KORELACIJA BIOHEMIJSKIH I ANTROPOMETRIJSKIH PARAMETARA SA ODGOVOROM NA KLOPIDOGREL KOD BOLESNIKA LEČENIH PERKUTANIM KORONARNIM INTERVENCIJAMA

Ivana Antović¹, Stefan Mihajlović¹, Nebojša Antonijević²

¹ Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

² Mentor: Klinika za kardiologiju, Klinički centar Srbije, Urgentni centar

Sažetak

Uvod: Klopido­grel u kombinaciji sa acetyl-salicilnom kiselinom predstavlja u našim uslovima standardnu terapiju za prevenciju tromboza posle revascularizacije perkutanom koronarnom intervencijom. Značajan procenat bolesnika zbog određenih kliničkih, citoloških i genetskih faktora ima slab odgovor na terapiju klopido­grelom.

Cilj rada: Ustanoviti korelaciju odgovora na klopido­grel kod bolesnika lečenih perkutanim koronarnim intervencijama sa antropometrijskim i biohemijskim karakteristikama bolesnika, faktorima rizika i pridruženim bolestima.

Materijal i metode: Ispitivanje je vršeno u grupi od 68 bolesnika sa koronarnom bolešću kojima je pored kliničkog ispitivanja rađena krvna slika, biohemijske analize i impedantna *multiplate* agregometrija. Kao statističke metode koristili smo Studentov t-test, Hi-kvadrat test i Špirmanov test korelacije.

Rezultati: Statistički značajno slabiji odgovor na klopido­grel registrovan je u grupi bolesnika sa višim vrednostima fibrinogena i višim brojem trombocita ($p < 0.05$). Statističkim ispitivanjem nije utvrđena međusobna povezanost odgovora na terapiju klopido­grelom i sledećih parametara – godine, pol, BMI, stepen bubrežne funkcije, MPV, PDW, prisustvo *diabetes mellitus*-a i navika pušenja cigareta.

Zaključak: Bolesnicima lečenim perkutanim koronarnim intervencijama koji imaju viši broj trombocita i veću koncentraciju fibrinogena trebalo bi umesto standardnih doza klopido­gre­la razmotriti primenu duplo većih doza klopido­gre­la ili primeniti nove potentnije antitrombocitne ADP blokatore kao što su ticagrelor i prasugrel, radi sprečavanja nastanka tromboze stenta i nastanka neželjenih kardioloških događaja.

Ključne reči: klopido­grel, trombociti, agregometrija, perkutana intervencija, koronarna bolest

Abstract

Introduction: Clopidogrel in combination with acetylsalicylic acid in our conditions is standard double antiplatelet therapy for prevention of thrombosis after revascularization with percutaneous coronary intervention. Significantly higher percentage of patients has low response to clopidogrel because of clinical, cytological and genetic factors.

The aim: The aim of the study was to establish correlation between response to clopidogrel in patients treated with percutaneous coronary interventions and anthropometric and biochemical characteristics of patients, risk factors and comorbid diseases.

Material and Methods: Study was performed on a group of 68 patients with coronary disease, consisting of blood test, biochemical analysis and impedance multiplate aggregometry. As statistical methods, we used Student's T – test, Chi – square test and Spearman's rank correlation coefficient.

Results: Statistically significant lower response to clopidogrel was found in the group of patients who have higher values of fibrinogen and platelet count ($p < 0.05$). There is no correlation found between response to clopidogrel and next parameters – ages, sex, BMI, kidney dysfunction, MPV, PDW, diabetes mellitus and smoking.

Conclusion: Patients who were treated with percutaneous coronary interventions and have higher platelets count and higher concentration of fibrinogen should be reevaluated and instead of standard doses of clopidogrel consider using double doses of clopidogrel or new, more potent antiplatelet ADP blockers, like ticagrelor and prasugrel.

Key words: clopidogrel, thrombocytes, aggregometry, percutaneous intervention, coronary disease

Uvod

Trombociti su bezjedarne ćelije u cirkulaciji koje funkcionišu kao nosioci hemostaze u fiziološkim uslovima, a smatraju se jednim od osnovnih faktora u patogenezi arterijske tromboze [1]. Normalan broj trombocita se kreće između $150 \times 10^9/L$ i $450 \times 10^9/L$ [2]. Paralelno sa brojem trombocita od izuzetne je važnosti njihova adekvatna funkcija.

