agregacji pod wpływem kwasu arachidonowego, ADP - intensywność agregacji pod wpływem ADP, M- mężczyźni, K- kobiety,* ADP > 60 % po miesiącu po koronarografii wynika z niehamowanej pochodnymi tienopirydyny reaktywności płytek krwi, a nie z oporności na lek

- 31 pacjentów (co stanowi 23% wszystkich badanych) przynajmniej w jednej próbie wykazywało cechy oporności na kwas acetylosalicylowy i pochodne tienopirydyny, nie odnotowano istotnych różnic w ilości pacjentów, u których stwierdzono oporność raz, dwa, czy trzy razy
- u osób, u których wykazano łączną oporność na oba zastosowane leki przeciwplatekowe we wszystkich trzech próbkach krwi odnotowano częstsze występowanie nadciśnienia tętniczego i hiperlipidemii niż u osób z przemijającą opornością (tylko w jednej lub dwóch próbach); wspomniana obserwacja nie dotyczy cukrzycy, niewydolności serca i zawału serca w wywiadzie; tylko dwóch pacjentów cierpiało na niewydolność nerek

Tabela 4.16.2.: Charakterystyka pacjentów opornych na kwas acetylosalicylowy i wrażliwych na pochodne tienopirydyny - wartość bezwzględna i odsetek pacjentów

AA > 20% ADP < 60%	wykonana procedura medyczna		płeć		średnia wieku	średnia ilość płytek krwi [x10 ³ /μL]	Choroby współistniejące					
	implantacja stentu	koronarografia diagnostyczna	M	K			cukrzyca	nadciśnienie tętnicze	choroby nerek/niewydolność nerek	hiperlipidemia	przebyty zawał	niewydolność serca
w jednej próbie, w tym	2	8	5	5	58	239	3 30%	7 70%	1 10%	4 40%	1 10%	2/1 20%/10%
przed badaniem	1	2	2	1	58	249		1 33%		1 33%		1/1 33%
miesiąc po badaniu	1	6	3	4	57	228	3 43%	6 85%	1 14%	3 43%	1 14%	1 14%
w dwóch próbach, w tym	4	11	10	5	67	248	3 20%	12 80%	3 20%	5 30%	5 30%	7/3 47%/20%
przed i 24h po badaniu	2	7	6	3	66	254	2 22%	7 78%	1 11%	2 22%	3 33%	5/2 56%/22%
24h po i miesiąc po badaniu	2	4	4	2	68	242	1 17%	5 83%	2 33%	3 50%	2 33%	2/1 33%/17%
w trzech próbach	3	4	5	2	61	234	2 29%	5 71%	1 14%	4 57%	2 29%	4/3 57%/43%

AA – intensywność agregacji pod wpływem kwasu arachidonowego, ADP - intensywność agregacji pod wpływem ADP, M- mężczyźni, K- kobiety

- 32 pacjentów (co stanowi 24% badanych)) przynajmniej w jednej próbie wykazywało cechy oporności na kwas acetylosalicylowy z jednoczesną wrażliwością na pochodne tienopirydyny; u połowy z nich oporność utrzymywała się przez dwa kolejne pobrania, u co trzeciego wystąpiła tylko raz, a u pozostałych siedmiu we wszystkich trzech próbach,
- prawie wszyscy oporni na kwas acetylosalicylowy (niezależnie, czy stale czy przemijająco) chorowali jednocześnie na nadciśnienie tętnicze (75-85%), a około 30% z nich na cukrzycę; zaobserwowano wprost proporcjonalną zależność ilości prób, w których odnotowano oporność do częstości występowania hiperlipidemii, niewydolności serca, zawału serca w wywiadzie; na niewydolność nerek chorowało 10-20% badanych

Tabela 4.16.3 : Charakterystyka pacjentów opornych na pochodne tienopirydyny i wrażliwych na kwas acetylosalicylowy - wartość bezwzględna i odsetek pacjentów

AA < 20% ADP > 60%	wykonana procedura medyczna		płeć		średnia wieku	średnia ilość płytek krwi [x10 ³ /μL]	Choroby współistniejące					
	implantacja stentu	koronarografia diagnostyczna	M	K			cukrzyca	nadciśnienie tętnicze	choroby nerek/niewydolność nerek	hiperlipidemia	przebyte zawały	niewydolność serca
w jednej próbie (przed badaniem)		4	2	2	59	177	3 75%	3 75%	1 25%	2 50%		4/2 100%/50%
w dwóch próbach, w tym	1	8	5	4	63	260	2 22%	7 78%	1 11%	3 33%	3 33%	2/1 22%/11%
przed i po badaniu		8	5	3	58	275	2 25%	6 75%	1 13%	2 25%	3 38%	2/1 25%/13%
przed i miesiąc po badaniu	1			1	68	245		1 100%		1 100%		
w trzech próbach	1			1	60	270	1 100%	1 100%				

AA – intensywność agregacji pod wpływem kwasu arachidonowego, ADP - intensywność agregacji pod wpływem ADP, M- mężczyźni, K- kobiety

- 14 pacjentów (co stanowi 11% wszystkich badanych) przynajmniej w jednej próbie wykazywało cechy oporności na pochodne tienopirydyny z jednoczesną wrażliwością na kwas acetylosalicylowy; jest to ponad o połowę mniej niż w przypadku oporności na ASA, czy łącznej oporności na ASA i pochodne tienopirydyny
- prawie wszyscy chorowali na nadciśnienie tętnicze; nie zaobserwowano korelacji pomiędzy częstością występowania oporności na pochodne tienopirydyny a częstością zachorowalności na cukrzycę, hiperlipidemię, niewydolność serca, czy niewydolność nerek; trzeba jednak dodać, że grupa była nieliczna i przez to trudna do wiarygodnej oceny statystycznej

Tabela 4.16.4 : Charakterystyka pacjentów wrażliwych na oba zastosowane leki przeciwplatekcyjne (kwas acetylosalicylowy i pochodne tienopirydyny) - wartość bezwzględna i odsetek pacjentów; we wszystkich pobranych próbach krwi

AA < 20% ADP < 60%	wykonana procedura medyczna		płeć		średnia wieku	średnia ilość płytek krwi [x10 ³ /μL]	Choroby współistniejące					
	implantacja stentu	koronarografia diagnostyczna	M	K			cukrzyca	nadciśnienie tętnicze	choroby nerek/niewydolność nerek	hiperlipidemia	przebyty zawał	choroby serca/niewydolność serca
w trzech próbach	13	40	30	23	60	233	11 21%	41 77%	5/3 9%/6%	25 47%	13 25%	20/5 38%/9%

AA – intensywność agregacji pod wpływem kwasu arachidonowego, ADP - intensywność agregacji pod wpływem ADP, M- mężczyźni, K- kobiety

- 53 pacjentów (co stanowi 40% badanych) zachowało wrażliwość na ASA i pochodne tienopirydyny zarówno przed jak i 24h i miesiąc po koronarografii lub implantacji stentu; nie zaobserwowano różnic w zależności od rodzaju wykonanej procedury medycznej
- większość pacjentów wrażliwych na zastosowane leczenie przeciwplatekcyjne chorowała na nadciśnienie tętnicze, połowa na hiperlipidemię, co piąty na cukrzycę a co czwarty miał w wywiadzie odnotowany przebyty zawał serca

Tabela 4.16.5 : Wartość bezwzględna i odsetek występowania chorób towarzyszących u pacjentów opornych na zastosowanie leczenia przeciwplatekcyjnego

pacjenci oporni na zastosowane leczenie przeciwplatekcyjne	cukrzyca	nadciśnienie tętnicze	choroby nerek /niewydolność nerek	hiperlipidemia	przebyty zawał serca	choroby serca /niewydolność serca
77	21 27%	59 77%	9 12%	30 39%	16 21%	29/12 38%/16%

U pacjentów, u których stwierdzono stałą lub przemijającą oporność na ASA i/lub pochodne tienopirydyny częstość występowania cukrzycy, nadciśnienia tętniczego, chorób nerek i serca była identyczna, jak w grupie osób wrażliwych, a częstość występowania hipercholesterolemii niższa.

Tabela 4.16.6.: Ilość i odsetek pacjentów opornych lub wrażliwych na jeden lub dwa zastosowane leki przeciwplatekcyjne w poszczególnych badanych grupach

Pobranie próbki krwi	wartość bezwzględna i odsetek pacjentów			
	AA > 20% ADP < 60%	AA < 20% ADP > 60%	AA > 20% ADP > 60%	AA < 20% ADP < 60%
przed koronarografią	13 – 14%	12 – 13%	18 – 19%	51- 54%
przed implantacją stentu	6 – 18%	2 – 6%	9 – 26%	17 – 50%
24 h po koronarografii	15 – 17%	8 – 9%	16 – 18%	50 – 56%
24 h po implantacji stentu	7 – 21%	1 – 3%	8 – 24%	17 – 52%
miesiąc po koronarografii*	-	25 – 57%	19 – 43%	-
miesiąc po implantacji stentu	6 – 20%	2 – 7%	8 – 26%	14 – 47%

AA – intensywność agregacji pod wpływem kwasu arachidonowego, ADP - intensywność agregacji pod wpływem ADP,* ADP < 60% nie jest rozpatrywane, gdyż pacjenci w grupie miesiąc po koronarografii nie stosują pochodnych tienopirydyny, ADP > 60% nie oznacza w tej grupie oporności na pochodne tienopirydyny, tylko niezahamowaną przez leki reaktywność płytek

- u połowy badanych pacjentów wykazano wrażliwość na oba zastosowane leki przeciwplatekcyjne, niezależnie od tego, czy próbka krwi była pobrana przed badaniem, 24 h po lub miesiąc po i niezależnie, czy w czasie badania implantowano stenty, czy nie
- co piąty pacjent poddawany koronarografii diagnostycznej i co czwarty poddawany implantacji stentów jest w dniu zabiegu oporny równocześnie na oba zastosowane leki przeciwplatekcyjne
- co siódmy pacjent poddawany koronarografii zakończonej lub nie plastyką naczyń wieńcowych jest oporny na kwas acetylosalicylowy z jednocześnie zachowaną wrażliwością na pochodne tienopirydyny
- w przypadku oporności na pochodne tienopirydyny przy zachowanej wrażliwości na kwas acetylosalicylowy odsetek pacjentów opornych, poddawanych badaniu różni się w zależności od tego czy w czasie badania implantuje się im stenty (6%), czy nie (13%)
- odsetek pacjentów opornych na jeden lub dwa leki przeciwplatekcyjne nie zmienia się znacząco niezależnie od momentu pobrania krwi do badania (przed zabiegiem, 24h po, miesiąc po) a także niezależnie od wykonywanych podczas zabiegu procedur medycznych

5. Wnioski

1. Nie odnotowano istotnego statystycznie wpływu zarówno koronarografii, jak i implantacji stentu, na liczbę, morfologię (objętość, gęstość, masę) i intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem aktywatorów (ADP, kwas arachidonowy, kolagen i adrenalina)
2. Średnie wartości liczby i morfologii płytek krwi mieściły się w granicach referencyjnych, natomiast średnie wartości intensywności agregacji płytek były u pacjentów z ChNS niższe niż występujące u ludzi nie pobierających leków przeciwplatek i charakteryzowały się dużym zróżnicowaniem (wahały pomiędzy wartościami niskimi i wysokimi).
3. Stężenie mikrocząstek u pacjentów z ChNS było wyższe niż w grupie kontrolnej. U kobiet wzrosło po koronarografii, a u mężczyzn po implantacji stentu. Średnia wyników nie przekroczyła jednak wartości uznanych za referencyjne.
4. We wszystkich badanych grupach pacjentów leczonych z powodu ChNS odnotowano bardzo istotną statystycznie korelację pomiędzy zmianą gęstości i objętości płytek krwi (MPC, MPV) poddanych działaniu ADP a intensywnością agregacji płytek krwi pod wpływem ADP. We wszystkich badanych grupach, w których pacjenci pobierali pochodne tienopirydyny spadek MPC był dwukrotnie mniejszy niż u pacjentów stosujących jako profilaktykę przeciwzakrzepową tylko ASA.
5. U 60 procent pacjentów z ChNS stwierdzono utrzymującą się ponad miesiąc lub przemijającą oporność na ASA i / lub klopidogrel bądź tiklopidynę.
6. Wśród pacjentów opornych na leki przeciwplatekowe nie stwierdzono występowania w zwiększonym odsetku cukrzycy, nadciśnienia tętniczego, chorób nerek, płuc i zawału serca w wywiadzie

6. Dyskusja

W okresie ostatnich kilkudziesięciu lat obserwujemy na świecie stały wzrost zachorowalności na chorobę niedokrwienną serca (ChNS) i umieralności z powodu zawału mięśnia sercowego, będącego najgroźniejszym jej powikłaniem¹. Nie bez przyczyny już w czasach Hipokratesa nazywana była mediatio mortis (przygotowanie do śmierci).

W XX wieku ChNS została uznana za chorobę cywilizacyjną, co zaowocowało rozwinięciem badań nad jej etiologią, klasyfikacją i leczeniem. Walka z tą chorobą obejmuje eliminowanie modyfikowalnych czynników ryzyka, farmakoterapię i leczenie inwazyjne poprzedzone koronarografią.

Zarówno inwazyjne badania (koronarografia), jak i leczenie (najczęściej wykonuje się przezskórną angioplastykę z implantacją stentu) niosą ze sobą ryzyko szeregu powikłań, wśród których bardzo groźnym w skótkach jest zakrzepica w stencie.

Od czasu, gdy wykazano ponad 50% redukcję ryzyka zdarzeń zakrzepowych związaną z zastosowaniem kwasu acetylosalicylowego (ASA)¹⁷², leczenie przeciwplatek stało się standardem postępowania u pacjentów poddawanych przezskórnym interwencjom wieńcowym (PCI). Obecnie, ze względu na fakt, że ASA i klopidoogrel są najlepiej przebadanymi lekami przeciwplatekowymi i w związku z ich wysoką skutecznością są one zalecane wszystkim pacjentom bez szczególnych przeciwwskazań do stosowania przed i po PCI z implantacją stentu¹⁷³.

