

Katarzyna PETRICZKO^a, Anna BRAŹNIKOW^a, Oliwia GRZEGOROWSKA^a,
dr hab. n. med. prof. PUM Monika BIAŁECKA^b,
dr hab. n. med. prof. PUM Anna MACHOY-MOKRZYŃSKA^b

Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie:

^a Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze Farmakologii

^b Katedra Farmakologii

Pomeranian Medical University in Szczecin:

^a Students' Research Group at the Department of Pharmacology

^b Department of Pharmacology

OPORNOŚĆ NA LEKI PRZECIWPŁYTKOWE – PRZYCZYNY I MOŻLIWOŚCI DIAGNOSTYKI

Streszczenie

Wstęp i cel pracy: Leki antyagregacyjne odgrywają istotną rolę w prewencji chorób sercowo-naczyniowych. Ważnym problemem klinicznym może stanowić brak skuteczności leczenia przeciwplateletowego u niektórych chorych. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie mechanizmów działania leków antyagregacyjnych, ich roli w terapii, a przede wszystkim głównych przyczyn braku wrażliwości na leczenie przeciwplatetowe oraz klinicznych konsekwencji tego zjawiska, a także metod badania oporności na leczenie.

Materiał i metody: Na podstawie dostępnego piśmiennictwa autorzy przedstawili najważniejsze kliniczne aspekty związane z prowadzeniem leczenia przeciwplateletowego oraz opisali dostępne metody badania oporności na leki przeciwplatetowe.

Wyniki: Opracowano zestawienie mechanizmów działania leków przeciwplatetowych oraz klinicznych testów inhibicji płytek krwi.

Wnioski: Każdy pacjent, u którego stwierdzono oporność na leczenie przeciwplatetowe, powinien mieć indywidualnie ustalone dawki stosowanych leków oraz wyznaczone tzw. okno terapeutyczne, zwłaszcza że brak jest wytycznych dotyczących postępowania w przypadku potwierdzenia oporności na leki przeciwplatetowe.

Słowa kluczowe: Leki przeciwplatetowe, mechanizmy działania, zastosowanie kliniczne, oporność na leczenie przeciwplatetowe, metody badania oporności na leki przeciwplatetowe.

(Otrzymano: 19.09.2016; Zrecenzowano: 21.09.2016; Zaakceptowano: 25.09.2016)

RESISTANCE TO ANTIPLATELET DRUGS – REASONS AND DIAGNOSTIC POSSIBILITIES

Abstract

Introduction and aim: Antiplatelet drugs play an important role in the prevention of cardiovascular diseases. An important clinical problem seems to be the lack of efficacy of antiplatelet therapy in some patients. The aim of this paper is to present the mechanisms of action of antiaggregants, their role in therapy, the main reasons for the lack of sensitivity to antiplatelet therapy and clinical consequences of this phenomenon, as well as methods used for testing resistance to treatment.

Material and methods: On the grounds of the available literature, the authors present the most important clinical aspects related to antiplatelet therapy and describe available methods for testing resistance to antiplatelet therapy.

Results: The table of mechanisms of action of antiplatelet drugs and clinical tests of platelet blood inhibition have been elaborated in the paper.

Conclusion: Any patient diagnosed with resistance to antiplatelet therapy should have individually prescribed doses of drugs and determined the so-called therapeutic window - particularly as there are no guidelines for dealing with confirmed resistance to antiplatelet drugs.

Keywords: Antiplatelet drugs, mechanisms of action, clinical use, resistance to antiplatelet therapy, methods for testing antiplatelet drug resistance.

(Received: 19.09.2016; Revised: 21.09.2016; Accepted: 25.09.2016)

1. Wstęp

Choroby układu sercowo-naczyniowego stanowią obecnie główną przyczynę zgonów w Polsce (ok.46% ogółu zgonów Polaków w 2010 roku). Do najczęściej wymienianych schorzeń będących konsekwencją zaburzeń krążenia obwodowego i ośrodkowego zalicza się: chorobę niedokrwienną serca, w tym zawał serca, choroby naczyń mózgowych, inne choroby serca oraz miażdżycę [1].

Przyczyną większości poważnych incydentów naczyniowych jest tworzenie zakrzepów na podłożu zmian miażdżycowych lub na powierzchni materiałów egzogennych, takich jak np. protezy wewnątrznaczyniowe. W początkowym etapie tego procesu dochodzi do adhezji i agregacji płytek krwi w miejscu uszkodzonego śródbłonna naczyń. Mimo, że opisane reakcje powinny być uznane za fizjologiczną odpowiedź na rozszczepienie lub rozerwanie blaszki miażdżycowej, to w przypadku niekontrolowanego postępu tego procesu może dojść do powstawania zakrzepów w świetle naczynia, zmniejszenia jego światła i w konsekwencji do przemijającego niedotlenienia lub trwałego uszkodzenia tkanki. Poznanie mechanizmów, które prowadzą do niedokrwienia, umożliwiło zastosowanie skutecznej farmakoterapii. Obecnie uważa się, iż leki przeciwplatekcyjne są jedną z najważniejszych grup leków o istotnym znaczeniu klinicznym. Hamują one różne etapy procesu aktywacji płytek krwi tzn. adhezję, uwalnianie lub/i agregację, a ich zastosowanie doprowadziło do znacznego bezwzględnego zmniejszenia ryzyka wystąpienia poważnych incydentów naczyniowych u chorych obciążonych dużym ryzykiem powikłań ze strony układu krążenia [2].

Stosowanie leków przeciwagregacyjnych w prewencji chorób sercowo-naczyniowych nie budzi wątpliwości, jednak pojawiają się pytania dotyczące przyczyn braku skuteczności tych leków u niektórych chorych. Celem niniejszej pracy jest przedstawienie podstawowych informacji na temat leków przeciwagregacyjnych, głównych przyczyn braku wrażliwości na leczenie przeciwplatekcyjne oraz klinicznych konsekwencji tego zjawiska, jak również możliwości praktycznej oceny działania opisywanej grupy leków na podstawie przeglądu aktualnego piśmiennictwa.

2. Mechanizmy działania leków przeciwplatekcyjnych

Grupę leków przeciwplatekcyjnych reprezentują preparaty o zróżnicowanej budowie chemicznej, które charakteryzują się odmiennym mechanizmem działania. Do najczęściej stosowanych należą: kwas acetylosalicylowy (*ang.* ASA, *acetylsalicylic acid*), inhibitory platekcyjnego receptora purynergicznego P2Y₁₂ (np. tiklopidyna i klopidoogrel), inhibitory receptora glikoproteinowego IIb/IIIa (np. abciximab, tirofiban i eptifibatyd), leki hamujące fosfodiesterazę (np. dipirydamol i cilostazol) oraz leki pobudzające receptor dla prostaglandyny 12 (PGI₂) czyli dla prostacykliny, takie jak epoprostenol, iloprost i beraprost. Właściwości farmakologiczne leków nowej generacji, do których zalicza się antagonistów receptora aktywowanego proteinazą 1 (PAR-1) oraz inhibitory czynnika von Willebranda (np. ARC1779 wiążący się z domeną A1 czynnika) są obecnie intensywnie badane w kolejnych fazach badań klinicznych.