Virhovljeva trijada (lezija endotela, usporen tok krvi, hiperkoagulabilna krv) definiše mehanizme koji su u osnovi tromboze [3]. Pored abnormalnosti endotelnih ćelija, hiperfunkcija trombocita, aktivacija trombocita i adhezija su kritični za razvoj tromboze, posebno kod bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom – miokardnim infarktom i nestabilnom anginom [3]. Zbog toga je adekvatna antitrombocitna terapija neophodna u lečenju bolesnika sa arterijskim trombozama [4].

Acetil–alicilna kiselina je dugo predstavljala osnovu lečenja infarkta miokarda i angine pectoris. Njen mehanizam dejstva zasniva se na ireverzibilnoj inhibiciji ciklooksigenaze (COX). Međutim, acetil–salicilna kiselina je samo delimično inhibitor trombocitne stimulacije. Antitrombocitni lekovi iz grupe ADP (adenozin difosfat) blokatora, u koje spada klopidogetrel, tikagrelor, prasugrel koriste se u kombinaciji sa acetil–salicilnom kiselinom za blokiranje tromboza posle revaskularizacije perkutanom koronarnom intervencijom. Njihov mehanizam dejstva zasniva se na inhibiciji vezivanja ADP za njegov receptor P2Y₁₂ na trombocitima [3]. Uzroci slabog odgovora na klopidogetrel mogu biti klinički faktori (slaba komplijansa, niska doza leka, loša apsorpcija leka, interakcija lekova preko CYP3A4 (citohrom P450), akutni koronarni sindrom, *diabetes mellitus*/rezistencija na insulin, povišen BMI), ćelularni faktori (smanjena metabolička aktivnost CYP3A4, povećana ADP ekspozicija, ushodna regulacija P2Y₁₂ puta, ushodna regulacija P2Y₁ puta, ushodna regulacija P2Y zavisnih puteva) i genetski faktori (polimorfizam CYP, GPIa, P2Y, GPIIIa) [5].

Koronarna bolest je jedan od najčešćih uzroka morbiditeta i mortaliteta u svetu i kod nas. Duže trajanje hipertenzije, hiperlipidemije i *diabetes mellitus*–a, prekomerna telesna masa, navika pušenja većeg broja cigareta duži niz godina i lošiji stepen bubrežne funkcije pojedinačno ili grupno vode ka mogućnosti lošije funkcije trombocita i/ili njihovim izmenjenim karakteristikama (broj trombocita, MPV – *Mean Platelet Volume*, PDW – *Platelet Distribution Width*).

Cilj ovog rada bio je da se ustanovi korelacija odgovora na klopidogetrel kod bolesnika koji su primali dvojni antitrombocitnu terapiju acetil–salicilnom kiselinom (100 mg) i klopidogetrelom u standardnoj dozi od 75 mg, i koji su lečeni perkutanom koronarnom intervencijama, sa

antropometrijskim karakteristikama bolesnika, faktori rizika za koronarnu bolest, prisustvom bubrežne disfunkcije i prisustvom dijabetesa. Potrebno je utvrditi da li bolesnici sa većim brojem trombocita, većim MPV, većim PDW, sa BMI >30, pušačkim statusom, sa smanjenom funkcijom bubrega (eGFR < 60 mL/min) [6] i *diabetes mellitus* – om imaju manji stepen inhibicije trombocita klopidogetrelom.

Materijal i metode

U prospektivnoj studiji ispitivali smo 68 bolesnika sa koronarnom bolešću koji su lečeni dvojni antitrombocitnom terapijom acetil–salicilnom kiselinom i klopidogetrelom. Bolesnici su uzimali acetil–salicilnu kiselinu (100 mg dnevno) i klopidogetrel (75 mg dnevno). Istraživanjem je obuhvaćen period od 1. novembra 2014. godine do 30. januara 2015. godine.