Wprowadzenie leków przeciwplatekowych nie rozwiązało jednak całkowicie problemu występowania zdarzeń zakrzepowych w krótkim i długim czasie po koronarografii i PCI. Aby rozwiązać problem zakrzepicy pojawiającej się po zaprzestaniu stosowania leków przeciwplatekowych wydłużono pierwotnie miesięczną terapię skojarzoną (ASA + pochodne tienopirydyny) do 3 a następnie 12 miesięcy (dotyczy DES-ów). Zmniejszyło to ilość zakrzepic w stencie, ale nie wyeliminowało ich całkowicie. Nadal pozostaje grupa pacjentów, u których obserwuje się niedostateczne obniżenie reaktywności płytek krwi w czasie leczenia przeciwplatekowego.

W związku ze zmienną osobniczo odpowiedzią poszczególnych pacjentów na leki przeciwplatekowe i zagrożeniem zakończonych zawałem incydentów zakrzepowych, wielu autorów sugeruje indywidualne monitorowanie stanu reaktywności płytek krwi. W tym kontekście pozostają do rozstrzygnięcia następujące kwestie:

- w którym momencie i ewentualnie jak często monitorować reaktywność płytek krwi, skoro wrażliwość i oporność na leki przeciwplatekowe może być cechą zmienną,
- czy reaktywność płytek zmienia się u danego pacjenta 24 godziny po koronarografii, 24 godziny po implantacji stentu, miesiąc po koronarografii i miesiąc po implantacji stentu w stosunku do wartości sprzed zabiegu
- czy reaktywność płytek krwi jest wystarczająco zahamowana przed zabiegiem
- czy występowanie chorób towarzyszących (cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, hiperlipidemia, choroby nerek i serca, niewydolność serca, przebyty zawał) jest częstsze u osób opornych na leki przeciwplatekowe, a jeżeli tak to w jakim odsetku

- jakim testem monitorować reaktywność płytek krwi – agregacja jest „złotym standardem”, ale jest czaso- i pracochłonna a ponadto wymaga wykwalifikowanego personelu
- czy jakość diagnostyczna nowatorskiej metody oceny reaktywności płytek krwi, u podstaw której leży założenie, że gęstość zaktywowanych płytek krwi ulegających degranulacji zmniejsza się, jest porównywalna do jakości diagnostycznej agregometrii i jak w kontekście zmian gęstości zachowują się inne parametry płytkowe mające na nią wpływ (objętość i masa płytek krwi)
- czy stężenie mikrocząstek pochodzenia płytkowego zmienia się pod wpływem koronarografii i implantacji stentu.

6.1. Omówienie wyników

6.1.1. Ocena farmakologicznej ochrony przeciwzakrzepowej przed koronarografią / implantacją stentu oraz dzień i miesiąc po koronarografii / implantacji stentu

Przeprowadzone badania agregometryczne umożliwiły ocenę farmakologicznej ochrony przeciwzakrzepowej na różnych etapach występowania zwiększonego zagrożenia zakrzepowego. Na podstawie uzyskanych wyników podjęto próbę ustalenia, czy któryś z tych etapów wpływa na tyle znacząco na reaktywność płytek krwi, że wymagałby w przyszłości monitorowania:

- przed koronarografią (przygotowanie pacjenta do zabiegu)
- 24 h po koronarografii / implantacji stentu (stan po zabiegu i zmiana w stosunku do wartości sprzed zabiegu)
- miesiąc po koronarografii / implantacji stentu (stan miesiąc po zabiegu i zmiana w stosunku do wartości sprzed zabiegu)

Z uwagi na fakt, że zwiększony obrót płytkowy obniża skuteczność leków przeciwzakrzepowych, sprawdzono, jak zmienia się liczba płytek krwi podczas wykonywanych procedur medycznych i skorelowano te dane z uzyskanymi wartościami reaktywności płytek krwi.

Standard farmakologicznego przygotowania pacjenta do badania koronarograficznego, po którym, w przypadku wskazań, wykonuje się angioplastykę z implantacją stentu/ów polega na podawaniu przez tydzień skojarzonego leczenia przeciwplatekowego (ASA + pochodne tienopirydyny). Ten podwójny mechanizm blokowania aktywności płytek krwi ma na celu obniżenie ich reaktywności w zetknięciu z czynnikami prozakrzepowymi związanymi z przeprowadzanymi procedurami medycznymi (nakłucie naczynia, wprowadzanie do naczynia cewnika, kontrastu, stentu). Optymalne zahamowanie aktywności płytek krwi, nie grożące jednocześnie powikłaniami krwotocznymi, to takie, w którym ich intensywność agregacji *in vitro* pod wpływem 20 μ mol ADP wynosi nie więcej niż 60% (prawidłowa wrażliwość pacjenta na pochodne tienopirydyny), a pod wpływem kwasu arachidonowego nie więcej niż 20% (prawidłowa wrażliwość pacjenta na ASA).

U badanych pacjentów średnia wyliczona z uzyskanych wyników (wyżej wymienionych parametrów) oscylowała wokół tych wartości. Zauważyć jednak należy, że odchylenia standardowe były wysokie, co oznacza dużą niejednorodność danych – występowały osoby bardzo, umiarkowanie i mało wrażliwe oraz całkowicie odporne na jeden

i/lub dwa zastosowane leki przeciwplatekcyjne. Tylko u połowy badanych pacjentów przystępujących do planowej koronarografii wykazano wrażliwość na oba zastosowane leki przeciwplatekcyjne. U pozostałych stwierdzono oporność. Co gorsza, najczęściej dotyczyła ona łącznie obu zastosowanych leków (19% pacjentów poddawanych koronarografii diagnostycznej i 26% poddawanych implantacji stentów). W przypadku oporności tylko na kwas acetylosalicylowy z jednocześnie zachowaną wrażliwością na pochodne tienopirydyny odsetek pacjentów wynosił nieco mniej, bo 15 % niezależnie, czy po koronarografii nastąpiła plastyka naczyń wieńcowych, czy nie. Z kolei w przypadku oporności na pochodne tienopirydyny przy zachowanej wrażliwości na kwas acetylosalicylowy odsetek pacjentów opornych, poddanych badaniu różnił się w zależności od tego czy po badaniu implantowano im stenty (6%), czy nie (13%).

Odsetek osób przystępujących do planowego badania, mogącego przejść w inwazyjny zabieg angiografii, wykazujących niewystarczająco zahamowaną reaktywność płytek krwi był więc bardzo wysoki. Zastosowana w pracy metoda badawcza nie umożliwiła sprawdzenia czy było to spowodowane opornością na zastosowane leki, czy nieregularnym ich przyjmowaniem. Niezależnie od tego, co było przyczyną zaobserwowanego zjawiska wykonywane procedury medyczne są przez to obciążone bardzo dużym ryzykiem powikłań zakrzepowych. W piśmiennictwie znaleźć można doniesienia, że u pacjentów, u których wystąpiła zakrzepica w stencie (pomimo stosowania leczenia przeciwplatekcyjnego) zaobserwowano większą indukowaną agregację płytek krwi¹⁷⁴. Wydaje się więc zasadnym sprawdzanie reaktywności płytek krwi przed przystąpieniem do zabiegu i ewentualnie w przypadku stwierdzenia wysokiej reaktywności zabezpieczenie pacjenta dodatkową dawką leku. Aplikowanie każdemu pacjentowi uderzeniowej dawki przed zabiegiem nie byłoby słuszne ze względu na ryzyko powikłań krwotocznych.

W kontekście tak niekorzystnego profilu wrażliwości pacjentów przystępujących do badania powstaje pytanie, jak wyglądała reaktywność płytek krwi po zadziałaniu czynników trombogennych będących składową koronarografii i implantacji stentów w obserwacji 24h i miesięcznej. Podobnie, jak przed zabiegiem tylko połowa pacjentów charakteryzowała się pełną wrażliwością na oba stosowane leki przeciwplatekcyjne (lub tylko na ASA w przypadku obserwacji miesięcznej po koronarografii diagnostycznej). Odsetek osób opornych na oba lub tylko jeden lek przeciwplatekcyjny był podobny do tego sprzed zabiegu (dla porównania – w badaniu wrażliwości na podwójne leczenie przeciwplatekcyjne u pacjentów z implantowanymi DES-ami Gori i wsp¹⁷⁵ wykazali, że w grupie 746 pacjentów brak reakcji płytek krwi łącznie na ASA i kłopidogrel dotyczył 6%, brak reakcji jedynie na ASA – 11,5%, a na sam kłopidogrel – 6%).

Czy można więc powiedzieć, że stosowane procedury medyczne nie mają wpływu na wyjściową reaktywność płytek krwi? Trudno jednoznacznie odpowiedzieć na to pytanie, gdyż wprawdzie odsetek pacjentów opornych lub wrażliwych był 24h i miesiąc po zabiegu zbliżony do tego sprzed zabiegu, ale to nie oznacza, że poszczególne osoby zachowały stały profil oporności lub wrażliwości. Część badanych wykazała stałą, część zmienną wrażliwość bądź oporność na zastosowane leki. Nie zauważono żadnej tendencji, czyli ani wzrostu ani spadku oporności bądź wrażliwości w obserwacji przed w stosunku do 24h lub miesiąc po zabiegu. Z uwagi na doniesienia w piśmiennictwie o możliwości spadku wrażliwości na leki przeciwplatekcyjne i zwiększonej reaktywności płytek krwi pod wpływem ADP i kolagenu w przypadku zwiększonego obrotu płytek¹⁷⁶ postanowiono sprawdzić, czy opisywane zjawisko występuje u badanych pacjentów. Nie zauważono istotnych statystycznie zmian ilości płytek krwi (obrót płytkowy) 24h i miesiąc po zabiegu w porównaniu do wartości sprzed zabiegu. Z

uwagi na fakt, że młode, hiperaktywne płytki krwi są większe i bardziej gęste od płytek dojrzałych i że u pacjentów w ostrej fazie zawału serca zaobserwowano podwyższoną wartość określającą średnią objętości płytek krwi (MPV)¹⁷⁷, sprawdzono również zmiany MPV i MPC (średnia gęstości płytek krwi) sprzed zabiegu i 24h oraz miesiąc po. Tak, jak w przypadku ilości płytek krwi, tak w przypadku ich objętości i gęstości nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic sprzed i 24h oraz miesiąc po. Wyklucza to zatem z dużym prawdopodobieństwem możliwość zmian reaktywności płytek krwi w wyniku zwiększonego wytwarzania płytek.

Dość licznie występowały pacjenci, u których oporność i wrażliwość (lub regularność przyjmowania leków) zmieniła się podczas prowadzonych badań dwa razy. Wysoki odsetek osób wykazujących dużą aktywność płytek krwi 24h i/lub miesiąc po zabiegu skłania do rozważenia zasadności badania reaktywności płytek krwi w tym czasie. Wdrożenie takiego algorytmu postępowania wydaje się być z punktu widzenia zapobiegania zakrzepicy i wtórnie zawału mięśnia sercowego zasadne, jest jednak kosztowne. Może warto zweryfikować wskazania do częstych badań reaktywności płytek krwi oznaczeniem stężenia leku we krwi. Nie ma bowiem sensu wdrażanie skomplikowanych i kosztownych procedur walki z opornością na leki przeciwplatekcyjne, jeżeli przyczyną wysokiej reaktywności płytek krwi jest brak współpracy pacjenta z lekarzem, czyli zjawisko non-compliance, a nie oporność płytek krwi.

Być może warto zwiększyć świadomość pacjentów w zakresie częstości powikłań w postaci zakrzepicy w stencie lub zakrzepicy prowadzącej do zgonu, które, jak donosi piśmiennictwo, wynoszą odpowiednio: w przypadku braku reakcji płytek krwi na oba leki przeciwplatekcyjne (11% i 13%¹⁷⁵), na ASA przy zachowanej wrażliwości na kłopidogrel (2,3% i 2,3%¹⁷⁵), na kłopidogrel, przy zachowanej wrażliwości na ASA (2,2% i 4,4%¹⁷⁵).

6.1.2. Ocena przydatności klinicznej dwóch testów oceniających reaktywność płytek krwi – pomiar MPC i mikrocząstek o właściwościach prozakrzepowych

Nierozstrzygnięta pozostaje kwestia doboru testu do badania reaktywności płytek krwi. Przydatny byłby test szybki, tani, czuły i wiarygodny. Takiego niestety brakuje. Agregometria dzięki dobrej dostępności i przystępnym kosztom oznaczenia jest uznawana za „złoty standard”, ale ze względu na praco- i czasochłonność metodyki nie nadaje się do rutynowego zastosowania. Metodą referencyjną monitorowania działania kłopidogrelu jest cytofluorymetryczna ocena fosforylacji białka VASP. Pozwala dzięki użyciu przeciwciał monoklonalnych określić ilość VASP, co jest miarą niezablokowanych receptorów P2Y₁₂. Jej zaletą jest możliwość oceny całego szlaku pobudzenia receptora P2Y₁₂, jednak jest to badanie drogie i wymagające wysokospecjalistycznego sprzętu. Z tego powodu nie może być stosowane rutynowo. Producenci sprzętu medycznego proponują różne inne rozwiązania. Dotychczas żadne z nich nie uzyskało rekomendacji ze strony towarzystw medycznych. Lordkipanidze i wsp.¹⁷⁸ porównali 4 najczęściej stosowane metody oceny czynności płytek krwi, a mianowicie: agregometrię (wykonywaną zarówno w osoczu bogatopłytkowym, jak i krwi pełnej), PFA-100 i Verify Now P2Y₁₂ u 116 pacjentów ze stabilną ChNS leczonych kłopidogrelem, przed planowaną koronarografią. Nie polecili żadnej z tych metod do rutynowej oceny skuteczności kłopidogrelu w hamowaniu płytek krwi. Zasadne są więc dalsze poszukiwania na tym polu.

Podczas badań przetestowano dwie inne metody. Pierwsza z nich polegała na pomiarze MPC (średniej gęstości płytek krwi) we krwi natywnej i godzinę po dodaniu do próbki krwi ADP. Druga testowana metoda opierała się na pomiarze stężenia mikrocząstek o właściwościach prozakrzepowych (MP).

W przypadku oceny parametru MPC, jego niska wartość we krwi natywnej ma zdaniem producenta świadczyć o wystąpieniu in vivo degranulacji zaktywowanych płytek krwi. Dodanie ADP do próbki krwi i obserwacja zmian MPC (mająca świadczyć o degranulacji in vitro) pozwoliły zbadać stopień zablokowania receptorów płytkowych dla ADP przez pochodne tienopirydyny.