Kwas acetylosalicylowy, częściej nazywany aspiryną (ASA) charakteryzuje się dobrze poznanym mechanizmem działania. ASA w sposób nieodwracalny hamuje aktywność cyklooksygenazy (COX), poprzez kowalencyjną modyfikację cząsteczki, acetylując serynę - preferencyjnie w COX-1. Farmakologicznym efektem działania ASA jest zahamowanie syntezy tromboksanu A₂ (TXA₂), białka o silnym działaniu proagregacyjnym i naczyniokurczącym, jak również prostacykliny (Pc) i innych prostaglandyn (PG). Kwas acetylosalicylowy szybko wchłania się z górnego odcinka przewodu pokarmowego i już po upływie 30 minut wywołuje efekt przeciwplatekcyjny, który utrzymuje się przez 8 do 10 dni. ASA w niskich dawkach dużo

silniej hamuje COX-1 płytek krwi, aniżeli COX-2 monocytów, z tego powodu niewielka dawka leku (rzędu 75 mg) stosowana raz dziennie jest w stanie całkowicie zahamować syntezę TXA₂ [3]. Obowiązujące standardy Europejskiego Towarzystwa Kardiologicznego (*ang. ESC, European Society of Cardiology*) zalecają stosowanie kwasu acetylosalicylowego w dawkach 75-150 mg na dobę [4]. Zwiększenie dawki nie wywiera silniejszego działania przeciwplatekowego.

Tiklopidyna, klopidogrel i prasugrel to preparaty hamujące aktywację płytek zależną od difosforanu adenozy (ang. *ADP, adenosine diphosphate*). Do chwili obecnej jedynym receptorem purynowym wykorzystywanym w leczeniu przeciwagregacyjnym jest receptor P2Y₁₂. Zahamowanie pobudzenia P2Y₁₂ aktywuje cyklazę adenylową i prowadzi do syntezy cyklicznego monofosforanu adenozy (c-AMP), głównego inhibitora agregacji płytek. Kolejną konsekwencją zablokowania P2Y₁₂ jest zahamowanie syntezy tromboksanu A₂ oraz zmniejszenie dostępu do reszt fosfatydyloseryny na powierzchni płytek, miejsca wiązania czynników krzepnięcia oraz syntezy trombiny. Zarówno tiklopidyna, jak też klopidogrel są metabolizowane w wątrobie (z powstaniem aktywnych metabolitów) przy udziale cytochromów P450 (CYP2C19, CYP3A4). Działanie tiklopidyny w dawce 2×250 mg rozwija się powoli, a maksymalny efekt jest osiągany po 3-7 dniach i utrzymuje się do 10 dni, ze względu na nieodwracalny charakter działania leku. Klopidogrel wykazuje silniejszy efekt przeciwplatekowy przy słabiej wyrażonych działaniach niepożądanych. Stosowana dawka wysycająca, wynosząca 300-600mg, powoduje nieodwracalną inhibicję agregacji po 2-4 godzinach. Przedłużenie tego efektu zapewnia codzienne stosowanie dawki podtrzymującej, wynoszącej 75mg na dobę. [4] Międzyosobnicze różnice w skuteczności oraz bezpieczeństwo stosowania klopidogrelu są obecnie przedmiotem intensywnych badań, których celem jest indywidualizacja leczenia przeciwagregacyjnego z użyciem klopidogrelu. Z myślą o poprawie farmakologicznego i klinicznego profilu działania klopidogrelu, w ostatnim czasie zostały opracowane nowe leki. Prasugrel, kangrelor i tikagrelor również należą do grupy inhibitorów receptora platekowego P2Y₁₂. Prasugrel, dzięki prawie całkowitej absorpcji jelitowej i szybkiej hydrolizie do formy aktywnej, wywołuje nieodwracalne działanie przeciwagregacyjne już po 1h od podania dawek 30mg i 75mg. Tikagrelor i kangrelor łączą się bezpośrednio i odwracalnie z receptorem P2Y₁₂. Co ważne, leki te są formami aktywnymi, nie wymagają więc konwersji metabolicznej [5].

Abciximab, tirofiban i eptifibatyd blokują końcowy mechanizm agregacji polegający na interakcji pomiędzy glikoproteiną IIb/IIIa z fibrynogenem. Abciximab należy do grupy przeciwciał monoklonalnych, tirofiban wykazuje właściwości niepeptydowego antagonisty receptora IIb/IIIa, a eptifibatyd jest cyklicznym peptydem. Różnice w budowie w/w leków warunkują sposób interakcji leków z płytkami np. nieodwracalny dla abciximabu, lub odwracalny dla obu pozostałych preparatów [6].

Dipirydamol, znany na rynku leków przeciwplatekowych od wielu lat, hamuje fosfodiesterazę (PDE), enzym rozkładający c-AMP, czego konsekwencją jest zmniejszenie aktywacji wewnątrzkomórkowych przekazników II-rzędu (adenozy). Ponadto lek ten hamuje syntezę TXA₂ oraz wychwyt zwrotny adenozy. Działanie dipirydamolu jest krótkotrwałe, co skutkuje koniecznością wielokrotnego podawania leku.

Epoprostenol, iloprost i beraprost to syntetyczne analogi prostacyklin, które pobudzają receptor PGI. Wzrost stężenia c-AMP prowadzi do zmniejszenia aktywacji receptora dla glikoproteiny (GP) IIb/IIIa. Korzystnym działaniem poprostenolu, iloprostu i beraprostu jest ich efekt wazodilatacyjny.

Do nowej klasy leków należą dwa selektywne, kompetycyjne inhibitory receptora aktywowanego proteinazą 1, znane również jako inhibitory receptora trombinowego - SCH 530348 oraz E 5555.

Tab. 1. Mechanizmy działania leków przeciwplatek
 Tab. 1. Mechanisms of action of antiplatelet drugs

<i>Grupa leków:</i>	<i>Mechanizm działania:</i>	<i>Odwracalność efektu przeciwagregacyjnego:</i>	<i>Postać leku:</i>	<i>Zalecana dawka:</i>
ASA	Hamowanie COX-1	Nie	tabletki	75-150 mg/d* 160-300 mg/d**
Klopidogrel, tiklopidyna, prasugrel	Blokowanie rec. ADP (P2Y ₁₂)	Nie	tabletki	Tiklopidyna: 2×250 mg/d Klopidogrel: 75 mg/d* 300-600 mg/d**
Tikagrelor, kangrelor		Tak	tabletki	2×90 mg
Tirofiban, eptifibatyd	Blokowanie rec. GP IIb/IIIa	Tak	Roztwór i.v.	25 µg/kg w ciągu 3 min i.v., potem 15 µg/kg/min we wlewie przez 18 h 180 µg/kg we wstrzyknięciu i.v. 2 x w odstępie 10 min, następnie 2,0 µg/kg/min we wlewie przez 18 h
Abciximab		Nie	Roztwór i.v.	0,25 mg/kg m.c. (bolus) + wlew ciągły 0,125 µg/kg m.c./min
Dipirydamol, cilośćazol	Hamowanie PDE	Tak	tabletki	200-400 mg/d
Epoprostenol, iloprost, beraprost	Stymulacja rec. PGI	Tak	Roztwór i.v. oraz preparaty do inhalacji	0,5-2 ng/kg m.c./ min
SCH 530348, E 5555	Blokowanie rec. PAR-1	Tak		

* Długoterminowa prewencja u pacjentów wysokiego ryzyka

** Stany wymagające nagłej, całkowitej inhibicji agregacji płytek krwi zależnej od TXA₂ (np. ostry zawał serca)

Źródło: Opracowanie Autorów / Source: Elaboration of the Authors

Jednym ze szlaków aktywacji płytek, niezależnych od TXA₂ i ADP, który jest uważany za potencjalną przyczynę nawracających incydentów niedokrwienych mimo stosowania leków przeciwplatekcyjnych, jest szlak zależny od trombiny. Trombina jest jednym z najsilniejszych aktywatorów płytek. Działa za pośrednictwem receptora PAR-1 (protease 1 - activated receptor), który jest obecny na ludzkich płytkach, prowadząc m.in. do produkcji TXA₂, uwolnienia ADP, co może mieć istotne znaczenie w patologicznej zakrzepicy. Skuteczna inhibicja płytek krwi i brak interakcji z osoczymym układem krzepnięcia są niezaprzeczalnymi zaletami opisywanych leków, jakkolwiek pytanie o ich skuteczność nadal pozostaje przedmiotem prowadzonych badań klinicznych [7].