Od 68 bolesnika, 53 su osobe muškog pola (77,9%) i 15 osoba ženskog pola (22,1%). Starosna dob bolesnika obuhvaćenih ovim istraživanjem je od 31 do 87 godina, prosečno 63 ± 10 godina.

Agregometrijske analize rađene su na impedantnom agregometru multiplate (Multiplate analyzer, Munich, Germany). ADPhs testom se procenjuje stepen inhibicije trombocita klopidogetrelom [7].

Odgovor na terapiju ADP inhibitorom klopidogetrelom ispitivan je na osnovu apsolutne vrednosti AUC ADPhs testa. Insuficijentan odgovor na terapiju klopidogetrelom definisan je vrednostima ADPhs > 467 [8].

Analiza parametara krvne slike rađena je na hematološkom brojaču Siemens Advia 2120i. Analize biohemijskih parametara rađene su standardnim biohemijskim testovima – fibrinogen metodom koagulometrije na aparatu BCS XP Siemens, a kreatinin metodom spektrofotometrije, na aparatu Cobas 6000, Roche.

Cockcroft – Gault formula služila je za izračunavanje stepena bubrežne disfunkcije. Formula glasi: $Ccr = (140 - \text{broj godina}) \times (\text{telesna težina u kg}) / 72 \times Cr$, pri čemu je Ccr klirens kreatinina koji služi za procenu glomerularne filtracije, a Cr serumski kreatinin [9].

Statističke analize rađene su statističkim programom SPSS, sa korišćenjem metoda deskriptivne statistike (aritmetička sredina, interval varijacije, standardna devijacija) i analitičke statistike (Studentov T – test, Hi – kvadrat test, test Spirmanove korelacije) [10].

Rezultati

U ispitivanoj grupi bolesnika pratili smo antropometrijske, biohemijske i kliničke pokazatelje. Jedan od antropometrijskih pokazatelja bio je BMI (*body mass index* ili indeks telesne mase), koji se u ovoj grupi bo-

lesnika kretao od 22,21 do 54,35, prosečno 27,94, a na osnovu njega, zastupljenost gojaznosti ($BMI > 30$) u ispitivanoj grupi je 17,64%. Od 68 ispitivanih bolesnika akutni infarkt miokarda je imalo 35 bolesnika (51,47%), a 33 bolesnika je lečeno od angine pectoris (48,53%).

Pojava diabetes mellitus-a kao čestog komorbiditeta u koronarnoj bolesti uslovlila je njegovo uključivanje u istraživanje. Od 68 bolesnika *diabetes mellitus* tip II ima 29 bolesnika (42,67%), *diabetes mellitus* tip I ima 1 bolesnik (1,44%). Od 68 bolesnika, njih 17 su pušači (25%), a 24 su bivši pušači (35,3%). Intenzitet pušenja određivali smo parametrom paklo-godine koji je kod pušača iznosio 351, a među bivšim pušačima 460. Hipertenzija i hiperlipoproteinemija se mogu tumačiti i u okviru faktora rizika i u okviru komorbiditeta u koronarnoj bolesti. U ovoj ispitivanoj grupi njih 53 ima hipertenziju (77,9%), a 30 hiperlipoproteinemiju (44,1%).

Kao laboratorijski parametri ispitivani u ovom radu analizirani su nivo kreatinina u krvi i stepen glomerularne filtracije (eGFR) kao indikatori stepena renalne disfunkcije, zatim fibrinogen, broj trombocita, trombocitni parametri MPV (*mean platelet volume*) i PDW (*platelet distribution width*)

Svi bolesnici podeljeni su u dve grupe prema odgovoru na klopido-grel (dobar i loš odgovor), prema vrednostima ADPhs testa. Dobijeni rezultati pokazuju 39,7% slučajeva sa dobrim odgovorom, a 60,3% sa lošim.