Jak już wspomniano powyżej, nie odnotowano ani podwyższonych ani obniżonych wartości MPC we krwi natywnej, średnia wyników znajdowała się w zakresie wartości referencyjnych

Zaobserwowano natomiast bardzo istotną statystycznie korelację pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a intensywnością agregacji pod wpływem ADP. Obserwacja ta dotyczyła pacjentów przed, 24h a także miesiąc po koronarografii bądź angiografii z implantacją stentu. Bardzo dobra korelacja obniżenia MPC z metodą uznaną za „złoty standard” oceny reaktywności płytek krwi i to na każdym badanym etapie wykonywanych procedur medycznych powoduje, że wnioskowanie o reaktywności płytek krwi na podstawie spadku MPC wygląda obiecująco. Ponadto jest to metoda szybka i charakteryzująca się dużą powtarzalnością.

Wnioskowanie o degranulacji płytek krwi na podstawie spadku MPC ma jednak pewne luki. Przeprowadzono bowiem wnikliwą ocenę zmian morfologicznych płytki krwi pod wpływem ADP. Oceniono zmiany:

- objętości płytek krwi (co odzwierciedla MPV)
- gęstości płytek krwi (co odzwierciedla MPC)
- masy płytek krwi (co odzwierciedla MPM).

Okazało się, że zjawisku spadku MPC pod wpływem ADP towarzyszył wzrost MPV (również w sposób silnie skorelowany z intensywnością agregacji). Rodzi się w związku z tym pytanie, czy spadek gęstości płytek pod wpływem ADP był wynikiem ich degranulacji, czy tylko wzrostu objętości? A może oba zjawiska nie wykluczają się? Badania cytometryczne dowiodły, że pod wpływem ADP płytki krwi ulegają częściowej degranulacji, co znajduje odzwierciedlenie w zwiększonej ekspresji P-selektyny i granulofizyny na ich powierzchni¹⁷⁹. Dowiedziono też silnej korelacji pomiędzy intensywnością ekspresji P-selektyny i granulofizyny na powierzchni płytek krwi po zadziałaniu ADP a wielkością spadku MPC¹⁴¹. Może więc parametr MPC zmienia się na skutek degranulacji, a wzrost objętości płytek krwi jest zjawiskiem dodatkowym (związanym na przykład z tym, że płytki krwi po aktywacji tracą dyskooidalny kształt i pojawiają się na ich powierzchni pseudopodia).

Pomocna w odpowiedzi na to pytanie może okazać się obserwacja zmiany MPM pod wpływem ADP. Parametr MPM określa tzw. „suchą masę” płytek. Jest średnią iloczynów objętości i gęstości każdej mierzonej płytki krwi. Pozwala to ocenić, czy zaobserwowany spadek gęstości płytek jest spowodowany tylko wzrostem ich objętości, czy również utratą masy (co mogłoby odpowiadać degranulacji). Po zadziałaniu ADP odnotowano spadki wartości MPM, ale nadmienić należy, że nie były one tak znaczące, jak te w przypadku MPC.

Warto jednak zaznaczyć, że u pacjentów, którym wykonano badania miesiąc po koronarografii bez implantacji stentu (czyli, gdy nie przyjmowali już blokujących receptor dla ADP pochodnych tienopirydyny) zaobserwowano dwukrotnie wyższy spadek MPM pod wpływem ADP niż u pozostałej grupy badanych. W próbie kontrolnej wartość tego spadku była nawet nieco wyższa. Istnieje więc wyraźny związek pomiędzy intensywnością spadku MPC i MPM pod wpływem ADP a stosowaniem lub nie pochodnych tienopirydyny (a tym samym blokadą receptora 2PY₁₂).

Pamiętać trzeba, że ze względu na rodzaj zastosowanego aktywatora (ADP) oceniano w pracy jakość zablokowania płytkowego receptora dla ADP, czyli skuteczność hamowania aktywacji płytek krwi tylko pochodnymi tienopirydyny. Metoda nie nadaje się do oceny skuteczności działania ASA. Wydaje się to jednak nie być aż tak dużą wadą, gdyż z badań własnych wynika, że około 70% (z badań Gori i wsp¹⁷⁵ – około 50%) pacjentów wykazujących brak reakcji na pochodne tienopirydyny wykazuje jednocześnie brak reakcji na ASA. Jest to bardzo istotne, ponieważ zastosowanie testu oceniającego reakcję płytek krwi po dodaniu nasycającej dawki kłopidogrelu pozwoliłoby z dużym prawdopodobieństwem odpowiedzieć na pytanie, czy chory należy do grupy podwyższonego ryzyka wystąpienia zakrzepicy w stencie, czy nie.

Jak wspomniano powyżej, druga testowana metoda polegała na pomiarze stężenia mikrocząstek o właściwościach prozakrzepowych (MP). Te fragmenty komórek uwalniane z płytek krwi po ich aktywacji są odpowiedzialne za 25% aktywności prozakrzepowej krwi¹⁸⁰, gdyż posiadają powierzchnię fosfolipidową o 50-100 razy silniejszych właściwościach prozakrzepowych niż identyczna powierzchnia zaktywowanych płytek krwi¹⁸¹. To ona jest wykorzystywana w teście jako matryca, na której przebiega kaskada krzepnięcia (czynniki krzepnięcia dodawane są z zewnątrz).

Określenie stężenia mikrocząstek u badanych osób miało na celu sprawdzenie przydatności ich oznaczania w ocenie skuteczności działania leków hamujących aktywność płytek krwi u pacjentów poddawanych procedurom medycznym zarażającym powikłaniami zakrzepowymi i ocenę wpływu tych procedur na ich generację.

Średnie wartości MP w każdym analizowanym przypadku (przed koronarografią/zabiegiem z implantacją stentu, dzień po koronarografii/zabiegu, miesiąc po koronarografii/zabiegu) przekroczyły zakres wartości referencyjnych, ale nie weszły w obszar wyników uznawanych za patologiczne. Trzeba jednak dodać, że odchylenia standardowe osiągnęły bardzo wysokie wartości, czyli zaobserwowano duży rozrzut uzyskanych wyników; wystąpili pacjenci zarówno z wynikami <5nM (norma), jak i >10 nM (patologia). Nie zaobserwowano związku wartości MP z wartościami intensywności agregacji płytek krwi pod wpływem użytych aktywatorów. Nie odnotowano także istotnego wpływu zarówno zabiegu koronarograficznego, jak i implantacji stentu na stężenia MP mierzone 24h i miesiąc po zabiegu (wartość korelacji $p < 0,050$ uzyskano tylko w przypadku zmiany stężeń MP u kobiet przed koronarografią vs dzień po koronarografii bez implantacji stentu ($p = 0,027$) i u mężczyzn przed koronarografią vs dzień po koronarografii z implantacją stentu ($p = 0,037$)).

W grupie kontrolnej, którą stanowiły osoby nie biorące leków przeciwplatekcyjnych i nie poddawane inwazyjnym procedurom medycznym, uzyskano wartości niższe niż u badanych pacjentów, mieszczące się w granicach podanych przez producenta testu za referencyjne.

Konsekwencją braku korelacji wartości MP z wartościami intensywności agregacji jest też fakt, że u pacjentów z dużą reaktywnością płytek krwi *in vitro* (czyli nie wykazujących działania leków przeciwplatekowych), nie odnotowano podwyższonych stężeń MP w osoczu po 24h i miesiącu od zadziałania trombotycznych procedur medycznych (koronarografia, angiografia z implantacją stentu, pozostawienie stentu w naczyniu). Czy oznacza to, że płytki krwi mimo stwierdzonej wysokiej ich reaktywności nie uległy aktywacji po kontakcie z czynnikami prozakrzepowymi, czego wyrazem byłoby odłączenie z ich powierzchni mikrocząstek? Mikrocząstki są uwalniane z płytek krwi w miejscu ich aktywacji (w tym przypadku są to naczynia wieńcowe) i szybko ulegają eliminacji z krążenia (piśmiennictwo podaje ten czas jako 30 minut w przypadku myszy¹⁸² i nawet mniej niż 10 minut w przypadku królików¹⁸³). Opisano w literaturze przypadek pobrania do badań krwi wieńcowej pod koniec wykonywania krążenia pozaustrojowego. Stwierdzono w niej obecność mikrocząstek w wysokich stężeniach, podczas gdy w krążeniu obwodowym nie odnotowano ich wzrostu¹⁸⁴. Tak więc niskie stężenia MP we krwi obwodowej, nie mające znaczenia systemowego, nie wykluczają lokalnie wysokiego ich stężenia o działaniu patologicznym¹⁸⁵. W rozważaniach dotyczących mikrocząstek warto mieć na względzie również fakt, że obecna wiedza na ich temat pochodzi głównie z eksperymentów wykonywanych *in vitro* na hodowlach komórkowych. Mechanizmy powodujące ich tworzenie *in vivo* pozostają nadal w dużej mierze nieznane.

Warto też podkreślić, że nawet jeżeli w trakcie wykonywania procedur medycznych nastąpiła aktywacja płytek krwi w naczyniach wieńcowych, to nie wywołało to natychmiastowych powikłań zakrzepowych, gdyż kilka godzin po zabiegu tylko u jednej badanej osoby odnotowano lekko podwyższone stężenie troponiny. U pozostałych badanych ani troponina ani CKMB masa nie przekraczały wartości referencyjnych.

6.1.3. Ocena wpływu występowania chorób towarzyszących na częstość stwierdzanej oporności na leki przeciwplatekowe

W związku z doniesieniami, że cukrzyca¹⁸⁶⁻¹⁸⁹, otyłość, nikotynizm, nadciśnienie tętnicze, niewydolność serca i hipercholesterolemia stanowią czynniki ryzyka oporności na leki przeciwplatekowe postanowiono sprawdzić profil wrażliwości na w/w leki u badanych pacjentów cierpiących na wspomniane schorzenia.

U osób, u których wykazano łączną oporność na oba zastosowane leki przeciwplatekowe, na każdym badanym etapie wykonywania procedur medycznych odnotowano częstsze występowanie nadciśnienia tętniczego i hiperlipidemii niż u osób z przemijającą opornością (tylko w jednej lub dwóch próbkach krwi); wspomniana obserwacja nie dotyczy cukrzycy, niewydolności serca i zawału serca w wywiadzie. Prawie wszyscy pacjenci oporni na kwas acetylosalicylowy (niezależnie, czy stale czy przemijająco) chorowali jednocześnie na nadciśnienie tętnicze (75-85%), a około 30% na cukrzycę; zaobserwowano wprost proporcjonalną zależność ilości prób, w których odnotowano oporność do częstości występowania hiperlipidemii, niewydolności serca, zawału serca w wywiadzie. Prawie wszyscy pacjenci oporni na pochodne tienopirydyny i jednocześnie wrażliwi na ASA chorowali na nadciśnienie tętnicze; nie zaobserwowano korelacji pomiędzy częstością występowania oporności na pochodne tienopirydyny a zachorowalnością na cukrzycę, hiperlipidemię, niewydolność serca, czy niewydolność nerek; trzeba jednak dodać, że grupa była nieliczna i przez to trudna do wiarygodnej oceny statystycznej

Wydawać by się mogło, że choroby towarzyszące, takie jak: nadciśnienie tętnicze, hiperlipidemia i cukrzyca występują na tyle często u osób wykazujących oporność na leki przeciwplatetkowe, że cierpiący na te choroby stanowią grupę zwiększonego ryzyka. Trzeba jednak podkreślić, że większość pacjentów wrażliwych na zastosowane leczenie przeciwplatetkowe też chorowała na nadciśnienie tętnicze, połowa na hiperlipidemię, co piąty na cukrzycę a co czwarty miał w wywiadzie odnotowany przebyty zawał serca. Wynika to z faktu, że są to choroby wpływające znacząco na powstanie i progresję ChNS.

Tak więc u pacjentów, u których stwierdzono stałą lub przemijającą oporność na ASA i/lub pochodne tienopirydyny częstość występowania cukrzycy, nadciśnienia tętniczego, chorób nerek i serca była identyczna, jak w grupie osób wrażliwych, a częstość występowania hipercholesterolemii nawet niższa.

Z uzyskanych badań nie wynika więc aby w/w choroby przyczyniły się do oporności na zastosowane leki przeciwplatetkowe. W przypadku cukrzycy przyczyna dużej intensywności agregacji płytek krwi pomimo stosowania ASA tkwi często w zwiększonej produkcji płytek krwi¹⁹⁰. U badanych pacjentów nie odnotowano tego zjawiska.

Nadmienić należy, że uzyskane wyniki nie są sprzeczne z doniesieniami o utrzymującej się u diabetyków leczonych kłopidogrelem wysokiej reaktywności płytek krwi¹⁸⁶ (zjawisko zwane "high on-clopidogrel residual platelet reactivity"). Nie analizowano bowiem poszczególnych wartości intensywności agregacji płytek krwi w odniesieniu do chorób towarzyszących ChNS, a częstość występowania wspomnianych schorzeń u pacjentów wrażliwych i opornych na zastosowane podwójne leczenie przeciwplatetkowe.

6.2. Proponowane w piśmiennictwie rozwiązania problemu oporności na stosowane dotychczas leki przeciwplatetkowe

W pierwszej kolejności warto przeanalizować, czy chory oprócz leków przeciwplatetkowych nie zażywa jednocześnie omeprazolu lub blokerów kanału wapniowego z grupy dihydropirydyny. Kłopidogrel, będący prolekiem ulega biotransformacji w wątrobie przy udziale enzymu CYP3A4 w cytochromie P-450. Zarówno omeprazol, jak i blokery kanału wapniowego są metabolizowane przez ten sam enzym, co powoduje ich niekorzystną interakcję z kłopidogrelem manifestującą się obniżeniem jego hamującego wpływu na czynność płytek krwi^{191,192}. W obserwacji 6-cio miesięcznej, w grupie chorych przyjmujących kłopidogrel razem z blokerem kanału wapniowego znamienne częściej występował złożony punkt końcowy (zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych, zawał serca niezakończony zgonem, zakrzepica w stencie i rewaskularyzacja) w porównaniu z chorymi nieprzyjmującymi blokera kanału wapniowego – odpowiednio 25% vs 8%¹⁹⁰. J.Price¹⁹³ sugeruje jednak, że groźny w skutkach wpływ interakcji PPI (inhibitorów pompy protonowej, w tym omeprazolu) z kłopidogrelem objawia się tylko w wąskiej grupie pacjentów charakteryzujących się dużą reaktywnością płytek krwi. Rozsądek kliniczny podpowiada jednak, aby, jeżeli tylko sytuacja kliniczna na to pozwoli, unikać łączenia tych leków z kłopidogrelem, gdyż nie ma pewności jak wpłynie to na osobniczo zmienny poziom aktywności płytek krwi. Jeżeli natomiast wystąpi konieczność łączenia kłopidogrelu z omeprazolem, to warto zwrócić uwagę na wytyczne opracowane wspólnie przez amerykańskich gastrologów i kardiologów¹⁹⁴.