3. Zastosowanie leków przeciwplatekcyjnych w kardiologii

Aspiryna (oraz inne doustne leki przeciwagregacyjne) wykazuje działanie protekcyjne u większości pacjentów ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych, włączając pacjentów z ostrym zawałem mięśnia sercowego, stabilną i niestabilną dławicą piersiową, przebyłym zawałem mięśnia sercowego, chorobą tętnic obwodowych czy migotaniem przedsionków. Jak wynika z metaanalizy badań randomizowanych terapii przeciwplatekowej w prewencji śmierci, zawału serca i udaru mózgu, wprowadzenie terapii przeciwagregacyjnej zredukowało częstość występowania incydentów sercowo-naczyniowych o 25%. Aspiryna i kłopidogrel to leki, które się bardzo dobrze uzupełniają - hamują dwa najważniejsze szlaki aktywacji płytek krwi, dlatego są najpowszechniej stosowanymi lekami przeciwplatekowymi.

W badaniu *The Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilisation, Management and Avoidance* udowodniono, że terapia skojarzona ASA i kłopidogrelem wykazuje większą skuteczność niż leczenie samym ASA [8]. Przeprowadzono również badania porównawcze skuteczności terapii kłopidogrelem i tikłopidyną, mającej na celu utrzymanie drożności naczyń u pacjentów po angioplastyce wieńcowej z implantacją stentu. Skuteczność leczenia w obu przypadkach była bardzo podobna, jednak terapia kłopidogrelem charakteryzowała się dużo lepszą tolerancją i brakiem podwyższonego ryzyka krwawień, w przeciwieństwie do terapii tikłopidyną [9]. Zastosowanie leków przeciwplatekcyjnych w prewencji wtórnej chorób układu sercowo-naczyniowego jest już ugruntowane i od dawna nie budzi wątpliwości, ale warto zauważyć, że leki te są coraz powszechniej stosowane również w prewencji pierwotnej. Wyniki wielu badań dotyczących stosowania ASA w chorobach układu sercowo-naczyniowego podsumował w swojej publikacji z 2009 roku Wolff i wsp. W publikacji tej zwrócono szczególną uwagę na uwzględnienie czynników ryzyka, tj.: wiek, płeć, współistniejące choroby, czy ryzyko krwawienia z przewodu pokarmowego - podczas rozważania profilaktycznego leczenia ASA. Na podstawie analizy randomizowanych badań klinicznych potwierdzono, że ASA wykazuje działanie redukujące ryzyko wystąpienia chorób układu krążenia u obu płci, jednak w odmiennych jednostkach chorobowych. Wyniki badań *Women's Health Study* potwierdzają zmniejszenie ryzyka pierwszego udaru mózgu u kobiet, dlatego wskazane jest leczenie profilaktyczne tego schorzenia u kobiet w wieku 55-79 lat. Natomiast u mężczyzn, zmniejszenie ryzyka dotyczy występowania zawału serca i zalecane jest wprowadzenie leczenia w przedziale wiekowym 45-79 lat. W obu przypadkach należy ocenić korzyści oraz potencjalne zagrożenia mogące wynikać z leczenia [10].

4. Zastosowanie leków przeciwplatekcyjnych w neurologii

Pomimo licznych zastosowań leków przeciwplatekcyjnych w kardiologii, w neurologii jest ich znacznie mniej. Głównym wskazaniem jest prewencja wtórna udaru mózgu, który jest trzecią co do częstości przyczyną zgonu i najczęstszą przyczyną niepełnosprawności u osób

po 40. roku życia. Jednak profilaktyka pierwotna wciąż budzi pytania [11]. Ważnym stwierdzeniem okazał się fakt, iż stosowanie podwójnej terapii przeciwplateletowej (*ang. DAT- Dual Antiplatelet Therapy*) kwasem acetylosalicylowym wraz z pochodną tienopirydyny (najczęściej z kłopidogrelem), zmniejsza całkowite relatywne ryzyko udaru o 20%. Z kolei ryzyko udaru niedokrwiennego i przemijającego ataku niedokrwiennego (*ang. TIA - Transient Ischemic Attack*) maleje o 23%, nie powodując przy tym wzrostu ryzyka krwawienia wewnątrzczaszkowego [12]. Ponadto, kwas acetylosalicylowy zastosowany w ostrej fazie udaru mózgu, zmniejsza liczbę zgonów lub nawrotów udaru o 9 na 1000 leczonych w czasie pierwszych tygodni od wystąpienia udaru oraz o 13 zgonów lub chorych, którzy nie są zdolni do funkcjonowania na 1000 chorych w ciągu pierwszych miesięcy od wystąpienia udaru [13].

Stąd wniosek, że leczenie ASA powinno być rozpoczęte w jak najkrótszym czasie od wystąpienia udaru. W badaniu ESPS-2 (*ang. European Stroke Prevention Study 2*), obejmującym 6602 chorych po udarze lub przemijającym niedokrwieniu mózgu udowodniono większą skuteczność kliniczną stosowania dipirydamolu w połączeniu z ASA (zmniejszenie ryzyka udaru o 37%) niż samego ASA (zmniejszenie o 18%) lub samego dipirydamolu (o 16%) [14]. Należy podkreślić, że wskazania do stosowania leków przeciwplateletowych są najczęściej ściśle związane z chorobą naczyń obwodowych oraz z chorobami serca. Powszechnie stosuje się kwas acetylosalicylowy w profilaktyce powikłań zatorowych, które powodują udary niedokrwienne mózgu, u chorych z migotaniem przedsionków, po zawale mięśnia sercowego, w stabilnej chorobie wieńcowej, lub razem z innymi lekami przeciwplateletowymi w zaburzeniu krążenia obwodowego.

5. Brak skuteczności w leczeniu przeciwplateletowym

Zjawisko oporności na leczenie przeciwplatetowe jest wciąż otwartym i ważnym problemem, szczególnie w przypadku pacjentów poddanych przewlekłemu leczeniu lekami przeciwagregacyjnymi (głównie aspiryną i kłopidogrelem). Ten rodzaj lekooporności można zdefiniować jako brak spodziewanych efektów w odpowiedzi na stosowanie leków antyagregacyjnych, bądź wysoką reaktywność płytek mimo leczenia (głównie z zastosowaniem ASA i kłopidogrelu) [15], [29]. Mamy wówczas do czynienia z sytuacją, w której mimo przyjmowania leków przeciwplatetowych w zalecanych dawkach, mogą wystąpić incydenty zakrzepowo-zatorowe z towarzyszącym niedokrwieniem [23]. Dotyczy to zwłaszcza pacjentów obciążonych dużym ryzykiem wystąpienia takich powikłań.