Bolesnici koji su dobro odgovorili na terapiju klopido-grelom bili su statistički neznačajno mlađi od bolesnika sa lošim odgovorom. Bolesnici koji su dobro odgovorili na terapiju standardnim dozama klopido-grela imali su statistički značajno ($p = 0,018$) niži broj trombocita u odnosu na bolesnike sa lošim odgovorom na klopido-grel. Bolesnici sa dobrim odgovorom na klopido-grel imali su statistički značajno ($p = 0,027$) niže vrednosti fibrinogena. Takođe, bolesnici kojima je prethodno urađena neka od perkutanih koronarnih intervencija imali su statistički značajno bolji odgovor na ovu terapiju ($p = 0,025$).

Korišćenjem testa Spirmanove korelacije utvrđeno je da postoji statistički značajna negativna povezanost između dobrog odgovora na klopido-grel i broja trombocita ($r = -0,266$; $p = 0,029$). Korišćenjem istog metoda utvrđena je statistički značajna negativna povezanost između vrednosti fibrinogena i pozitivnog odgovora na klopido-grel ($r = -0,462$; $p = 0,007$).

Grafikon 1. Linearna korelacija broja trombocita i vrednosti ADPhs testa

Grafikon 2. Linearna korelacija broja koncentracije fibrinogena i vrednosti ADPhs testa

Ovim metodom upoređivali smo i povezanost ADPhs vrednosti sa polom, indeksom telesne mase (BMI), postojanjem šećerne bolesti, pušenjem, MPV i PDW vrednostima i prisustvom bubrežne insuficijencije

(definisane kao eGFR < 60 ml/min). Za navedene parametre nisu dobijene statistički značajne vrednosti (**Tabela 1**).

Tabela 1. Karakteristike ispitivane populacije u zavisnosti od odgovora na klopidoogrel

Varijabla	Odgovor na klopidoogrel		p
	Dobar n = 27	Loš n = 41	
Starost, godine	60,81 ± 8,78	65,00 ± 9,22	0,066
Ženski pol, %	11,1	29,3	0,077
BMI, indeks (kg/m ²)	28,25 ± 6,07	27,74 ± 3,45	0,661
Hipertenzija, %	77,8	78,0	0,979
Hiperlipidemija, %	37,0	48,8	0,340
Diabetes mellitus, %	40,7	46,3	0,649
Navika pušenja cigareta, %	59,3	61,0	0,887
Prethodna PCI (stent), %	70,4	42,5	0,025
Prethodna POBA, %	11,1	7,3	0,589
Prethodni CABG, %	14,8	7,3	0,319
Bubrežna insuficijencija, %	25,9	34,1	0,473
Trombociti (x10 ⁹ /L)	205,52 ± 47,44	253,61 ± 95,40	0,018
MPV	8,52 ± 1,43	8,62 ± 1,15	0,788
PDW	52,63 ± 8,18	53,63 ± 6,65	0,557
Fibrinogen (g/L)	3,41 ± 1,24	4,76 ± 1,65	0,027

Diskusija

Slab stepen inhibicije trombocitne funkcije na terapiju standardnim dozama klopidoogrela od 75 mg se zavisno od studije beleži od 5% do 44% slučajeva [5]. U našem ispitivanju 60.3% bolesnika ima loš odgovor na klopidoogrel, odnosno vrednost ADPhs > 467 determinisanu impedantnom agregometrijom [8]. Moguće je da ovako visokom procentu bolesnika sa lošim odgovorom na klopidoogrel doprinosi i visok procenat dijabetičara u našoj grupi bolesnika (44,1%), visok procenat pušača (25%) i bivših pušača (35.3%), visok procenat bolesnika sa renalnom disfunkcijom (29,4%), hipertenzijom (77,9%), relativno visoka starosna dob bolesnika (prosečno 63 godine) i visok BMI (17,64% gojaznih). Poznato je

da pušenje uzrokuje povećanu agregaciju trombocita, kao i da su trombociti aktivniji u bolesnika sa renalnom insuficijencijom i hipertenzijom. Veliku varijabilnost procenta osoba sa slabim odgovorom na klopidoogrel u ranijim studijama objavljenim u literaturi moguće je objasniti i različitim agregometrijskim metodama kojima je procenjivan stepen inhibicije trombocitne funkcije [11].