Pomijając eliminację leków wchodzących w interakcję z lekami przeciwplatekowymi jedną z prostszych metod walki z opornością jest zwiększenie dawek nieprzynoszących spodziewanych rezultatów leków przeciwplatekowych. W przypadku ASA do zablokowania COX-1 w 95% wystarczy dawka 80-325 mg na dobę. Większe dawki (zwłaszcza powyżej 500mg) hamują także COX-2 i prostacyclinę, co wiąże się z dodatkowym działaniem przeciwplatekowym kosztem jednak znacznie gorszego profilu bezpieczeństwa. Europejskie Towarzystwo Kardiologiczne zaleca standardowo stosowanie ASA i kłopidogrelu w dawkach odpowiednio 75-150 mg i 75 mg. Są to dawki, które zwykle pozwalają na uzyskanie wystarczającej blokady funkcji płytek przy minimalnym ryzyku powikłań krwotocznych¹⁹⁵. W badaniu OASIS 7 udowodniono, że u chorych z OZW, poddanych angioplastyce wieńcowej, dwukrotne zwiększenie dawki kłopidogrelu (150 vs 75 mg przez 7 dni) zmniejsza ryzyko wystąpienia zakrzepicy w stencie nawet o 42%, a zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych, zawału mięśnia sercowego lub udaru mózgu o 15%¹⁹⁶. Nadal jednak wielu chorym podwojenie dawek nie przynosi pożądanego efektu terapeutycznego. Dowodzą tego wyniki badania GRAVITAS. Pacjentom poddanych implantacji DES-ów, u których przy pomocy testu VerifyNow P2Y12, stwierdzono (pomimo zastosowania standardowej dawki kłopidogrelu) wysoką reaktywność płytek krwi, zwiększono dwukrotnie dawkę leku. W obserwacji sześciomiesięcznej nie przyniosło to spodziewanego efektu w postaci zmniejszenia ryzyka zgonu, zawału serca i zakrzepicy w stencie (liczonych łącznie)¹⁹⁷. Wprawdzie w przypadku zastosowania podwójnej dawki kłopidogrelu reaktywność płytek krwi obniżyła się znacznie niż w przypadku stosowania dawek standardowych, nadal jednak do wartości niebezpiecznie wysokich. W badaniu ELEVATE-TIMI 56 zbadano z kolei wpływ czterech dawek kłopidogrelu (75, 150, 225 i 300 mg/dzień) na reaktywność płytek krwi (oceniając przy pomocy PRI VASP i VerifyNow P2Y12) w populacji chorych na choroby sercowo-naczyniowe, gdzie za słabą reakcją na kłopidogrel odpowiedzialne było nosicielstwo (hetero lub homozygotyczne) genu kodującego enzym CYP2C19. Okazało się, że u heterozygot dopiero dawka 225 mg spowodowała obniżenie reaktywności płytek krwi do wartości uzyskiwanych przez osoby z prawidłowym enzymem CYP 3A4 pobierające 75 mg kłopidogrelu¹⁹⁸. W przypadku homozygot nawet dawka 300 mg nie wpłynęła znacząco na reaktywność płytek krwi¹⁹⁸. Trudno jednak jednoznacznie stwierdzić, by dawkowanie kłopidogrelu w oparciu o rodzaj genu CYP jest dobrym tropem terapeutycznym, gdyż dotychczas nie dowiedziono przełożenia takich działań na korzyści kliniczne¹⁹⁸.

Interesującą propozycją jest uzależnianie początkowego dawkowania kłopidogrelu po wszczepieniu stentu od wyniku PRI VASP. Projekt ten przedstawiono podczas kongresu AHA w Nowym Orleanie w 2008 roku. Chorym podawano 600 mg kłopidogrelu i w przypadku nieuzyskania pozytywnego wyniku testu po podaniu jednorazowym tej dawki, pacjenci otrzymywali ją jeszcze przez 3 kolejne dni. Okazało się, że takie postępowanie doprowadziło w obserwacji 30-dniowej do znamienne rzadszego występowania zakrzepicy w stencie (0,5% vs 4,7%) i zawału serca (0,5% vs 4,8%). Przy tak intensywnym leczeniu kłopidogrelem nie stwierdzono zwiększonej częstości powikłań krwotocznych.

Innym sposobem pozwalającym zmniejszyć ryzyko wystąpienia zakrzepicy u osób, u których stwierdzono oporność na ASA i/lub kłopidogrel jest dodanie do terapii inhibitora GP IIb/IIIa¹⁹⁹. Zaobserwowano, że intensyfikacja hamowania funkcji płytek krwi za pomocą tirofibanu u osób z rozpoznaniem dławicy piersiowej (stabilnej lub niestabilnej o małym ryzyku) i poddawanych angioplastyce wieńcowej, a jednocześnie słabo odpowiadających na leczenie ASA i/lub kłopidogrelem, zmniejsza ryzyko zawału serca po interwencji wieńcowej. Ryzyko krwawienia u pacjentów otrzymujących dodatkowo tirofiban było małe i nie różniło się znacząco od grupy otrzymującej placebo.

Kolejną koncepcją przełamania oporności jest dołączenie do terapii cilostazolu²⁰⁰. Lek ten odwracalnie hamuje agregację płytek krwi dzięki selektywnemu hamowaniu fosfodiesterazy typu 3, zwiększając stężenie cAMP w płytkach krwi. Cilostazol dodany do standardowej terapii przeciwplatekowej u osób poddanych stentowaniu tętnic wieńcowych skuteczniej niż kłopidogrel (w dawce podtrzymującej 150 mg) zmniejsza wzmożoną aktywność płytek.

Zmniejszenia oporności na doustne leki przeciwplatekowe można też oczekiwać wraz z wprowadzeniem nowych leków: pochodnej tienopirydyny – prasugrelu oraz nietienopirydynopochodnych, odwracalnych, kompetycyjnych antagonistów receptora P2Y₁₂: tikagreloru, kangreloru i elinogreloru.

Prasugrel jest doustnym prolekiem trzeciej generacji, hamującym w sposób nieodwracalny receptor P2Y₁₂. Działa silniej niż kłopidogrel, między innymi dlatego, że do uzyskania aktywnego metabolitu wystarczy jednostopniowa reakcja (w przypadku kłopidogrelu reakcja przebiega dwuetapowo). Badanie TRITON-TIMI 38 pokazało, że zastosowanie prasugrelu u pacjentów po PCI, wykonywanej z powodu ostrego zespołu wieńcowego, znacznie zmniejszyło w obserwacji 15-to miesięcznej ilość groźnych dla życia incydentów niedokrwiennych (zgon sercowo-naczyniowy, zawał serca, udar mózgu) i to zarówno w czasie pierwszych trzech dni podawania dawki nasycającej, jak i w czasie stosowania dawki podtrzymującej, a także ilość zakrzepic w stencie (niezależnie od rodzaju zastosowanego stentu i czasu ich wystąpienia – poniżej i powyżej 30 dni od zabiegu) w porównaniu z grupą pacjentów leczonych kłopidogrelem. Ceną tak silnego działania przeciwzakrzepowego był wzrost odsetka poważnych powikłań krwotocznych. Warto jednak dodać, że całkowita kliniczna korzyść, uwzględniająca powikłania krwotoczne, była większa w przypadku prasugrelu (w porównaniu do kłopidogrelu)²⁰¹. Podobne obserwacje uzyskali również Wiviott S.D i wsp²⁰².

Zachęcające pod względem małej ilości powikłań krwotocznych są wyniki porównania kłopidogrelu z tikagrelorem²⁰³. Zastosowanie podczas leczenia OZW tikagreloru zamiast kłopidogrelu zmniejsza ryzyko zgonu sercowo-naczyniowego, udaru mózgu i zawału mięśnia sercowego bez istotnego wpływu na częstość poważnych krwawień. W grupie chorych, u których stosowano tikagrelor częściej niestety obserwowano duszność, bradyarytmię a także zwiększenie stężenia kreatyniny i kwasu moczowego w surowicy.

Alternatywę dla doustnych leków przeciwplatekowych może stanowić kangrelor, który jest dożylnym, odwracalnym inhibitorem receptora P2Y₁₂²⁰⁴. Kangrelor, będący analogiem ATP, ma krótki okres półtrwania, dzięki czemu normalizacja funkcji płytek krwi następuje już po 30-60 minutach od zaprzestania podawania leku.

Kwestią wymagającą dalszych badań jest sposób zakończenia podwójnego leczenia przeciwplatekowego. Zwracano uwagę, że część ostrych epizodów wieńcowych pozostaje w czasowym związku z odstawieniem kłopidogrelu. Obecnie nie wydaje się, by stopniowe zmniejszanie dawki kłopidogrelu miało przewagę nad zdecydowanym zakończeniem podawania leku²⁰⁵.

6.3. Indywidualizacja terapii przeciwplatekowej – pieśń przyszłości

Odpowiedź pacjentów na leczenie przeciwplatekowe jest bardzo zróżnicowana, czego konsekwencją jest utrzymujący się u tych osób wysoki odsetek powikłań zakrzepowych. Indywidualizacja terapii pozwoliłaby dobrać taki rodzaj i dawkę leku, który zabezpieczyłby skutecznie pacjenta przed incydentami zakrzepowymi, nie narażając go jednocześnie na ryzyko krwawień. Postuluje się, by punktem wyjścia przy podejmowaniu decyzji o kontynuacji lub modyfikacji standardowego leczenia przeciwplatekowego był wynik testu oceniającego reaktywność płytek krwi. Michelson A.D i wsp.²⁰⁶ dowodzą, że odpowiedź na leczenie przeciwplatekowe można przewidzieć badając osobniczo zróżnicowaną reaktywność płytek krwi jeszcze przed wdrożeniem leczenia. Na potwierdzenie tej tezy może posłużyć badanie przeprowadzone przez Lepantalo i wsp.¹⁰², w którym stwierdzono, że aktywacja GPIIb/IIIa przed podaniem nasycającej dawki 300 mg kłopidogrelu była większa wśród osób, które po 2,5 h słabo odpowiadały na leczenie w porównaniu z pacjentami, którzy odpowiedzieli prawidłowo.

Jeżeli decyzją terapeutyczną byłaby rezygnacja z kłopidogrelu, to dane uzyskane w badaniu TRITON-TIMI 38²⁰¹, podpowiadają, że w przypadku stwierdzenia silnej reaktywności płytek krwi (niezależnie od mechanizmu takiego stanu rzeczy) można bez dużych obaw o wzrost ryzyka powikłań krwotocznych zastąpić kłopidogrel silniejszym lekiem, np. prasugrelem. We wspomnianym badaniu, w grupie pacjentów z cukrzycą, u których stwierdzono dużą reaktywność płytek krwi (hyporespondensi), po zastosowaniu prasugrelu odnotowano znaczny spadek ilości groźnych dla życia powikłań zakrzepowych przy jednoczesnym braku wzrostu ilości powikłań krwotocznych (w porównaniu z kłopidogrelem). Profilaktyczne podanie wszystkim pacjentom prasugrelu nie byłoby rozwiązaniem dobrym, gdyż w tym samym badaniu dowiedziono, że w grupie osób powyżej 75 r.ż. oraz u tych, z wagą poniżej 60 kg. korzyści uzyskane z silnego efektu przeciwzakrzepowego prasugrelu nie przeważały skutków powikłań krwotocznych. Więcej światła na zróżnicowanie i ilość zdarzeń niepożądanych w przypadku stosowania przez hyporespondensów kłopidogrelu lub prasugrelu rzuci badanie TRIGGER-PCI, natomiast badanie TRILOGY ACS, które jest w III fazie badań, oprócz porównania efektywności i bezpieczeństwa prasugrelu z kłopidogrelem, stosowanych u pacjentów z ostrym zespołem wieńcowym, pozwoli skorelować występowanie niedokrwień lub krwawień z wynikami reaktywności płytek krwi.

Wspomniano wcześniej, że osoby posiadające enzym CYP2C19 wolno i słabo metabolizują kłopidogrel, przez co, pomimo stosowania wspomnianego leku, często stwierdza się u nich wysoką reaktywność płytek krwi^{193,198}. W przypadku, gdy pacjent pobiera prasugrel lub tikagrelor zjawisko to nie występuje¹⁹³ (z uwagi na ich odmienność farmakokinetyczną). Czy warto więc wykonywać badania genetyczne przed rozpoczęciem terapii przeciwplatekowej? Nie wydaje się to zasadne, gdyż nie odnotowano wzrostu zapadalności na zakrzepicę w stencie wśród pacjentów z CYP2C19, w porównaniu z pacjentami z prawidłowym enzymem CYP3A4²⁰⁹. Tłumaczyć to można faktem, że w obrębie pacjentów z tym samym enzymem CYP (obojętnie czy prawidłowym, czy zmutowanym) istnieje duża różnorodność reaktywności płytek krwi wynikająca z sumy wszystkich czynników mających na nią wpływ i to właśnie ona decyduje o skłonności do zakrzepcy¹⁹³. Podobna sytuacja ma miejsce w przypadku osłabiania aktywności kłopidogrelu przez PPI¹⁹³.

Jak widać wiele przesłanek przemawia za prowadzeniem terapii przeciwplatek w oparciu o indywidualną charakterystykę reaktywności płytek krwi. W związku z powyższym kluczowym zagadnieniem staje się wybór odpowiedniej metody badania funkcjonalności płytek krwi. Żaden z dostępnych na rynku testów nie został dotychczas rekomendowany przez towarzystwa medyczne. Dobrą opinię w przypadku oceny RPR w trakcie leczenia kłopidogrelem uzyskała MEA ze względu na bardzo istotną statystycznie korelację z LTA²⁰⁷, która to z kolei jest uznawana za metodę referencyjną. Warto dodać, że w badaniach własnych ocena spadku MPC pod wpływem ADP również w bardzo istotny statystycznie sposób korelowała z LTA. Być może znajdzie ona zastosowanie w tych dziedzinach medycyny, gdzie potrzebna jest informacja o stanie funkcjonalnym płytek krwi. Jeszcze jednym atutem tej metody jest dokonywanie pomiaru na analizatorze hematologicznym, co pozwala dodatkowo ocenić ilość i morfologię płytek krwi a także innych komórek, biorących udział w hemostazie.