Wyróżniamy oporność laboratoryjną, w której aktywność płytek nie jest dostatecznie zahamowana *in vitro* przez zastosowany lek, a także oporność kliniczną, dotyczącą wystąpienia powikłań w postaci zdarzeń sercowo-naczyniowych, pomimo prowadzonego leczenia przeciwplatekowego [29]. Dotychczas udowodniono, że za oporność na leczenie farmakologiczne są odpowiedzialne czynniki farmakokinetyczne, farmakodynamiczne, wewnątrzkomórkowe oraz interakcje lekowe.

5.1. Oporność na kwas acetylosalicylowy (ASA)

➤ Czynniki farmakokinetyczne

Upośledzone wchłanianie oraz niewystarczające dawkowanie aspiryny, a przede wszystkim nieprzestrzeganie zaleceń przez chorego i nieprzyjmowanie ASA, to główne przyczyny pozornej oporności na aspirynę [29], [32], [39]. Ze względu na fakt, iż większość płytek ulega acetylacji przez ASA jeszcze w krążeniu wrotnym, działanie antyagregacyjne tego leku w bardzo niewielkim stopniu zależy od biodostępności związanej z efektem pierwszego przejścia [31].

➤ *Czynniki farmakodynamiczne*

Ze zjawiskiem oporności na aspirynę wiąże się także zwiększony obrót płytek krwi [29], obserwowany między innymi w przebiegu infekcji oraz innych chorób o podłożu zapalnym. Prowadzi to do znacznego zwiększenia odsetka płytek z niezacetylowaną cyklooksyzgenazą o pełnym potencjale agregacyjnym [31]. Wykazano także, że odsetek form młodościowych trombocytów (płytek retikulocytarnych) jest silnie powiązany z odpowiedzią na leczenie przeciwplatekcyjne u pacjentów ze stabilną chorobą wieńcową. Duże płytki są bardziej reaktywne niż małe, mimo zastosowania podwójnego leczenia przeciwplatekowego (ASA z kłopidogrelem) [33]. Mechanizm ten można zaobserwować u pacjentów z cukrzycą typu 2 [34].

Palenie tytoniu oraz obecność chorób współistniejących, takich jak: miażdżyca tętnic kończyn dolnych, hipercholesterolemia, nadciśnienie tętnicze i cukrzyca, przyczyniając się do uszkodzenia śródbłonna, sprzyjają powstawaniu aspirynoporności [29], [35], [38]. Obniżenie produkcji tlenu azotu przez zniszczone endothelium prowadzi bowiem do aktywacji płytek i wykrępowania wewnątrznaczyniowego [25].

U chorych na cukrzycę, zwłaszcza przy niewystarczającej kontroli, dochodzi do utrudnionej acetylowania płytek przez ASA i do wzrostu ich reaktywności, mimo stosowania podwójnej terapii przeciwplatekowej [29]. Jest to związane między innymi z glikacją białek płytek krwi w wyniku hiperglikemii [36], z opornością na insulinę, bezwzględnym niedoborem insuliny, stresem oksydacyjnym oraz z hiperlipidemią [37]. Zwiększenie ekspresji płytkowych cząsteczek adhezyjnych (CD31, CD36, CD49b, CD62P i CD63), zmniejszenie plastyczności błony komórkowej płytek oraz wzrost ekspresji receptorów na powierzchni płytek (P-selektyny, GP Ib i GP IIb/IIIa) prowadzący do ich nadmiernej aktywności proagregacyjnej [31], to kolejne mechanizmy powstawania aspirynoporności w przebiegu cukrzycy [38].

Uważa się także, że czynniki genetyczne, takie jak: polimorfizm receptora GP IIb/IIIa oraz mutacja i/lub polimorfizm genu COX-1, mogą odpowiadać za zmniejszenie wrażliwości na ASA [31].

Choroby zapalne, w tym także miażdżyca, mogą zwiększać ekspresję COX-2 w monocytach, makrofagach i w śródbłonie. Cyklooksyzgenaza ta jest znacznie mniej wrażliwa na działanie ASA [31], poza tym bierze udział w syntezie TXA₂ (silnego agonisty płytek) [35], co w dużej mierze może przyczynić się do zmniejszenia odpowiedzi na leczenie aspiryną [31].

➤ *Interakcje lekowe*

Wykazano także, że równoczesne przyjmowanie innych niesteroidowych leków przeciwzapalnych mocno koreluje z aspirynopornością, co z kolei jest związane jest z odwracalną inhibicją miejsc aktywnych COX-1, uniemożliwiająca przyłączenie się cząsteczek kwasu acetylosalicylowego [35], [39].

Brana jest także pod uwagę możliwość obniżenia odpowiedzi na ASA podczas jednoczesnego podawaniu inhibitorów pompy protonowej, jednak do chwili obecnej brak jest jednoznacznych dowodów potwierdzających tę teorię [39].

5.2. Oporność na kłopidogrel

➤ *Czynniki farmakokinetyczne*

Upośledzone wchłanianie jelitowe kłopidogrelu, do którego przyczynia się zmienność genetyczna w genie ABCB1 kodującym transporter błonowy GP, bądź polimorfizm pojedynczego nukleotydu C3435T genu ABCB1, zarówno w formie homozygoty jak i heterozygoty [16], może być przyczyną oporności na ten lek.

Dodatkowo, polimorfizm cytochromów uczestniczących w powstawaniu aktywnego metabolitu kłopidogrelu, czyli CYP3A4, CYP3A5 i CYP2C19, może prowadzić do jego mniejszej koncentracji, a co za tym idzie, także może wiązać się z powstaniem oporności [25], [26], [28], [29]. Oporność na kłopidogrel może być związana także ze zmniejszoną aktywnością CYP3A4. Polimorfizm CYP2C19 najczęściej obejmuje występowanie 3 alleli. Za normalną funkcję odpowiada CYP2C19*1, zaś CYP2C19*2 i CYP2C19*3 to tak zwane „poor metabolizers”- allele utraty funkcji, odpowiadające za redukcję właściwej aktywności leku u osób ze znacznie ograniczonym metabolizmem [30]. U osób z cukrzycą typu 2 częściej występuje allel CYP2C19*2 [29]. Ponadto dowiedziono, że płytki krwi u homozygot CYP2C19*2/*2 odpowiadają w mniejszym stopniu na leczenie kłopidogrelem niż heterozygoty CYP2C19*2, które z kolei są mniej wrażliwe na leczenie przeciwplatekcyjne niż homozygoty dzikie [18]. Jednak na brak jednoznacznej oceny w tej dziedzinie wskazuje badanie, w którym Walter i wsp. nie wykazali związku między polimorfizmem CYP2C19 a wystąpieniem oporności na leczenie kłopidogrelem [19].

Nie mniej istotne w powstawaniu oporności na kłopidogrel są także czynniki zewnętrzne, takie jak nieprzyjmowanie leku przez pacjenta albo niewłaściwe dawkowanie. Czynnikiem wewnętrznym odpowiedzialnym za oporność mogą być alternatywne drogi aktywacji płytek krwi, niezależne od TXA2 i ADP.

➤ *Czynniki farmakodynamiczne*

U pacjentów z wysokim BMI (*ang.* Body Mass Index), chorobą wieńcową lub cukrzycą obserwuje się zwiększenie częstości występowania oporności na kłopidogrel [20], [29] wraz z towarzyszącym wzrostem wrażliwości na ADP, indukującym adhezję i agregację płytek [16].