Bolji odgovor na klopidoogrel nalazi se kod nižih vrednosti, dok je slabiji odgovor na klopidoogrel zabeležen u onih sa višim brojem trombocita. Lošiji odgovor na klopidoogrel povezan je sa povećanim vrednostima fibrinogena u serumu. Postojanje prethodno urađene neke od perkutanih koronarnih intervencija povezano je sa boljim odgovorom na klopidoogrel.

Kod bolesnika s *diabetes mellitus* – omtip II nije utvrđena korelacija te bolesti sa lošijim odgovorom na klopido-grel, što je suprotno od pojedinih literaturnih podataka [12]. Takođe, nije utvrđena povezanost odgovora na klo-pidogrel sa lošijom bubrežnom funkcijom, navikom pu-šenja cigareta, postojanjem hipertenzije i hiperlipidemije. Povezanost više vrednosti BMI i lošijeg odgovora na klo-pidogrel nije utvrđena, čime smo dobili rezultat sličan onom iz literaturnih podataka [13]. Vrednosti parametara trombocitne loze (MPV, PDW) u našem ispitivanju nisu pokazale predikciju odgovora na terapiju klopido-grelom, što je suprotno od rezultata studija u kojima su praćeni ovi parametri, kod kojih su povišene vrednosti MPV pronađene kod slabih respondera [14]. Smatra se da su trombociti većeg promera i sa višim MPV i PDW aktivniji, pa da su im za inhibiciju potrebne više doze antitrombocitnih lekova ili primena antitrombocitnih lekova novijih generacija sa višim procentom inhibicije trombocitne funkcije [15]. Moguće je da bi se povećanjem broja ispitanika registrovala povezanost nekog od navedenih uzročnika i slabog odgovora na klopido-grel.

Kod bolesnika rezistentnih na klopido-grel moguće je pokušati zamenu potentnijim blokatorima ADP receptora, npr. tikagrelorom ili prasugrelom, s obzirom na to da su studije pokazale viši stepen inhibicije agregacije trombocita tikagrelorom i prasugrelom u odnosu na klopido-grel [16]. Pre pojave tikagrelora kod bolesnika sa lošim odgovorom na terapiju klopido-grelom u standardnoj dozi od 75 mg pokušavano je da se terapijski odgovor poboljša dupliranjem doze klopido-grela na 150 mg, davanjem dodatnih bolus doza klopido-grela ili primenom tiklopidina [17].

Protektivni faktori u smislu boljeg odgovora na terapiju klopido-grelom su niži broj trombocita i niža koncentracija fibrinogena u serumu. Imajući u vidu potrebu za daljim istraživanjima ovog problema i literaturne podatke, bilo bi potrebno u dodatno ispitivanje uvrstiti i rezultate ehokardiografije, da bi se odredila i ejekciona frakcija, jer je poznato da je niska ejekciona frakcija leve komore srca takođe predikativna za slab odgovor na terapiju klopido-grelom. Takođe, trebalo bi i detaljno razmotriti ostalu terapiju koju bolesnici uzimaju i eventualno je korigovati, zbog interakcija lekova i njihovog uticaja na odgovor na klopido-grel. Primera radi, pojedini inhibitori protonske pumpe (na primer, omeprazol) utiču na sniženje dejstva klopido-grela, dok za pojedine to nije sa sigurnošću utvrđeno (pantoprazol) [18].

Poznato je da kod bolesnika sa lošim odgovorom na klopido-grel češće dolazi do tromboze stenta [19], koja može dovesti do infarkta miokarda i potencijalno fatalnog ishoda. Zbog toga je za kliničku praksu važno da se ti bolesnici na vreme identifikuju. Naši rezultati ukazuju da bolesnici sa većim brojem trombocita i višim vred-

nostima fibrinogena imaju lošiji odgovor na klopido-grel, dobijen impedantnom *multiplate* agregometrijom.

Imajući u vidu mali broj ispitivanih bolesnika i dobijene analize, smatramo da bi radi dobijanja pouzdanijih rezultata ispitivanje trebalo nastaviti na većoj grupi bolesnika, uz uključivanje ostalih, prethodno navedenih potencijalnih prediktora terapijskog odgovora na klopido-grel. Buduće istraživanje imalo bi još veći značaj ukoliko bi se radilo i kliničko praćenje narednih šest meseci do godinu dana.