Kolejnym zagadnieniem wymagającym rozwiązania, któremu jednak nie poświęca się wiele miejsca w literaturze, jest określenie czasu i częstotliwości oceny reaktywności płytek krwi. Wydawałoby się, że dobrym momentem jest rozpoczęcie leczenia przeciwplatekowego, jak również wystąpienie zdarzenia silnie trombotycznego (np. zabiegu inwazyjnego). Ustalenie terapii w oparciu o jednorazową ocenę stanu czynnościowego płytek krwi przed lub na początku jej wdrażania nie jest jednoznaczne z dobrym zabezpieczeniem przeciwzakrzepowym, gdyż reaktywność płytek krwi może się u tej samej osoby zmieniać w czasie²⁰⁸ i raz oznaczona nie wystarczy do ustalenia skutecznej przez dłuższy czas dawki leku. Badania własne potwierdzają tę tezę. Duże nadzieje pod tym względem budzi badanie TRILOGY ACS, gdyż da odpowiedź jak kształtuje się reaktywność płytek krwi u pacjentów pobierających kłopidogrel lub prasugrel w momencie wystąpienia niedokrwień lub krwawień. Pozwoli to oszacować, czy jednorazowe oznaczenie reaktywności płytek krwi jest wystarczające, czy lepsze byłoby monitorowanie tego stanu, a jeżeli tak, to jak często wskazane jest wykonywanie analiz.

Zagadnienie wyboru testu i czasu wykonania badań czynnościowych płytek krwi pozostaje więc nadal kwestią otwartą. Nie bez znaczenia pozostaje fakt, że oprócz złożonego i nie do końca jeszcze poznanego zjawiska zmiennej osobniczo odpowiedzi na leki przeciwplatekowe istotną rolę w zapobieganiu zakrzepicy odgrywa również (o ile nie przede wszystkim) regularność przyjmowania przez pacjentów leków przeciwplatekowych.

7. Streszczenie

Wstęp:

Pomimo stosowania przez pacjentów leków przeciwplatek badania koronarograficzne i zabiegi implantacji stentu są obarczone ryzykiem powikłań zakrzepowych. Przypuszcza się, że przyczyną tego zjawiska może być osobniczo zmienna odpowiedź na lek. Indywidualny dobór dawki i rodzaju leków przeciwplatek byłby możliwy po znalezieniu wiarygodnego testu oceniającego reaktywność płytek krwi i ustaleniu algorytmu postępowania w zależności od otrzymanego wyniku. Dotychczas nie ustalono, czy do wybrania najlepszej, zindywidualizowanej opcji terapeutycznej wystarczyłoby jednorazowe badanie morfologii i stanu czynnościowego płytek krwi, czy może badanie takie należałoby powtórzyć po zaistnieniu czynników silnie prozakrzepowych (na przykład tylko przed, czy także po wykonaniu inwazyjnych procedur medycznych) oraz jakim testem należałoby się w tym celu posłużyć. Ze względu na koszty laboratoryjne należy też rozstrzygnąć, czy badania takie należałoby wykonywać u wszystkich osób, czy ograniczyć je do tych, którzy cierpią na choroby zwiększające ryzyko wystąpienia oporności na leki przeciwplatekowe.

Cele pracy:

1. Ocena wpływu koronarografii i implantacji stentu na:
 - a) morfologię (ilość, objętość i gęstość) i czynność (agregacja pod wpływem ADP, adrenaliny, kolagenu i kwasu arachidonowego) płytek krwi
 - b) generację mikrocząstek o działaniu prozakrzepowymu chorych przyjmujących lek antyagregacyjny z grupy tienopirydyn łącznie z ASA
2. Ocena korelacji nowych markerów aktywacji płytek i ich degranulacji (gęstość płytek krwi / stężenie mikrocząstek o działaniu prozakrzepowym) z referencyjną metodą agregometrii
3. Ocena skuteczności leczenia przeciwplatekowego u pacjentów poddanych koronarografii i implantacji stentów

Materiały i metody:

Badaniami objęto 130 pacjentów z chorobą niedokrwinną serca, przyjętych do Szpitala Wojewódzkiego w Poznaniu, w celu wykonania planowej koronarografii i 26 osób zdrowych (dawców krwi), nie przyjmujących leków przeciwplatek. Przed planowanym badaniem pacjenci pobierali przez 7 dni skojarzone, podwójne leczenie przeciwplatekowe (pochodna tienopirydyny łącznie z ASA). 35 pacjentów zakwalifikowano do PCI z wszczepieniem stentów metalowych (BMS) lub uwalniających leki antymitotyczne (DES). Podczas PCI pacjentom podano w bolusie heparynę niefrakcjonowaną w dawce 70 j/kg m.c. Pozostałych 95 pacjentów po planowym badaniu kontynuowało leczenie ASA i zaprzestało stosowania leku z grupy tienopirydyn. W zależności od implantowanego stentu pacjenci kontynuowali podwójne leczenie przeciwplatekowe przez: 4 tygodnie (BMS) lub 12 miesięcy (DES).

Od pacjentów obu badanych grup przed badaniem, następnego dnia po badaniu oraz miesiąc po badaniu pobrano próbki krwi w celu wykonania następujących oznaczeń:

- liczba (PLT), średnia objętość (MPV), średnia gęstość (MPC) i średnia masa (MPM) płytek krwi – aparat ADVIA 120
- zmiana MPV, MPC i MPM pod wpływem roztworu ADP o stężeniu w próbie 20 μ M/L – aparat ADVIA 120
- intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem aktywatorów (ADP, kwas arachidonowy, kolagen, adrenalina) – aparat BCT
- stężenie mikrocząstek (MP) o właściwościach prozakrzepowych w osoczu – ZYMUPHEN MP Activity

W dniu zabiegu, w godzinach popołudniowych pobierano próbkę krwi w celu oznaczenia troponiny (Tn) i/lub izoenzymu MB kinazy kreatynowej (CKMB).

Omówienie wyników:

- we wszystkich badanych grupach pacjenci uzyskali wartości PLT, MPV, MPC i MPM w granicach wartości referencyjnych dla ludzi zdrowych,
- nie zaobserwowano krótkotrwałego (jeden dzień), jak i długotrwałego (miesiąc) istotnego statystycznie wpływu zarówno koronarografii, jak i implantacji stentu na liczbę (PLT), morfologię (MPV, MPC i MPM) i czynność płytek krwi (wyrażoną za pomocą intensywności ich agregacji pod wpływem ADP, adrenaliny, kolagenu i kwasu arachidonowego)
- we wszystkich badanych grupach średnie wartości intensywności agregacji pod wpływem ADP mieściły się, a pod wpływem kwasu arachidonowego nieco przekraczały zakresy uznane za referencyjne dla pacjentów stosujących pochodne tienopirydyny i/lub ASA; zaznaczyć jednak należy, że współczynniki zmienności były dla tych wartości bardzo duże (średnio dla ADP 25%, dla kwasu arachidonowego 80%), co oznacza bardzo niejednorodną odpowiedź na lek (pacjenci bardzo wrażliwi, średnio i oporni),
- we wszystkich badanych grupach (łącznie z grupą kontrolną) zaobserwowano bardzo istotną statystycznie korelację pomiędzy spadkiem MPC i MPM oraz wzrostem MPV pod wpływem ADP a intensywnością agregacji pod wpływem ADP; w grupach, w których pacjenci pobierali pochodne tienopirydyny spadek MPC był dwukrotnie mniejszy niż u pacjentów stosujących jako profilaktykę przeciwzakrzepową tylko ASA
- średnie stężenie mikrocząstek było we wszystkich grupach wyższe niż w grupie kontrolnej, jednak nie przekraczało wartości uznanych za referencyjne; u kobiet wzrosło po koronarografii, a u mężczyzn po implantacji stentu,
- u 60% pacjentów stwierdzono utrzymującą się ponad miesiąc lub przemijającą oporność na ASA i / lub pochodne tienopirydyny,
- wśród pacjentów opornych na leki przeciwplatekcyjne nie stwierdzono występowania w zwiększonym (w stosunku do pacjentów wrażliwych) odsetku cukrzycy, nadciśnienia tętniczego, chorób nerek, płuc i zawału serca w wywiadzie
- średnia wyników troponiny i CKMB masy oznaczanych u pacjentów kilka godzin po badaniu/zabiegu mieściła się poniżej wartości odcięcia świadczącej o uszkodzeniu mięśnia sercowego

Wnioski :

1. Znaczny odsetek pacjentów z ChNS, przyjmujących ASA i kłopidogrel lub tiklopidynę, charakteryzował się bardzo dużą zmiennością reaktywności płytek krwi, niezależną od wykonywanych procedur medycznych i chorób współistniejących.
2. Jednorazowe wykonanie testu sprawdzającego indywidualną odpowiedź pacjenta na leczenie przeciwzakrzepowe jest ze względu na dużą osobniczą zmienność niewystarczające; w kontekście braku zależności pomiędzy stanem czynnościowym płytek krwi a koronarografią, implantacją stentu i występowaniem chorób współistniejących trudno zaproponować ilość i częstotliwość wykonywania badań płytkowych oraz ewentualną grupę docelową do tych badań.
3. Szybka i prosta metoda oceny funkcji płytek krwi poprzez zmiany MPC pod wpływem ADP wykazuje bardzo istotną statystycznie korelację z agregometrią, wymagałaby jednak dopracowania pozwalającego zweryfikować towarzyszący spadkowi MPC wzrost MPV a także ustalić wartość odcięcia spadku MPC powyżej której wskazana byłaby korekta leczenia antagonistami receptora dla ADP.
4. Stężenie MP o właściwościach prozakrzepowych, oceniane we krwi obwodowej, nie ulegało istotnym statystycznie zmianom podczas wykonywania koronarografii i implantacji stentu. Z uwagi na fakt ich krótkiego okresu półtrwania nie wyklucza to jednak możliwości aktywacji płytek krwi w krążeniu wieńcowym; być może bardziej miarodajnym materiałem do oznaczania MP podczas wykonywania badań inwazyjnych w naczyniach wieńcowych byłaby krew wieńcowa.
5. U żadnego z badanych pacjentów (pomimo wysokiego odsetka osób opornych na stosowane leczenie przeciwzakrzepowe) w ciągu kilku godzin po badaniu/zabiegu nie doszło do najgroźniejszego powikłania na tle zakrzepowym – zawału mięśnia sercowego.

8. Piśmiennictwo:

1. Kubica J, Gil RJ, Pieniążek P. Zalecenia postępowania w kardiologii inwazyjnej – Wytyczne dotyczące koronarografii. *Kardiol Pol*, 2005, 63:5 (supl3).
2. Jackson S.P., Mistry N., Yuan Y.: Platelets and the injured vessel wall – „rolling into action”: focus on glycoprotein Ib/V/IX and the platelet cytoskeleton. *Trends. Cardiovasc. Med.* 2000, 10: 192-197.
3. Ruggeri Z.M.: Platelets in atherothrombosis. *Nat. Med.* 2002, 8: 1227-1234.
4. Furman M.I., Benoit S.E., Bernard M.R. i wsp.: Increased platelet reactivity and circulating monocyte-platelet aggregates in patient with stable coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1998, 31: 352-358.
5. Nomura S., Shouzu A., Omoto S. i wsp.: Significance of chemokines and activated platelets in patients with diabetes. *Clin. Exp. Immunol.* 2000, 121: 437-443.
6. Watala C., Boncler M., Gresner P: Blood platelet abnormalities and pharmacological modulation of platelets reactivity in patients with diabetes mellitus. *Pharmacol. Rep.* 2005, 57 Suppl: 42-58.
7. Lim H.S., Blann A.D., Lip G.Y.: Soluble CD40 ligand, soluble P-selectin, interleukin-6, and tissue factor in diabetes mellitus: relationships to cardiovascular disease and risk factor intervention. *Circulation* 2004, 109: 2524-2528.
8. Gawaz M., Langer H., May A.E.: Platelets in inflammation and atherogenesis. *J. Clin. Invest.* 2005, 115: 3378-3384.
9. Kaplanski G., Farnarier C., Kaplanski S. i wsp.: Interleukin-1 induces interleukin-8 secretion from endothelial cells by a juxtacrine mechanism. *Blood* 1994, 84: 4242-4248.
10. Gawaz M., Brand K., Dickfeld T. i wsp.: Platelets induce alteration of chemotactic and adhesive properties of endothelial cells mediated through an interleukin-1 dependent mechanism. Implications for atherogenesis. *Atherosclerosis* 2000, 148: 75-85.
11. Gawaz M., Page S., Massberg S. i wsp.: Transient platelet interaction induces MCP-1 production by endothelial cells via I kappa B kinase complex activation. *Thromb. Haemost* 2002, 88: 307-314.
12. Gawaz M., Neumann F.J., Dickfeld T. i wsp.: Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation* 1998, 98: 1164-1171.
13. May A.E., Kalsch T., Massberg S. i wsp.: Engagement of glycoprotein IIb/IIIa (alpha(IIb)beta3) on platelets upregulates CD40L and triggers CD40L-dependent matrix degradation by endothelial cells. *Circulation* 2002, 106: 2111-2117.
14. Henn V., Slupsky J.R., Grafe M. i wsp.: CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature* 1998, 391: 591-594.
15. Slupsky J.R., Kalbas M., Willuweit A. i wsp.: Activated platelets induce tissue factor expression on human umbilical vein endothelial cells by ligation of CD40. *Thromb Haemost* 1998, 80: 1008-1014.
16. Schonbeck U., Libby P.: CD40 signaling and plaque instability. *Circ. Res.* 2001, 89: 1092-1103.
17. Massberg S., Schulz C., Gawaz M.: Role of platelets in the pathophysiology of acute coronary syndrome. *Semin. Vasc. Med.* 2003, 3:147-162.