Za geny związane z biologiczną aktywnością kłopidogrelu uważa się P2Y12, jednak w żadnym z dotychczasowych badań nie wykazano ścisłego związku między odpowiedzią na leczenie kłopidogrelem, a aktywnością genów kodujących receptor P2Y12 [16]. Hurst i wsp. przypisują możliwość powstania oporności na leczenie przeciwplatekcyjne zaburzeniom w wewnątrzkomórkowej kaskadzie sygnałów, która jest odpowiedzialna za inhibicję receptora P2Y12 [20]. Nie udowodniono jednoznacznie związku polimorfizmu receptora GP IIb/IIIa ze zmianą odpowiedzi na kłopidogrel [16].

➤ *Interakcje lekowe*

Interakcje leków przeciwplatekowych z innymi lekami również mogą skutkować opornością na leczenie przeciwagregacyjne, a co za tym idzie, przyczyniać się do wystąpienia incydentów zakrzepowo-zatorowych [21]. W swoim badaniu Gilard i wsp. wykazali, że tygodniowa terapia omeprazolem u chorych przyjmujących jednocześnie kłopidogrel, skutkuje zmniejszeniem odpowiedzi na lek antyagregacyjny [22]. Najbardziej prawdopodobną przyczyną tego zjawiska wydaje się być fakt wykorzystywania przez omeprazol tego samego szlaku metabolicznego co kłopidogrel [25]. Izoenzym cytochromu P450, CYP2C19, odpowiada bowiem nie tylko za przemianę kłopidogrelu do jego aktywnej postaci, ale też za metabolizm inhibitorów pompy protonowej (IPP), w tym omeprazolu [22]. Nie do końca jednoznaczne są wyniki badań dotyczących interakcji kłopidogrelu ze statynami. Część badań wskazuje na to, iż statyny hamują przekształcanie kłopidogrelu do aktywnego metabolitu, jednak w kilku innych badaniach nie wykazano zmniejszenia skuteczności kłopidogrelu przez statyny.

5.3. Oporność na inne leki przeciwplatekcyjne

Z uwagi na stosowanie w leczeniu przeciwplatekowym głównie ASA i klopidoogrelu, znakomita większość prac naukowych na temat leczenia antyagregacyjnego dotyczy właśnie tych leków. Jednak ze względu na obserwowaną stosunkowo dużą oporność na takie leczenie, coraz więcej uwagi poświęca się poszukiwaniom alternatywy dla tradycyjnego leczenia przeciwplatekowego.

Dotychczasowe badania wykazały, iż w trakcie stosowania prasugrelu, tiklopidyny i tikaogreloru oporność występowała rzadziej [30], [32]. Niestety brak jest dokładnego opisu mechanizmów oporności na te leki. Można przypuszczać, że oporność na tiklopidynę powstaje z powodów zbliżonych do oporności na klopidoogrel ze względu na wspólne pochodzenie tych związków (oba są pochodnymi tienopirydyny). Prasugrel zaś, pochodna tienopirydyny 3 generacji, dzięki jednoetapowemu procesowi aktywacji w wątrobie, wykazuje silniejsze i mniej zmienne działanie przeciwplatekowe niż klopidoogrel [33]. Tikagrelor, który nie jest pochodną tienopirydyny i wykazuje działanie odwracalne, działa bezpośrednio jako antagonist receptoru P2Y₁₂. W odróżnieniu od klopidoogrelu, nie wymaga udziału enzymów cytochromu P450 w swoim metabolizmie [30]. Dzięki temu uważa się, że tikagrelor może być z powodzeniem stosowany w przypadku oporności na klopidoogrel [31].

6. Konsekwencje braku skuteczności leczenia przeciwplatekowego

➤ *Leczenie aspiryną*

Dotychczas opublikowano wiele prac dotyczących problemu klinicznych konsekwencji aspirynooporności. Gum i wsp. [40] na podstawie przeprowadzonego dwuletniego badania, do którego włączono pacjentów z ustabilizowaną chorobą układu krążenia przyjmujących aspirynę, stwierdzili, że częściej dochodziło do zawału mięśnia sercowego, udaru mózgu, a także nagłej śmierci sercowej u pacjentów, u których rozwinęła się oporność na ASA. Chen i wsp. [41] zaobserwowali ponadto większe ryzyko wystąpienia niestabilnej dławicy piersiowej wymagającej hospitalizacji oraz przemijającego ataku niedokrwinnego mózgu (TIA). Co więcej, oporność na ASA związana jest klinicznie ze zwiększoną rozległością udaru, większe jest także ryzyko wystąpienia ponownego udaru u pacjentów po przebytych już udarach niedokrwinnym mózgu [42]. Podkreśla się również związek pomiędzy krótko- i długoterminową śmiertelnością chorych, a opornością na kwas acetylosalicylowy.

➤ *Leczenie klopidoogrelem*

Oporność na klopidoogrel, ponownie jak oporność na ASA, wiąże się z istotnymi konsekwencjami klinicznymi. Wiadomo, że rozwój oporności na leczenie klopidoogrelem ma wpływ na rokowanie. Wśród niekorzystnych skutków związanych z opornością na klopidoogrel znajdują się między innymi nawracające zdarzenia sercowo-naczyniowe (włącznie z powstaniem trombozy stentu), zdarzenia mózgowo-naczyniowe oraz zakrzepica tętnic obwodowych [44]. W badaniach przeprowadzonych przez Matetzki i wsp. u 25% osób stwierdzono oporność na klopidoogrel [43].

W badaniach Mayo Clinic wykazano zwiększone ryzyko zgonu po zabiegu endowaskularnym mózgu z powodu komplikacji zakrzepowych, u pacjentów z niedostateczną odpowiedzią na klopidoogrel [44]. Udowodniono także zwiększenie częstości występowania ostrej trombozy stentu po angioplastyce naczyń mózgowych [45]. W związku z licznymi konsekwencjami oporności na klopidoogrel, podejmowane są próby znalezienia alternatywnej drogi rozwiązania problemu - od próby zwiększania dawek klopidoogrelu, przez podawanie innych leków przeciwplatekowych, po propozycje genotypowania i badania funkcji płytek [46], [47].

Jednak zarówno oporność na ASA, jak i na kłopidogrel, stanowią poważny problem medyczny, który wymaga dalszych badań oraz poszukiwania nowych rozwiązań. Wydaje się, że w wyborze skutecznej terapii przeciwplatekowej najbardziej pomocne może być genotypowanie w połączeniu z badaniem funkcji płytek.

7. Możliwości praktycznej oceny działania leków przeciwplatekowych

W przeciwieństwie do terapii antykoagulantami, tradycyjnie skuteczność terapii przeciwplatekowej nie była monitorowana za pomocą testów laboratoryjnych. Jednakże w ostatnim czasie coraz więcej mówi się o występowaniu oporności na leczenie antyagregacyjne i w związku z tym, wydaje się iż laboratoryjna kontrola mogłaby przynieść korzyści pacjentom z opornością na te leki, np. poprzez następcze wprowadzenie zmian w farmakoterapii. Znanych jest wiele metod oznaczania skuteczności hamowania funkcji płytek krwi przez leki przeciwplatekowe, jednak brak standaryzacji i ściśle określonych norm bardzo utrudnia ich interpretację. Zbyt mała ilość badań przeprowadzonych na ten temat pozostawia otwartymi takie pytania jak: kogo badać? W jaki sposób? Czy faktycznie laboratoryjnie wykryta oporność na te leki powoduje występowanie niekorzystnych konsekwencji klinicznych? Problemem jest również brak wytycznych dotyczących postępowania w przypadku potwierdzenia oporności na lek.