Reference

1. Weitz J. Hemostasis and Thrombosis. In: Hoffman R. et al. Hematology – Basic Principles and Practice. Elsevier Health Sciences, 2012, p. 2052–2055.
2. Handin RI. Krvarenje i tromboza. U: Harrison L – Principi interne medicine, Prvo hrvatsko izdanje. Split: Placebo d.o.o. 2000, p. 278.
3. Rinder H. Poremećaji hemostaze: tromboza. U: Andreoli TE. Cecil – Suštinsko u medicini. Beograd: Evro Giunti 2008, p. 505–513.
4. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. BMJ. 2002; 324: 71–86.
5. Angiolillo DJ et al. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management and future perspectives. J Am Coll Cardiol. 2007; 49: 1505–1516.
6. Kim HY, Oak CY, Kim MJ, Kim CS, Choi JS, Bae EH et al. Prevalence and associations for abnormal bleeding times in patients with renal insufficiency. Platelets. 2013; 24: 213–8.
7. Sanchez LC, Lopez – Palop R, Cano P, Carrillo P, Pico F, Villegas M et al. Assessment of Assessment of high on-treatment platelet reactivity in patients with ischemic heart disease: concordance between the Multiplate and VerifyNow assays. J Thromb Haemost. 2013; 11: 379–81.
8. Krishna V, Diamond GA, Kaul S. The Role of Platelet Reactivity and Genotype Testing in the Prevention of Atherothrombotic Cardiovascular Events Remains Unproven. Circulation. 2012; 125: 1288–1303.
9. Alam MG, Shah SV. Pristup bolesniku sa bolešću bubrega. U: Andreoli TE. Cecil – Suštinsko u medicini. Beograd: Evro Giunti 2008, p. 238.
10. Janošević S, Dotlić R, Erić – Marinković J. Medicinska statistika. Beograd: Medicinski fakultet, 2008.
11. Slavik L, Ulehlova J, Krcova V, Hlusi A, Indrakova J, Hutyra M. et al. Detection of clopidogrel resistance using ADP induced aggregometry with specific inhibitor PGE1. Clin Lab. 2014; 60: 1475–80.
12. Ferguson DA, Dokainish H, Lakkis N. Aspirin and Clopidogrel Response Variability. Tex Heart Inst J. 2008; 35: 313–320.
13. Gaglia MA, Torguson R, Pakala R, Xue Z, Sardi G, Mahmoudi M. et al. Relation of Body Mass Index to On-Treatment (Clopidogrel + Aspirin) Platelet Reactivity. J Am Coll Cardiol. 2011; 108: 766–771.

14. Asher E, Fefer P, Shechter M, Beigel R, Varon D, Shenkman B. et al. Increased mean platelet volume is associated with non – responsiveness to clopidogrel. *Thromb Haemost.* 2014; 112: 1–221
15. Kim YG, Suh JW, Yoon CH, Oh IY, Cho YS, Youn TJ. Et al. Platelet volume indices are associated with high residual platelet reactivity after antiplatelet therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *J Atheroscler Thromb.* 2014; 21: 445–53
16. Jeong KH, Cho JH, Woo JS, Kim JB, Kim WS, Lee TW et al. Platelet Reactivity After Receiving Clopidogrel Compared With Ticagrelor in Patients With Kidney Failure Treated With Hemodialysis: A Randomized Crossover Study. *Am J Kidney Dis.* 2015.
17. Rajendran S, Parikh D, Shugman I, French JK, Juergens CP. High on treatment platelet reactivity and stent thrombosis. *Heart Lung Circ.* 2011; 20: 525–31
18. Angiolillo DJ, Gibson CM, Cheng S, Ollier C, Nicolas O, Bergougnan L et al. Differential Effects of Omeprazole and Pantoprazole on the Pharmacodynamics and Pharmacokinetics of Clopidogrel in Healthy Subjects: Randomized, Placebo-Controlled, Crossover Comparison Studies. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;89: 65–74
19. Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, Shechter M, Beinart, R, Goldenberg I. et al. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation.* 2004; 25: 3171–3175