18. von Hundelshausen P., Weber K.S., Huo Y. i wsp.: RANTES deposition by platelets triggers monocyte arrest on inflamed and atherosclerotic endothelium. *Circulation* 2001, 103: 1772-1777.
19. Schober A., Manka D., von Hundelshausen P. i wsp.: Deposition of platelet RANTES triggering monocyte recruitment requires P-selectin and is involved in neointima formation after arterial injury. *Circulation* 2002, 106: 1523-1529.
20. Weyrich A.S., Elstad M.R., McEver R.P. i wsp.: Activated platelets signal chemokine synthesis by human monocytes. *J. Clin. Invest.* 1996, 97: 1525-1534.
21. Neumann F.J., Marx N., Gawaz M. i wsp.: Induction of cytokine expression in leukocytes by binding of thrombin-stimulated platelets. *Circulation* 1997, 95: 2387-2394.
22. Freedman J.E.: CD40-CD40L and platelet function: beyond hemostasis. *Circ. Res.* 2003, 92: 944-946.
23. Freedman J.E., Loscalzo J.: Platelet-monocyte aggregates: bridging thrombosis and inflammation. *Circulation* 2002, 105: 2130-2132.
24. Massberg S., Brand K., Gruner S. i wsp.: A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. *J. Exp. Med.* 2002, 196: 887-896.
25. Massberg S., Schurzinger K., Lorenz M. i wsp.: Platelet adhesion via glycoprotein IIb integrin is critical for atheroprogession and focal cerebral ischemia: an in vitro study in mice lacking glycoprotein IIb. *Circulation* 2005, 112: 1180-1188.
26. Veillard N.R., Kwak B., Pelli G. i wsp.: Antagonism of RANTES receptors reduces atherosclerotic plaque formation in mice. *Circ. Res.* 2004, 94: 253-261.
27. Kirii H., Niwa T., Yamada Y. i wsp.: Lack of interleukin-1beta decreases the severity of atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2003, 23: 656-660.
28. Mach F., Schonbeck U., Sukhova G.K. i wsp.: Reduction of atherosclerosis in mice by inhibition of CD40 signalling. *Nature* 1998, 394: 200-203.
29. Dotter CT, Jutkins MP.: Transluminal treatment of arteriosclerotic obstruction: description of a new technic and a preliminary report of its application. *Circulation* 1964, 30: 654-670.
30. Grüntzig Ar, Senning A, Siegenthaler WE.: Nonoperative dilatation of coronary-artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty. *N Engl J Med* 1979, 301: 61-68.
31. Palmaz JC, Sibbitt RR, Reuter SR i wsp.: Expandable intraluminal graft: a preliminary study: work in progress. *Radiology* 1985, 156: 73-77.
32. Schatz RA, Palmaz JC, Tio FO i wsp.: Balloon-expandable intracoronary stents in the adult dog. *Circulation* 1987, 76: 450-457.
33. Sigwart U, Puel J, Mirkovitch V i wsp.: Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty. *N Engl J Med* 1987, 316: 701-706.
34. de Feyter PJ, de Jaegere PP, Serruys PW. : Incidence, predictors and management of acute coronary occlusion after coronary angioplasty. *Am Heart J* 1994, 127: 643-651.
35. Serruys PW, Strauss BH, Beatt KJ i wsp.: Angiographic follow-up after placement of a self-expanding coronary-artery stent. *N Engl J Med* 1991, 324: 13-17.
36. Roubin GS, Cannon AD, Agrawal SK i wsp.: Intracoronary stenting for acute and threatened closure complicating percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Circulation* 1992, 85: 916-927.
37. Holmes DR Jr, Savage M, La Blanche JM i wsp.: Results of Prevention of REStenosis with Tranilast and its Outcomes (PRESTO) trial. *Circulation* 2002, 106: 1243-1250.

38. Colombo A, Hall P, Nakamura S i wsp.: Intracoronary stenting without anticoagulation accomplished with intravascular ultrasound guidance. *Circulation* 1995, 91: 1676-1688.
39. Bertrand ME, Rupprecht HJ, Urban P i wsp.: Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting: the Clopidogrel Aspirin Stent International Cooperative Study (CLASSICS). *Circulation*, 2000, 102: 624-629.
40. Gawaz M, Neumann FJ, Ott I i wsp.: Platelet activation and coronary stent implantation: effect of antithrombotic therapy. *Circulation* 1996, 94: 279-285.
41. Kastrati A, Schomig A, Dirschinger J i wsp.: Increased risk of restenosis after placement of gold-coated stents: results of a randomized trial comparing gold-coated with uncoated steel stents in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2000, 101: 2478-2483.
42. Gupta V, Aravamuthan BR, Baskerville S i wsp.: Reduction of subacute stent thrombosis (SAT) using heparin-coated stents in a large-scale, real world registry. *J Invasive Cardiol* 2004, 16: 304-310.
43. Farb A., Ashley B. Boam, MS: Stent Thrombosis Redux – The FDA Perspective, *N Engl J Med.* 2007; 356: 984-987
44. Regar E, Sianos G, Serruys PW.: Stent development and local drug delivery. *Br Med Bull* 2001, 59: 227-248.
45. Sousa JE, Costa MA, Abizaid A i wsp.: Four-year angiographic and intravascular ultrasound follow-up of patients treated with sirolimus-eluting stents. *Circulation* 2005, 111: 2326-2329.
46. Grube E, Silber S, Hauptmann KE i wsp.: TAXUS I: six-and-twelve-month results from a randomized, double-blind trial on a slow-release paclitaxel-eluting stent for de novo coronary lesions. *Circulation* 2003, 107: 38-42.
47. Meredith IT, Ormiston J, Whitbourn R i wsp.: First-in-human study of the Endeavor ABT-578-eluting phosphorylcholine-encapsulated stent system in de novo native coronary artery lesions: Endeavor I Trial. *EuroIntervention* 2005, 1: 157-64.
48. Grube E, Sonoda S, Ikeno F i wsp.: Six-and-twelve-month results from first human experience using everolimus-eluting stents with bioabsorbable polymer. *Circulation* 2004, 109: 2168-2171.
49. Serruys PW, Ong ATL, Piek JJ i wsp.: A randomized comparison of a durable polymer Everolimus-eluting stent with a bare metal coronary stent: the SPIRIT first trial. *EuroIntervention* 2005, 1: 58-65.
50. Grube E, Hauptmann KE, Buellesfeld L i wsp.: Six-month results of a randomized study to evaluate safety and efficacy of a Biolimus A9 eluting stent with a biodegradable polymer coating. *EuroIntervention* 2005, 1: 53-57.
51. Morice MC.: A prospective, randomized, multi-center comparison study of the CYPHER sirolimus-eluting and TAXUS paclitaxel-eluting stent systems. Presented at the American College of Cardiology 54-th Annual Scientific Sessions, Orlando, Fla., March 6-9, 2005.
52. Roque M, Cordon-Cardo C, Fuster V i wsp.: Modulation of apoptosis, proliferation and p27 expression in a porcine coronary angioplasty model. *Atherosclerosis* 2000, 153: 315-322.
53. Gallo R, Padurean A, Jayaraman T i wsp.: Inhibition of intimal thickening after balloon angioplasty in porcine coronary arteries by targeting regulators of the cell cycle. *Circulation* 1999, 99: 2164-2170.

54. Morice MC, Serruys PW, Sousa JE i wsp.: A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. *N Engl J Med* 2002, 346: 1773-1780.
55. Moses JW, Leon MB, Popma JJ i wsp.: Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. *N Engl J Med* 2003, 349: 1315-1323.
56. Colombo A, Drzewiecki J, Banning A i wsp.: Randomized study to assess the effectiveness of slow-and-moderate-release polymer-based paclitaxel-eluting stents for coronary artery lesions. *Circulation* 2003, 108: 788-794.
57. Stone GW, Ellis SG, Cox DA i wsp.: A polymer-based, paclitaxel-eluting stent in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2004, 350: 221-231.
58. Kern MJ: Attenuated coronary Collateral Function After Drug-Eluting Stent Implantation. *J Am Coll Cardiol* 2007, 1: 21-22
59. Nebeker J.R., Virmani R., Bennett C.L. i wsp.: Hypersensitivity cases associated with drug-eluting coronary stents: a review of available cases from the Research on Adverse Drug Events and Reports (RADAR) project. *J.Am.Coll.Cardiol* 2006, 47: 175-181.
60. Serruys PW, Kutryk MJB, Ong ATL: Coronary stents. *N Engl J Med* 2006, 354: 483-495.
61. Kotani J., Awata M., Nanto S. i wsp.: Incomplete neointimal coverage of sirolimus-eluting stents: angioscopic findings. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2006, 47: 2108-2111.
62. Kuchulakanti P.K., Chu W.W., Torguson R. i wsp.: Correlates and long-term outcomes of angiographically proven stent thrombosis with sirolimus- and paclitaxel-eluting stents. *Circulation* 2006, 113: 1108-1113.
63. Park D.W., Park S.W., Park K.H. i wsp.: Frequency of and risk factors for stent thrombosis after drug-eluting stent implantation during long-term follow-up. *Am.J.Cardiol.* 2006, 98: 352-356.
64. Urban P., Gershlick A.H., Guagliumi G. i wsp.: Safety of coronary sirolimus-eluting stents in daily clinical practice: one-year follow-up of the e-Cypher registry. *Circulation* 2006, 113: 1434-1441.
65. Joner M., Finn A.V., Farb A. i wsp.: Pathology of drug-eluting stents in humans: delayed healing and late thrombotic risk. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2006, 48: 193-202.
66. Balaguer-Malfagon J.R., Pomar-Domingo F., Vilar-Herrero J.V. i wsp.: Stent Thrombosis in the Modern Era: Incidence, Outcome, and Predictive Factors. *Rev.Esp.Cardiol.* 2006, 59: 842-845.
67. Luyendyk JP, Tilley RE, Mackman N : Genetic susceptibility to thrombosis, *Current Atherosclerosis Reports* 2006, 8: 193-197.
68. Grube E.: DES Comparison trials. Mount Sinai Course of Complex Coronary cases. June 14-17, 2006, New York.
69. Mauri L, Hsieh WH, Massaro JM i wsp.: Stent thrombosis in randomized clinical trials of drug-eluting stents, *N Engl J Med.* 2007; 356: 1020-1029.
70. Stone GW, Moses JW, Ellis SG i wsp.: Safety and efficacy of sirolimus-and paclitaxel-eluting coronary stents, *N Engl J Med.* 2007; 356: 998-1008
71. Maisel WH : Unanswered questions - drug- eluting stents and the risk of late thrombosis, *N Engl J Med.* 2007; 356: 981-984
72. Geiger J, Brich J, Hönig-Liedl P i wsp.: Specific impairment of human platelet P2Y₆ ADP receptor-mediated signaling by the antiplatelet drug clopidogrel. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999, 19: 2007-2011.
73. Savi P, Pereillo JM, Uzabiaga MF i wsp.: Identification and biological activity of the active metabolite of clopidogrel. *Thromb Haemost* 2000, 84: 891-896

74. Chłopicki S.: Śródbłonkowe działanie leków przeciw płytkowych. *Kardiol. Po Dypl.* 2006, 4, tom 5: 87-95.
75. Azar R.R., Kassab R., Zoghbi A. i wsp.: Effects of clopidogrel on soluble CD40 ligand and on high-sensitivity C-reactive protein in patients with stable coronary artery disease. *Am Heart J* 2006, 151: 521.
76. Santilli F., Davi G., Consoli A. i wsp.: Thromboxane-dependent CD40 ligand release in type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol* 2006, 47: 391-397.
77. Kaplanski G., Porat R., Aiura K i wsp.: Activated platelets induce endothelial secretion of interleukin-8 in vitro via an interleukin-1-mediated event. *Blood* 1993, 81: 2492-2495.
78. Carvalho-Tavares J., Hickey M.J., Hutchison J. i wsp.: A role for platelets and endothelial selectins in tumor necrosis factor-alpha-induced leukocyte recruitment in the brain microvasculature. *Circ Res* 2000, 87: 1141-1148.
79. Noon J.P., Walker B.R., Hand M.F. i wsp.: Impairment of forearm vasodilatation to acetylcholine in hypercholesterolemia is reversed by aspirin. *Cardiovasc Res* 1998, 38: 480-484.
80. Husain S., Andrews N.P., Mulcahy D. i wsp.: Aspirin improves endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation* 1998, 97: 716-720.
81. Quyyumi A.A.: Effects of aspirin on endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1998, 82: 31S-33S.
82. Calver A., Collier J., Vallance P.: Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. *J Clin Invest* 1992, 90: 2548-2554.
83. de Lorgeril M., Bordet J.C., Salen P. i wsp.: Ticlopidine increases nitric oxide generation in heart-transplant recipients: a possible novel property of ticlopidine. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998, 32: 225-230.
84. Ikonomidis I., Andreotti F., Economou E. i wsp.: Increased proinflammatory cytokines in patients with chronic stable angina and their reduction by aspirin. *Circulation* 1999, 100: 793-798.
85. Chen Y.G., Xu F., Zhang Y. i wsp.: Effect of aspirin plus clopidogrel on inflammatory markers in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Chin Med J (Engl)* 2006, 119: 32-36.
86. Verma S., Yeh E.T.: C-reactive protein and atherothrombosis – beyond a biomarker: an actual partaker of lesion formation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003, 285: R1253-R1256.
87. Chłopicki S., Cieślak K.: Aspiryna w leczeniu chorób układu krążenia; klasyczne i plejotropowe mechanizmy działania. *Kardiol. po Dypl.* 2005, zeszyt edukacyjny: 4-15.
88. Serhan C.N.: Lipoxins and aspirin-triggered 15-epi-lipoxins are endogenous components of antiinflammation: emergence of the counterregulatory side. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2001, 49: 177-188.
89. Paul-Clark M.J., Van Cao T., Moradi-Bidhendi N. i wsp.: 15-epi-lipoxin A4-mediated induction of nitric oxide explains how aspirin inhibits acute inflammation. *J Exp Med* 2004, 200: 69-78.
90. Torsney E., Mayr U., Zou Y. i wsp.: Thrombosis and neointima formation in vein grafts are inhibited by locally applied aspirin through endothelial protection. *Circ Res* 2004, 94: 1466-1473.
91. Dupin J.P., Gryglewski R.J., Gravier D. i wsp.: Synthesis and thrombolytic activity of new thienopyrimidinone derivatives. *J Physiol Pharmacol* 2002, 53: 625-634.
92. Gryglewski R.J., Korbut R., Swies J. i wsp.: Thrombolytic action of ticlopidine: possible mechanisms. *Eur J Pharmacol* 1996, 308: 61-67.