Zwiększenie dawki leku, zastąpienie go innym czy dodanie kolejnego leku do terapii skojarzonej, nie daje stuprocentowej pewności poprawy, nie wspominając o możliwości zwiększonego ryzyka występowania powikłań polekowych. Każdy pacjent, u którego stwierdzono oporność na leczenie powinien mieć indywidualnie ustalone dawki leków oraz oznaczone tzw. okno terapeutyczne, czyli zakres stężenia leku w surowicy, w którym skuteczność kliniczna jest największa, a działania niepożądane najmniejsze. Jednak pamiętać należy, że takie stężenie leku nie jest odzwierciedleniem skuteczności klinicznej, do oceny której konieczne są wskaźniki kliniczne. Metody diagnostyki oporności omówiono poniżej, a są to głównie metody związane z agregometrią.

Złotym standardem badania funkcji płytek krwi jest agregometria oparta na transmisji światła widzialnego (ang. *LTA - Light transmission aggregometry*), polegająca na stymulacji agregacji płytek krwi poprzez użycie różnych agonistów (adenozyna, kwas arachidonowy, kolagen, adrenalina, trombina) oraz ilościowa ocena poprzez pomiar transmisji promienia świetlnego przechodzącego przez zawiesinę płytek. Pozwala to na rozpoznanie oraz klasyfikację nabytych i wrodzonych defektów płytek krwi. Determinuje również skuteczność leków hamujących agregację płytek oraz mechanizm ich działania [48], [49].

Kolejną metodą jest cytometria przepływowa, umożliwiająca pomiar aktywności płytek *in vitro* oraz ocenę interakcji między płytkami, a leukocytami. Płytki krwi są aktywowane przez agonistę, co stymuluje ekspresję zależnych od aktywacji receptorów/markerów, które podlegają pomiarowi ilościowemu. Markerami tymi są P-selektyna, białko GP IIb/IIIa oraz agregaty płytek i leukocytów [53].

Metoda oceny zahamowania agregacji płytek krwi metodą VerifyNow opiera się na pomiarze zmiany transmisji światła wywołanej przez agregację płytek po ekspozycji na agonistę. Metoda VerifyNow - *RPFA* (ang. *ultra rapid platelet function assay*) umożliwia pomiar aglutynacji płytek stymulowanych przez agonistę (kwas arachidonowy, ADP lub peptyd aktywujący receptor trombiny), opłaszczonych fibrynogenem w próbkach pełnej krwi z cytrynianem. Badanie z wykorzystaniem tej metody umożliwia monitorowanie poziomu inhibicji płytek u pacjentów stosujących terapię inhibitorami GP IIb/IIIa, aspiryną oraz kłopidogrelem. Uzyskane wyniki korelują z wynikami uzyskanymi z LTA [48], [50].

Tab. 2. Kliniczne testy inhibicji płytek krwi
 Tab. 2. Clinical tests of platelet blood inhibition

<i>Test:</i>	<i>Metodyka:</i>	<i>Korzyści:</i>	<i>Wady:</i>
Agregometria oparta na transmisji światła widzialnego	Określenie ilościowe agregacji płytek poprzez pomiar transmisji promienia świetlnego	Historyczny tzw. złoty standard; dokładna metoda	Wysokie koszty; duża objętość próbki; złożoność procesu przygotowania próbki; czasochłonność
VerifyNow® – RPFA	Pomiar agregacji płytek	Łatwa i szybka metoda; mała objętość próbki; duża swoistość wyników; badanie pełnej krwi lub osocza bogato-płytkowego	Zakresy norm w fazie badań
PFA-100®	Pomiar adhezji i agregacji płytek	Łatwa i szybka metoda; mała objętość próbki; badanie pełnej krwi	Zakresy norm w fazie badań; zależność wyniku od czynnika von Willebranda i hematokrytu;
Cytometria przepływowa	Pomiar zależnych od aktywacji zmian na powierzchni płytek (P-selektyna, białko GP IIb/IIIa oraz agregaty płytek i leukocytów)	Mała objętość próbki; badanie pełnej krwi	Złożoność procesu przygotowania próbki; wysokie koszty; wymagany wykwalifikowany personel
Agregometria impedancyjna (Multiplate®)	Oznaczanie stężenia metabolitów kwasu arachidonowego	Badanie pełnej krwi; prostota wykonania; niski koszt; mała objętość próbki	Zakresy norm w fazie badań;
Oznaczanie stężenia tromboksanu B2 w osoczu	Odwierciedla całkowitą zdolność płytek krwi do syntezy tromboksanu	Najdokładniejszy test oceniający biochemiczny efekt działania ASA	Brak jednoznacznego punktu odcięcia

Źródło: Opracowanie Autorów
 Source: Elaboration of the Authors

Metoda agregometrii przepływowej (kapilarnej), realizowana w analizatorze płytkowym PFA-100 (ang. *platelet function analyse*) funkcjonuje jako alternatywna metoda dla mierzenia czasu krwawienia i oceny dysfunkcji płytek [51]. Metoda ta nie sprawdza się jednak w monitorowaniu łagodnych wrodzonych oraz wywołanych lekami defektów płytek. Pomiar inhibicji agregacji płytek w odpowiedzi na klopidoogrel może być również nieadekwatny, gdyż wiele czynników może wpływać na wynik testu, np. liczba płytek, czynnik von Willebranda, krwinki czerwone, reakcja płytek na kolagen. Zatem system PFA-100 nie jest polecaną metodą monitorowania terapii przeciwplatekowej [48], [52].

Agregometria impedancyjna (np. z wykorzystaniem aparatu Multiplate) pozwala na ocenę funkcji płytek poprzez zmiany oporu elektrycznego zachodzące podczas agregacji między elektrodami naczynia pomiarowego, zawierającego pełną krew lub osocze bogatopłytkowe.

Poziom tromboksanu B₂ w surowicy odzwierciedla całkowitą zdolność płytek krwi do syntezy tromboksanu A₂, którego jest metabolitem i tym samym stanowi najbardziej swoistą metodę monitorowania terapii przeciwplatekowej aspiryną. Można również mierzyć poziom metabolitu tromboksanu T₂, 11-dehydrotromboksanu T₂ w moczu. Jednak zostało skalkulowane, że ok. 30% tego metabolitu w moczu pochodzi ze źródeł pozapłytkowych, zatem metoda ta nie będzie wysoce specyficzna dla monitorowania terapii aspiryną. Oporność na leczenie stwierdza się u pacjentów, u których stężenie TxB₂ w moczu wynosi >33,8 ng/mmol kreatyniny [54], [55].

8. Podsumowanie i wnioski

- Leki przeciwplatekowe należą do leków o istotnym znaczeniu klinicznym, a ich stosowanie zmniejsza ryzyka wystąpienia poważnych incydentów naczyniowych u chorych obciążonych dużym ryzykiem powikłań ze strony układu krążenia.
- Zjawiskiem zmniejszającym efekty leczenia jest rozwój oporności na leki przeciwplatekowe, która jest definiowana jako osobnicze ograniczenie zdolności hamowania funkcji płytek krwi, pomimo stosowania leków przeciwplatekowych.
- Po dokonaniu przeglądu dostępnego piśmiennictwa można stwierdzić u pacjentów ze stwierdzoną opornością na leczenie przeciwplatekowe, należy indywidualnie ustalać dawki stosowanych leków oraz wyznaczyć tzw. okno terapeutyczne, zwłaszcza że brak jest wytycznych dotyczących właściwego postępowania w przypadku potwierdzenia oporności na leki przeciwplatekowe.