93. Gryglewski R.J., Dupin J.P., Uracz W. i wsp.: Thrombolysis by thienopyridines and their congeners. *J Physiol Pharmacol* 2000, 51: 683-693.
94. Jakubowski A., Chlopicki S., Olszanecki R. i wsp.: Endothelial action of thienopyridines and thienopyrimidinones in the isolated guinea pig heart. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005, 72: 139-145.
95. Ziemianin B., Olszanecki R., Uracz W. i wsp.: Thienopyridines: effects on cultured endothelial cells. *J Physiol Pharmacol* 1999, 50: 597-604.
96. Järemo P, Lindahl TL, Fransson SG i wsp.: Individual variations of platelet inhibition after loading doses of clopidogrel. *J Intern Med* 2002, 252: 233-238.
97. Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL i wsp.: Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation* 2003, 107: 2908-2913.
98. Krasopoulos G., Brister S.J., Beattie W.S. i wsp. : Aspirin „resistance” and risk of cardiovascular morbidity: systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 2008; 336:195-198
99. Müller I, Besta F, Schulz C i wsp.: Prevalence of clopidogrel nonresponders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost* 2003, 89: 783-787.
100. Lau WC, Gurbel PA, Watkins PB i wsp.: Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of clopidogrel resistance. *Circulation* 2004, 109: 166-171.
101. Grossmann R, Sokolova O, Schnurr A i wsp.: Variable extent of clopidogrel responsiveness in patients after coronary stenting. *Thromb Haemost* 2004, 92: 1201-1206.
102. Lepantalo A, Virtanen KS, Heikkila J i wsp.: Limited early antiplatelet effect of 300 mg clopidogrel in patients with aspirin therapy undergoing percutaneous coronary interventions. *Eur Heart J* 2004, 25: 476-483.
103. Cattaneo M: Aspirin and clopidogrel. Efficacy, safety and the issue of drug resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004, 24: 1-8
104. Chen W-H, Lee P-Y, Ng W i wsp.: Aspirin resistance is associated with a high incidence of myonecrosis after non-urgent percutaneous coronary intervention despite clopidogrel pre-treatment. *J Am Coll Cardiol* 2004, 43: 1122-1126.
105. Wang JC, Aucoin-Barry D, Manuelian D i wsp.: Incidence of aspirin nonresponsiveness using the ultegra rapid platelet function assay-ASA. *Am J Cardiol* 2003, 92: 1492-1494.
106. Chakroun T, Gerotziapas G, Robert F i wsp.: In vitro aspirin resistance detected by PFA-100 closure time: pivotal role of plasma von Willebrand factor. *Br J Haematol* 2004, 124: 80-85.
107. Andersen K: Aspirin nonresponsiveness as measured by PFA-100 in patients with coronary artery disease. *Thromb Res* 2003, 108: 37-42.
108. Grundmann K., Jaschonek K., Kleine B i wsp.: Aspirin non-responders status in patients with recurrent cerebral ischemic attacks. *J Neurol* 2003, 250: 63-66.
109. Roller RE: Effect of aspirin treatment in patients with peripheral arterial disease monitors with the platelet function analyser PFA-100. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002, 13: 277-281.
110. Christiaens L, Macchi L, Herpin D i wsp.: Resistance to aspirin in vitro at rest and during exercise in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Thromb Res* 2003, 108: 115-119.
111. Macchi L, Christiaens L, Brabant S i wsp.: Resistance in vitro to low-dose aspirin is associated with platelet P1A1 (GPIIIa) polymorphism but not with C807T

- (GPIa/Iia) and C-5T Kozak (GPIb) polymorphisms. *J Am Coll Cardiol* 2003, 42: 1115-1119.
112. Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz J, i wsp.: Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at risk for cardiovascular events. *Circulation* 2002, 105: 1650-1655.
 113. Aleil B., Ravanat C., Cazenave J.P. i wsp.: 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.
 114. Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB i wsp.: Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. *J Am Coll Cardiol* 2005, 45: 246-251.
 115. Szczudłowska-Gałaszka A., Płaczkiewicz D., Kleinrok A.: Czy jesteśmy bezradni wobec oporności na doustne leki przeciwplatetkowe?. *Kariol. po Dypl.* 2011, 10(5): 63-70.
 116. Weber A.A., Zimmermann K.C., Meyer-Kirchrath J. i wsp.: Cyclooxygenase-2 in human platelets as a possible factor in aspirin resistance. *Lancet* 1999, 353: 900
 117. Zimmermann N, Wenk A, U. Kim U i wsp.: Functional and biochemical evaluation of platelet aspirin resistance after coronary artery by-pass surgery. *Circulation* 2003, 108: 542-547.
 118. Karim S: Cyclooxygenase-1 and -2 of endothelial cells utilize exogenous or endogenous arachidonic acid for transcellular production of thromboxane. *J Biol Chem* 1996, 271: 12042-12048.
 119. Bustos M: Modulation of eicosanoid metabolism in endothelial cells in a xenograft model: role of cyclooxygenase-2. *J Clin Invest* 1997, 100: 1150.
 120. Cipollone F, Patrignani P, Greco A i wsp.: Differential suppression of thromboxane biosynthesis by indobufen and aspirin in patients with unstable angina. *Circulation* 1997, 96: 1109-1116.
 121. Halushka MK: Genetic variation in cyclooxygenase 1: effects on response to aspirin. *Clin Pharmacol Ther* 2003, 78: 122-130.
 122. Undas A: P1(A2) polymorphism of beta(3) integrins is associated with enhanced thrombin generation and impaired antithrombotic action of aspirin at the site of microvascular injury. *Circulation* 2001, 104: 2666-2672.
 123. Dabaghi SF, Kamat SG, Payne J i wsp.: Effects of low-dose aspirin on in vitro platelet aggregation in the early minutes after ingestion in normal subjects. *Am J Cardiol* 1994, 74: 720-723.
 124. Catella-Lawson F, Reilly M, Kapoor SC i wsp.: Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med* 2001, 345: 1809-1817.
 125. Ray WA, Stein CM, Hall K i wsp.: Non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of serious coronary heart disease. *Lancet* 2002, 359: 118-123.
 126. Kawasaki T: Increased platelet sensitivity to collagen in individuals resistant to low-dose aspirin. *Stroke* 2000, 31: 591-595.
 127. Macchi L: Resistance to aspirin in vitro is associated with increased platelet sensitivity to adenosine diphosphate. *Thromb Res* 2002, 107: 45-49.
 128. Valles J, Santos MT, Aznar J i wsp.: 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: 350-355.

129. Cipollone F, Ciabattone G, Patrignani P i wsp.: Oxidant stress and aspirin-insensitive thromboxane biosynthesis in severe unstable angina. *Circulation* 2000, 102: 1007-1013.
130. Zawilska K., Prątnicka-Rozynek M., Zozulińska M. i wsp.: F₂-isoprostanoid (8-epiprostaglandin F_{2alpha}) and thromboxane formation in acute myocardial infarction. *Kardiologia Polska*. 2001, 54: 10-13; Ostry zawał serca. Powstawanie tromboksanu i 8-epiprostaglandyny F_{2alpha}. *Kardiologia Polska*. 2001, 54: 14-16.
131. Praticò D, Smyth EM, Violi F i wsp.: Local amplification of platelet function by 8-epi-prostaglandin F_{2a} is not mediated by thromboxane receptor isoforms. *J Biol Chem* 1996, 271: 14916-14924.
132. Lau WC, Waskell LA, Watkins PB i wsp.: Atorvastatin reduces the ability of clopidogrel to inhibit platelet aggregation: a new drug-drug interaction. *Circulation* 2003, 107: 32-37.
133. Fontana P, Dupont A, Gandrille S i wsp.: Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation is associated with P2Y₁₂ gene sequence variations in healthy subjects. *Circulation* 2003, 108: 989-995.
134. Steinhubl SR, Darrah S, Brennan D i wsp.: Optimal duration of pretreatment with clopidogrel prior to PCI: data from the CREDO trial. *Circulation* 2003, 108(Suppl I): I1742.
135. Kandzari DE: Influence of treatment duration with 600-mg dose of clopidogrel before percutaneous coronary revascularization. *J Am Coll Cardiol* 2004, 44: 2133-2136.
136. Saw J: Lack of adverse clopidogrel-atorvastatin clinical interaction from secondary analysis of a randomized, placebo-controlled clopidogrel trial. *Circulation* 2003, 108: 921-924.
137. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E i wsp.: Identification of low responders to a 300-mg clopidogrel loading dose in patients undergoing coronary stenting. *Thromb Res* 2005, 115: 101-108.
138. Lev EI, Bray P, Delao T i wsp.: Aspirin and clopidogrel drug response in patients undergoing percutaneous coronary intervention: a role for dual drug resistance? *Am Coll Cardiol* 2005, 45(Suppl A): 86A.
139. Guthikonda S, Lev EI, Kleiman NS: Resistance to antiplatelet therapy, *Current Cardiology Reports* 2005, 7: 242-248.
140. Chapman E.S, Sorette M, Hetherington E i wsp.: A rapid, automated flow cytometric method to measure activated degranulated platelets by density determination. *Thromb. Haemost.* 2003, 89: 1004-1015.
141. Giacomini A, Legovini P, Antico F i wsp.: Assessment of in vitro platelet activation by ADVIA 120 platelet parameters. *Laboratory Hematology* 2003, 9: 132-137.
142. Charaf E.A. i wsp.: Comparison of two methods to assess variability of platelet response to antiplatelet therapies in patients with acute coronary syndrome undergoing angioplasty. *Thromb. Haemost.* 2004, 92: 1207-1213.
143. Barry O.P., Fitzgerald G.A.: Mechanisms of cellular activation by platelet microparticles. *Thromb. Haemost.* 1999, 82: 794-800.
144. Beaudoin A.R., Grondin G.: Shedding of vesicular material from the cell surface of eucaryotic cell; different cellular phenomena. *Biochim. Biophys. Acta*, 1991, 1071: 203-219.
145. Dainiak N.: Surface membrane-associated regulation of cell assembly, differentiation, and growth. *Blood*, 1991, 78: 264-276.

146. Denzer K., Kleijmeer M.J., Heijnen H.F. i wsp.: Exosome: from internal vesicle of the multivesicular body to intercellular signaling device. *J. Cell. Sci.* 2000, 19: 3365-3374.
147. Escola J.M., Kleijmeer M.J., Stoorvogel W. i wsp.: Selective enrichment of tetraspan proteins on the internal vesicles of multivesicular endosomes and on exosomes secreted by human B-lymphocytes. *J. Biol. Chem.* 1998, 273: 20121-20127.
148. George J.N., Thoi L.L., McManus L.M. i wsp.: Isolation of human platelet membrane microparticles from plasma and serum. *Blood* 1982, 60: 834-840.
149. Ginestra A., Miceli D., Dolo V. i wsp.: Membrane vesicles in ovarian cancer fluids: a new potential marker. *Anticancer Res.* 1999, 19: 3439-3445.
150. Heijnen H.F., Schiel A.E., Fijnheer R. i wsp.: Activated platelets release two types of membrane vesicles: microvesicles by surface shedding and exosomes derived from exocytosis of multivesicular bodies and alpha-granules. *Blood* 1999, 94: 3791-3799.
151. Hughes M., Hayward C.P., Warkentin T.E. i wsp.: Morphological analysis of microparticle generation in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 2000, 96: 188-194.
152. Montrucchio G., Bosco O., Del Sorbo L. i wsp.: Mechanisms of the priming effect of low doses of lipopoly-saccharides on leukocyte-dependent platelet aggregation in whole blood. *Thromb. Haemost.* 2003, 90: 872-881.
153. Miyamoto S., Marcinkiewicz C., Edmunds L.H. i wsp.: Measurement of platelet microparticles during cardiopulmonary bypass by means of captured ELISA for GPIIb/IIIa. *Thromb. Haemost.* 1998, 80: 225-230.
154. Baj-Krzyworzeka M., Majka M., Pratico D. i wsp.: Platelet-derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion and chemotaxis of hematopoietic cells. *Exp. Hematol.* 2002, 30: 450-459.
155. English D., Welch Z., Kovala A.T. i wsp.: Sphingosine 1-phosphate released from platelets during clotting accounts for the potent endothelial cell chemotactic activity of blood serum and provides a novel link between hemostasis and angiogenesis. *FASEB* 2000, 14: 2255-2265.
156. Janowska-Wieczorek A., Wysoczynski M., Kijowski J. i wsp.: Microvesicles derived from activated platelets induce metastasis and angiogenesis in lung cancer. *Int. J. Cancer* 2005, 113: 752-760.
157. Rozmyslowicz T., Majka M., Kijowski J. i wsp.: Platelet- and megakaryocyte-derived microparticles transfer CXCR4 receptor to CXCR-null cells and make them susceptible to infection by X4-HIV. *AIDS* 2003, 17: 33-42.
158. Barry O.P., Kazanietz M.G., Pratico D. i wsp.: Arachidonic acid in platelet microparticles up-regulates cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin formation via a protein kinase C/mitogen-activated protein kinase-dependent pathway. *J. Biol. Chem.* 1999, 274: 7545-7556.
159. Barry O.P., Pratico D., Lawson J.A. i wsp.: Transcellular activation of platelets and endothelial cells by bioactive lipids in platelet microparticles. *J. Clin. Invest.* 1997, 99: 2118-2127.
160. English D., Garcia J.G., Brindley D.N.: Platelet-released phospholipids link haemostasis and angiogenesis. *Cardiovasc. Res.* 2001, 49: 588-599.
161. Barry O.P., Pratico D., Savani R.C. i wsp.: Modulation of monocyte-endothelial cell interactions by platelet microparticles. *J. Clin. Invest.* 1998, 102: 136-144.