Literatura

- [1] Wojtyniak B., Goryński P., Moskalewicz B.: *Sytuacja zdrowotna ludności Polski i jej uwarunkowania*. Warszawa: Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny, 2012, s. 59-74.
- [2] Patrono C., Bachmann F., Baigent C. i wsp.: *Expert consensus document on the use of antiplatelet agents; The task force on the use of antiplatelet agents in patients with atherosclerotic cardiovascular disease of the European Society of Cardiology*. European Heart Journal 2004, 25, pp. 166-181.
- [3] *Medycyna Praktyczna: Profilaktyka przeciwzakrzepowa i leczenie zakrzepicy w różnych stanach klinicznych - VI Wytyczne American College of Chest Physicians, Część III: Doustne antykoagulanty, leki przeciwplatekowe*. The Sixth (2000) ACCP guidelines for antithrombotic therapy for prevention and treatment of thrombosis Chest, 2001, 119, s. 1S-7S.
- [4] Kawecka-Jaszcz K., Olszanecka A., Loster M.: *Działania niepożądane leków przeciwplatekowych w kontekście prewencji chorób układu sercowo-naczyniowego*. I Klinika Kardiologii Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Choroby Serca i Naczyń 2006, Tom 3, Nr 2, s. 91-104.

- [5] Ferri N., Corsini A., Bellosta S.: *Pharmacology of the new P2Y12 receptor inhibitors: insights on pharmacokinetic and pharmacodynamic properties*. Oct 2013; ISSN 0012-6667.
- [6] Witkowski A.: *Antiplatelet treatment in acute coronary syndromes*. Folia Cardiologica 2005, Vol. 12, No. 9, pp. 585-593, Via Medica ISSN 1507-4145.
- [7] Michałak M., Ścibisz A., Filipiak K. J.: *Protease activated receptor-1 inhibitors - the new group of antiplatelet agents*. I Katedra i Klinika Kardiologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Choroby Serca i Naczyń 2010, Tom 7, Nr 1, s. 33-39.
- [8] Bhatt D.L., Topol E.J.: *Clopidogrel added to aspirin versus aspirin alone in secondary prevention and high-risk primary prevention: rationale and design of the Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management, and Avoidance (CHARISMA) trial*. American Heart Journal 2004, 148, pp. 263-268.
- [9] Bertrand M. E., Rupprecht H. J., Urban P., Gershlick A. H.: *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, pp. 624-629.
- [10] Wolff T., Miller T., Ko S.: *Aspirin for the primary prevention of cardiovascular events: An update of the evidence for the U.S. Preventive Services Task Force*. Annals of Internal Medicine 2009, 150, pp. 405-410.
- [11] Iso H., Hennekens Ch., Stampfer M. J. et al.: *Prospective study of aspirin use and risk of stroke in women*. Stroke 1999, 30, p. 1764.
- [12] Gouya G., Arrich J., Wolzt M., Huber K., Verheugt F. W., Gurbel P. A., Pirker-Kees A., Siller-Matula J. M.: *Antiplatelet treatment for prevention of cerebrovascular events in patients with vascular diseases: A systematic review and meta-analysis*. Stroke 2013, Dec. 24.
- [13] Kuczyńska- Zardzewiały A.: *Zastosowanie leków przeciwplateletowych w ostrej fazie udaru mózgu*. Polski Przegląd Neurologiczny 2008, Tom 4, s. 23-24 (supl. A).
- [14] Diener H. C., Cunha L., Forbes C., Sivenius J., Smets P., Lowenthal A.: *European stroke prevention study. Dipyridamole and acetylsalicylic acid in the secondary prevention of stroke*. Journal of Neurological Sciences 1996 Nov. 143, (1-2), pp. 1-13.
- [15] Porosińska A., Pierzchała K.: *Koncepcje oporności na aspirynę*. Neurologia i Neurochirurgia Polska 2006, 40, 4, s. 313-319.
- [16] Quareshi Z., Hobson A. R.: *Clopidogrel "resistance": where are we now?* Cardiovascular Therapeutics 2013 Feb. 31, (1), pp. 3-11.
doi: 10.1111/j.1755-5922.2011.00296.x. Epub 2011 Aug. 3.
- [17] Yang J., Zhao H. D., Tan J., Ding Y. L., Gu Z. Q., Zou J. J.: *CYP2C19 polymorphism and antiplatelet effects of clopidogrel in Chinese stroke patients*. Pharmazie 2013 Mar. 68, (3), pp. 183-186.
- [18] Ford N. F.: *Clopidogrel resistance: pharmacokinetic or pharmacogenetic?* The Journal of Clinical Pharmacology 2009 May, 49, (5), pp. 506-512.
- [19] Walter P. N., Tsakiris D. A., Romanens M., Arnet I., Hersberger K. E.: *Antiplatelet resistance in outpatients with monitored adherence*. Platelets, 2013 Oct. 31.

- [20] Hurst N. L., Nooney V. B., Raman B., Chirkov Y. Y., De Caterina R., Horowitz J. D.: *Clopidogrel "resistance": Pre- vs post-receptor determinants*. *Vascular Pharmacology* 2013 Nov.-Dec., 59, (5-6), pp. 152-161. doi: 10.1016/j.vph.2013.10.002. Epub 2013 Oct. 16.
- [21] Małek Ł. A., Rużyłło W.: *Krwawienie i oporność na leki - cienie współczesnego leczenia przeciwplatekowego i przeciwkrzepliwego w kardiologii*. *Postępy Kardiologii Interwencyjnej* 2008, 4, 2(12), s. 74-79.
- [22] Gilard M., Arnaud B., Cornily J. C., Le Gal G., Lacut K., Le Calvez G., Mansourati J., Mottier D., Abgrall J. F., Boschat J.: *Influence of omeprazole on the antiplatelet action of clopidogrel associated with aspirin: the randomized, double-blind OCLA (Omeprazole CLopidogrel Aspirin) study*. *Journal of the American College of Cardiology* 2008 Jan. 22, 51(3), pp. 256-60. doi: 10.1016/j.jacc.2007.06.064.
- [23] Postuła M.: *Ocena wpływu kwasu acetylosalicylowego na funkcję płytek u pacjentów z chorobą wieńcową*. *Polish Journal of Cardiology* 2006, Tom 8, Nr 5, s. 355-357.
- [24] Zawilska K., Gaik I., Hanszke E., Turowiecka Z., Puszyńska M.: *Oporność na leczenie przeciwplatekowe a polimorfizm C807T glikoproteiny Ia oraz hiperhomocysteinemią u pacjentów po zawale serca*. *Acta Angiologica* 2006, 12 (Suppl A), s. 130-131.
- [25] Cialdella P., Gustapane M., Camaioni C., Biasucci L. M.: *What's new about clopidogrel*. *Minerva Cardioangiologica* 2013 Dec. 61, (6), pp. 683-689.
- [26] Lau W. C., Gurbel P. A., Watkins P. B., Neer C. J., Hopp A. S., Carville D. G., Guyer K. E., Tait A. R., Bates E. R.: *Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of clopidogrel resistance*. *Circulation*. 2004 Jan. 20, 109, (2), pp. 166-171. Epub 2004 Jan 5.
- [27] Mega J. L., Close S. L., Wiviott S. D., Shen L., Hockett R. D., Brandt J. T., Walker J. R., Antman E. M., Macias W., Braunwald E., Sabatine M. S.: *Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel*. *The New England Journal of Medicine* 2009 Jan. 22, 360, (4), pp. 354-362. doi: 10.1056/NEJMoa0809171. Epub 2008 Dec. 22.
- [28] Suh J. W., Koo B. K., Zhang S. Y., Park K. W., Cho J. Y., Jang I. J., Lee D. S., Sohn D. W., Lee M. M., Kim H. S.: *Increased risk of atherothrombotic events associated with cytochrome P450 3A5 polymorphism in patients taking clopidogrel*. *Canadian Medical Association Journal* 2006 Jun. 6, 174, (12), pp. 1715-1722.
- [29] Piechota W.: *Oporność na leki przeciwplatekowe u pacjentów z chorobami układu krążenia i cukrzycą*. *Borgis - Postępy Nauk Medycznych* 3/2013, s. 233-238.
- [30] Hoyo-Vadillo C., Garcia-Mena J., Valladares A. et al.: *Assosiation of CYP2C19 genotype with type 2 diabetes*. *Health* 2010, 2, pp. 1184-1190.
- [31] Doroszko A., Podgórska K., Drożdż K., Szuba A.: *Oporność na ASA- patomechanizm i implikacje kliniczno-terapeutyczne*. *Acta Angiologica* 2008, Vol. 14, No. 3, pp. 79-87.
- [32] Cuisset T., Frere C., Quilici J. et al.: *Aspirin noncompliance is the major cause of "aspirin resistance" in patients undergoing coronary stenting*. *American Heart Journal* 2009, 157, pp. 889-893.
- [33] Guthikonda S., Alviar C., Vaduganathan M. et al.: *Role of reticulated platelets and size heterogeneity on platelet activity after dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel in patients with stable coronary artery disease*. *Journal of The American College of Cardiology* 2008, 52, pp. 743-749.

- [34] Ferreiro J., Angiolillo D.: *Diabetes and antiplatelet therapy in acute coronary syndrome*. Circulation 2011, 123, pp. 798-813.
- [35] Lewszuk A., Staszkiwicz W., Madycki G., Słowiński P.: *Evaluation of platelet activity and incidence of resistance to acetylsalicylic acid in patients receiving thrombosis prevention after carotid endarterectomy*. Acta Angiologica 2012, Vol. 18, No. 2, pp. 68-78.
- [36] Watala C., Pluta J., Golanski J. et al.: *Increased protein glycation in diabetes mellitus is associated with decreased aspirin-mediated protein acetylation and reduced sensitivity of blood platelets to aspirin*. Journal of Molecular Medicine (Berlin) 2005, 83, pp. 148-158.
- [37] Schneider D.: *Factors contributing to increased platelet reactivity in people with diabetes*. Diabetes Care 2009, 32, pp. 525-527.
- [38] Balasubramaniam K., Viswanathan G., Marshall S. et al.: *Increased atherothrombotic burden in patients with diabetes mellitus and acute coronary syndrome: A review of antiplatelet therapy*. Cardiology Research and Practice 2012; 2012: 909154, doi: 10.1155/2012/909154.
- [39] Musallam K.M., Charafeddine K., Bitar A., Khoury M., Assaad S., Beresian J., Alam S., Taher A. T.: *Resistance to aspirin and clopidogrel therapy*. International Journal of Laboratory Hematology. Feb. 2011, Vol. 33 Issue 1, pp. 1-18.
- [40] Gum P. A., Kottke-Marchant K., Welsh P. A., White J., Topol E. J.: *A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease*. Journal of The American College of Cardiology 2003 Mar. 19, 41(6), pp. 961-965.
- [41] Wai-Hong Chen, Xi Cheng, Pui-Yin Lee, William Ng, Jeanette Yat-Yin Kwok, Hung-Fat Tse, Chu-Pak Lau: *Aspirin resistance and adverse clinical events in patients with coronary artery disease*. The American Journal of Medicine 2007 July Vol. 120, 7, pp. 631-635.
- [42] Castilla-Guerra L., et al: *Switching from aspirin to clopidogrel in patients with aspirin resistance after an ischemic stroke. Is it a good solution?* European Journal of Internal Medicine 2014.
- [43] Matetzky S., Shenkman B., Guetta V., Shechter M., Beinart R., Goldenberg I., Novikov I., Pres H., Savion N., Varon D., Hod H.: *Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent antithrombotic events in patients with acute myocardial infarction*. Circulation 2004, 109, pp. 3171-3175.
- [44] Nordeen J. D., Patel V. A., Darracott R. M., Johns G. S., Tausky P., Tawk R. G., Miller D. A., Freeman W. D., Hanel R. A.: *Clopidogrel resistance by P2Y12 platelet function testing in patients undergoing neuroendovascular procedures: incidence of ischemic and hemorrhagic complications*. Journal of Vascular and Interventional Neurology June 2013.
- [45] Gyoung-Jun Rho, Woo-Ram Shin, Tae-Sik Kong, Min-Sun Kim, Chang-Ju Lee, Byung-Hee Lee: *Significance of clopidogrel resistance related to the stent-assisted angioplasty in patients with atherosclerotic cerebrovascular disease*. Journal of Korean Neurosurgical Society 2011, 50, pp. 40-44.
- [46] Pena A., Collet J. P., Hulot J. S., Silvain J., Barthélémy O., Beygui F., Funck- Brentano C., Montalescot G.: *Can we override clopidogrel resistance?* Circulation 2009, 119, pp. 2854-2857.

- [47] Protasiewicz M., Szymkiewicz P., Kuliczkowski W., Mysiak A., Witkiewicz W.: *Nowoczesne leczenie przeciwplatek - szanse i zagrożenia*. Advances in Clinical and Experimental Medicine 2013, 22, 6, pp. 875-885.
- [48] Komosa A., Siniawski A., Lesiak M., Grajek S.: *Problemy współczesnej terapii przeciwplatekowej*. Postępy Kardiologii Interwencyjnej 2010, 6, 1 (19), s. 21-29.
- [49] Born G. V. R.: *Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal*. Nature 1962, 194, pp. 927-929.
- [50] Steinhubl S. R.: The Verify Now System. W: Michelson A. D. (edit.). *Platelets. 2nd ed.* Burlington M.A., Elsevier 2007, pp. 509-518.
- [51] Francis J. L.: *The platelet function analyzer (PFA)-100*. [in:] Michelson A. D. (edit.). *Platelets. 2nd ed.* Burlington M. A., Elsevier 2007, pp. 519-534.
- [52] Cattaneo M.: *Resistance to antiplatelet drugs: molecular mechanisms and laboratory detection*. Journal of Thrombosis and Haemostasis 2007, 5, pp. 230-237.
- [53] Loken M. R.: *Immunofluorescence techniques in flow cytometry and sorting. 2nd ed.* Wiley, 1990, pp. 341-353.
- [54] Duszyńska M., Jamrozek-Jedlińska M.: *Ocena oporności na skojarzone leczenie przeciwplatekowe u chorych troponinododatnim ostrym zespołem wieńcowym leczonych inwazyjnie*, Poznań, 2013, (rozprawa doktorska).
- [55] Postuła M., Kapłon-Cieślicka A., Rosiak M., Filipiak K.: *Nieprawidłowa odpowiedź na kwas acetylosalicylowy - definicje i zasady postępowania w świetle poznanych czynników ryzyka*. Kardiologia Eksperymentalna 2008, s. 326-331.