162. Mickelson J.K., Lakkis N.M., Villarreal-Levy G. i wsp.: Leukocyte activation with platelet adhesion after coronary angioplasty: a mechanism for recurrent disease? *J. Am. Coll. Cardiol.* 1996, 28: 345-353.
163. Sabatier F., Roux V., Alfonso F. i wsp.: Interaction of endothelial microparticles with monocytic cells in vitro induces tissue factor-dependent procoagulant activity. *Blood* 2002, 99: 3962-3970.
164. Jaremo P., Sandberg-Gertzen H.: Platelet density and size in inflammatory bowel disease. *Thromb. Haemost.* 1996, 75: 560-561.
165. Tan K.T., Lip G.Y.: The potential role of platelet microparticles in atherosclerosis. *Thromb. Haemost.* 2005, 94: 488-492
166. Koga H., Sugiyama S., Kugiyama K. i wsp.: Elevated levels of VE-cadherin-positive endothelial microparticles in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2005, 45: 1622-1630.
167. Michelson A.D., Furman M.I.: Laboratory markers of platelet activation and their clinical significance. *Curr. Opin. Hematol.* 1999, 6: 342-348.
168. Vidal C., Spaulding C., Picard F. i wsp.: Flow cytometry detection of platelet procoagulation activity and microparticles in patients with unstable angina treated by percutaneous coronary angioplasty and stent implantation. *Thromb. Haemost.* 2001, 86: 784-790.
169. Werner N., Wassmann S., Ahlers P. i wsp.: Circulating CD31+/annexin V+ apoptotic microparticles correlate with coronary endothelial function in patients with coronary artery disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006, 26: 112-116.
170. Hugel B., Socie G., Vu T. i wsp.: Elevated levels of circulating procoagulant microparticles in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and aplastic anemia. *Blood* 1999, 93: 3451-3456.
171. Joseph J.E., Harrison P., Mackie I.J. i wsp.: Increased circulating platelet-leucocyte complexes and platelet activation in patients with antiphospholipid syndrome, systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Br. J. Haematol.* 2001, 115: 451-459.
172. Cairns J.A., Gent M., Singer J. i wsp.: Aspirin, sulfipyrazone, or both in unstable angina. Results of a Canadian multicenter trial. *N Engl J Med* 1985, 313: 1369-75.
173. King SB III, Smith SC Jr, Hirshfeld J.W. i wsp.: 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. *J Am Coll Cardiol* 2008, 51:172-209.
174. Gurbel P.A., Blidę K.P., Samara W. i wsp.: Clopidogrel effect on platelet reactivity in patients with stent thrombosis. Results of the CREST study. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46; 1827-1832.
175. Gori A.M., Marcucci R., Migliorini A. i wsp.: Incidence and clinical impact of dual nonresponsiveness to aspirin and clopidogrel in patients with drug-eluting stents. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2008; 52: 734-739.
176. Guthikonda S., Lev E.I., Patel R. i wsp.: Reticulated platelets and uninhibited COX-1 and COX-2 decrease the antiplatelet effects of aspirin. *J Thromb Haemost* 2007; 5: 490-496.
177. Martin J.F., Plumb J., Kilbey R.S. i wsp: Changes in volume and density of platelets in myocardial infarction. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1983; 287: 456-459.
178. Lordkinapidze M., Pharand C., Nguyen T.A. i wsp.: Comparison of four tests to assess inhibition of platelet function by clopidogrel in stable coronary artery disease patients. *Eur Heart J.*, 2008; 29: 2877-2885.

179. Janes S.L., Wilson D.J., Cox A.D. i wsp.: ADP causes partial degranulation of platelets in the absence of aggregation. *Br J Haematol* 1994; 86: 568-573
180. Tans G., Rosing J., Thomassen MCLGD i wsp.: Comparison of anticoagulant and procoagulant activities of stimulated platelets and platelet-derived microparticles. *Blood*, 1991; 77: 2641-2648.
181. Sinauridze E.I., Kireev D.A., Popenko N.Y. i wsp.: Platelet microparticle membranes have 50-to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. *Thromb Haemost* 2007; 97: 425-434.
182. Flaumenhaft R.: Formation and fate of platelet microparticles. *Blood Cells Mol Dis* 2006; 36: 182-187.
183. Rand M.L., Wang H., Bang K.W. i wsp.: Rapid clearance of procoagulant platelet-derived microparticles from the circulation of rabbits. *J Thromb Haemost* 2006; 4: 1621-1623.
184. Nieuwland R., Berckmans R.J., Rotteveel-Eijkman R.C. i wsp.: Cell-derived microparticles generated in patients during cardiopulmonary bypass are highly procoagulant. *Circulation* 1997, 96: 3534-3541.
185. Terrisse A.D., Puech N., Allart S. i wsp.: Internalization of microparticles by endothelial cells promotes platelet/endothelial cell interaction under flow. *J Thromb Haemost* 2010; 8: 2810-2819.
186. Angiolillo D.J., Fernandez-Ortiz A., Bernardo E. i wsp.: Platelet function profiles in patients with Type 2 diabetes and coronary artery disease on combined aspirin and clopidogrel treatment. *Diabetes* 2005; 54: 2430-2435
187. Angiolillo D.J., Bernardo E., Ramirez C. i wsp.: Insulin therapy is associated with platelet dysfunction in patients with Type 2 diabetes mellitus on dual oral antiplatelet treatment. *J. Am. Coll Cardiol.* 2006; 48: 298-304
188. Geisler T., Anders N., Paterok M. i wsp.: Platelet response to clopidogrel is attenuated in diabetic patients undergoing coronary stent implantation. *Diabetes Care* 2007; 30: 372-374
189. Angiolillo D.J., Shoemaker S.B., Desai B. i wsp.: Randomized comparison of a high clopidogrel maintenance dose in patients with diabetes mellitus and coronary artery disease: results of the Optimizing Antiplatelet Therapy in Diabetes Mellitus (OPTIMUS) study. *Circulation.* 2007; 115: 708-716
190. Grove E.L., Hvas A.M., Kristensen S.D.: Immature platelets in patients with acute coronary syndromes. *Thromb Haemost* 2009; 101: 151-156.
191. Gilard M., Arnaud B., Cornily J.C. i wsp.: 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: 256-260.
192. Siller-Matula J.M., Lang I., Christ G. i wsp.: Calcium-channel blockers reduce the antiplatelet effect of clopidogrel. *J Am Coll Cardiol*, 2008; 52: 1557-1563.
193. Berger P.B., Gurbel P.A., Price M.J.: Antiplatelet Therapy: The Role of Platelet Function Testing. www.medscape.org/viewarticle/733923
194. Bhatt D.L., Scheiman J., Abraham N.S. i wsp.: American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. ACCF/ACG/AHA 2008 expert consensus document on reducing the gastrointestinal risks of antiplatelet therapy and NSAID use: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol*, 2008; 52:1502-1517.
195. Fox K., Garcia M.A.A., Ardissino D. i wsp.: Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary. The Task Force on the Management of

- Stable Angina Pectoris of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2006; 27: 1341-1381.
196. Metha S.R.: CURRENT OASIS 7; a Factorial Randomized Trial of Optimal Clopidogrel and Aspirin Dosing in patients with ACS Undergoing an Early Strategy with Intent for PCI, ESC Congress 2009 Barcelona. *N Engl J Med* 2010; 363: 930-942.
 197. Price M.: Standard versus high-dose clopidogrel according to platelet function testing after PCI: results of the GRAVITAS trial. Program and abstracts of the 2010 American Heart Association Scientific Sessions; November 13-17, 2010; Chicago, Illinois. Abstract 21791.
 198. Mega J.L., Hochholzer W., Frelinger A.L. i wsp.: Dosing clopidogrel based on CYP2C19 genotype and the effect on platelet reactivity in patients with stable cardiovascular disease. *JAMA* 23.11.2011; 306(20): 2221-2228
 199. Valgimigli M., Campo G., de Cesare N. i wsp.: 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: 3215-3222.
 200. Jeong Y.H., Lee S.W., Choi B.R. i wsp.: Randomized comparison of adjunctive cilostazol versus high maintenance dose clopidogrel in patients with high post-treatment platelet reactivity: results of the ACCEL-RESISTANCE (Adjunctive Cilostazol Versus High Maintenance Dose Clopidogrel in Patients With Clopidogrel Resistance) randomized study. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53: 1101-1109.
 201. Capranzano P., Ferreiro J.L., Angiolillo D.J.: Prasugrel in Acute Coronary Syndrome Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2009; 7(4): 361-369.
 202. Wiviott S.D., Braunwald E., McCabe CH. i wsp.: Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndroms. *N Engl J Med* 2007; 357: 2001-2015.
 203. Wallentin L., Becker R.C., Budaj A. i wsp.: Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2009; 361: 1045-1057.
 204. Harrington R.A., Stone W.G., McNulty S. i wsp.: Platelet inhibition with Cangrelor in patients undergoing PCI. *N Engl J Med* 2009; 361: 2318-2329.
 205. Sibbing D., Stegherr J., Braun S. i wsp.: A Double-Blind, Randomized Study on Prevention and Existence of a Rebound Phenomenon of Platelets After Cessation of Clopidogrel Treatment. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 558-565.
 206. Michelson A.D., Linden M.D., Furman M.I. i wsp.: Evidence that pre-existent variability in platelet response to ADP accounts for „clopidogrel resistance”. *J Thromb and Haemost* 2006; 5: 75-81.
 207. Paniccia R., Antonucci E., Maggini N. i wsp.: Comparison of methods for monitoring residual platelet reactivity after clopidogrel by point-of-care tests on whole blood in high-risk patients. *Thromb Haemost* 2010; 104: 287-292
 208. Jamrozek-Jedlińska M., Duszyńska M., Jedliński I. i wsp.: Zmienność czasowa zjawiska oporności na leczenie przeciwplatekowe. *Streszcz. XXIII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Hematologów i Transfuzjologów. Wrocław, 18-20 czerwca 2009. Acta Haematol. Pol.* 2009; 40 supl.: 268.
 209. Fleischmann K.E.: Predicting Clinical Response to Clopidogrel – Does Genetic Testing Help? *Journal Watch General Medicine*, 27.09.2011

Spis treści:

Opis skrótów	3
1. Wprowadzenie	9
1.1. Charakterystyka choroby niedokrwiennej serca	9
1.2. Interakcje ściany naczyń z komórkami krwi sprzyjające powstaniu i rozwojowi ChNS	10
1.3. Leczenie choroby niedokrwiennej serca	12
1.3.1. Farmakoterapia	12
1.3.2. Leczenie inwazyjne	12
1.3.2.1. Implantacja stentu – historia, rozwój, powikłania	13
1.4. Leki przeciwplatekcyjne – dobra, ale wciąż niedoskonała broń w walce z zakrzepicą w stencie	17
1.4.1. Mechanizm działania leków przeciwplatekcyjnych	17
1.4.2. Problem oporności na leki przeciwplatekcyjne	19
1.4.2.1. Definicja oporności na kwas acetylosalicylowy	19
1.4.2.2. Definicja oporności na klopidoogrel	21
1.4.2.3. Mechanizmy oporności na leki przeciwplatekcyjne	22
1.4.2.3.1. Kwas acetylosalicylowy	22
1.4.2.3.2. Klopidoogrel	24
1.4.2.4. Postępowanie z pacjentami opornymi na leki przeciwplatekcyjne	25
1.4.3. Ocena skuteczności leczenia przeciwplatekcyjnego	25
1.4.3.1. inne metody badania reaktywności płytek krwi	25
2. Cele pracy	29
3. Materiały i metody	30
4. Wyniki	36
4.1. Wpływ koronarografii, implantacji stentu oraz zastosowanych leków przeciwplatekcyjnych na średnią wartość ilości płytek krwi (PLT)	38
4.2. Wpływ koronarografii, implantacji stentu, stosowanych leków przeciwplatekcyjnych oraz ADP na średnią wielkość objętości płytek krwi (MPV)	39
4.3. Wpływ koronarografii, implantacji stentu, stosowanych leków przeciwplatekcyjnych oraz ADP na średnią wielkość gęstości płytek krwi (MPC)	42
4.4. Wpływ koronarografii, implantacji stentu, stosowanych leków przeciwplatekcyjnych oraz ADP na średnią wielkość masy płytek krwi (MPM)	45
4.5. Wpływ koronarografii, implantacji stentu oraz stosowanych leków przeciwplatekcyjnych na intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem ADP	47
4.6. Wpływ koronarografii, implantacji stentu oraz stosowanych leków przeciwplatekcyjnych na intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem kwasu arachidonowego	50

4.7.	Wpływ koronarografii, implantacji stentu oraz stosowanych leków przeciwplatek na intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem kolagenu	52
4.8.	Wpływ koronarografii, implantacji stentu oraz stosowanych leków przeciwplatek na intensywność agregacji płytek krwi pod wpływem adrenaliny	54
4.9.	Wpływ koronarografii, implantacji stentów oraz stosowanych leków przeciwplatek na generację mikrocząstek o właściwościach prozakrzepowych (MP)	56
4.10.	Wpływ koronarografii, implantacji stentów oraz stosowanych leków przeciwplatek na stężenie troponiny I (TnI) w surowicy (ng/ml)	58
4.11.	Wpływ koronarografii, implantacji stentu oraz stosowanych leków przeciwplatek na stężenie izoenzymu B kinazy kreatynowej (CKMB masa) w surowicy (ng/ml)	59
4.12.	Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a wzrostem MPV pod wpływem ADP	60
4.13.	Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a spadkiem MPM pod wpływem ADP	63
4.14.	Korelacja pomiędzy spadkiem MPC pod wpływem ADP a minimalną intensywnością agregacji płytek krwi pod wpływem ADP	65
4.15.	Wyniki próby kontrolnej –26 dawców krwi	68
4.16.	Charakterystyka pacjentów w kontekście ich profilu wrażliwości na leki przeciwplatekowe	70
5.	Wnioski	76
6.	Dyskusja	77
6.1.	Omówienie wyników	78
6.1.1.	Ocena farmakologicznej ochrony przeciwzakrzepowej przed koronarografią / implantacją stentu oraz dzień i miesiąc po koronarografii / implantacji stentu	78
6.1.2.	Ocena przydatności klinicznej dwóch testów oceniających reaktywność płytek krwi – pomiar MPC i mikrocząstek o właściwościach prozakrzepowych	80
6.1.3.	Ocena wpływu występowania chorób towarzyszących na częstość stwierdzanej oporności na leki przeciwplatekowe	83
6.2.	Proponowane w piśmiennictwie rozwiązania problemu oporności na stosowane dotychczas leki przeciwplatekowe	84
6.3.	Indywidualizacja terapii przeciwplatekowej – pieśń przyszłości	86
7.	Streszczenie	89
8.	Piśmiennictwo	92