

Kardiyovasküler Hastalarda Antitrombotik Tedaviye Yanıtın Optik Agregometre ve PFA-100 ile İncelenmesi

Engin SAĞDİLEK*, Bülent ÖZDEMİR**, Kasım ÖZLÜK*, Jale CORDAN**

* Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

** Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Bursa.

ÖZET

Kardiyovasküler hastalarda antitrombotik ilaçların vasküler olayları azalttığı, bazı hastalarda ise antitrombotik tedaviye rağmen vasküler olay yaşayan hastaların olduğu bilinmektedir. Çalışmamızda, aspirin ve klopidogrel'in trombositler üzerindeki etkileri değerlendirilmiş ve antitrombotik ilaç direncinin sıklığı araştırılmıştır. Antitrombotik tedavi gören 72 kardiyovasküler hasta ve 22 gönüllü değerlendirildi. Agregometrede ADP, kollajen ve epinefrine karşı % maksimum agregasyon cevapları ve maksimum agregasyona ulaşma süreleri ve PFA-100 ile Kollajen/Epinefrin ve Kollajen/ADP kartuşlarında kapanma zamanları saptandı. Antitrombotik tedaviye rağmen trombosit fonksiyonları kontrol grubu sınırları içinde olan hastalar aspirine veya klopidogrel'e dirençli kabul edildi. Agregometre ile ölçülen maksimum agregasyon yanıtlarında aspirinin özellikle epinefrin ve kollajene karşı, klopidogrel'in ise esas olarak ADP'ye karşı olan agregasyonu azalttığı gözlemlendi. Kombine ilaç grubunda en düşük maksimum agregasyon yanıtları alındı. PFA-100'de aspirin kullanımı yalnızca Kollajen/Epinefrin kartuşu kapanma zamanını uzattı. Aspirin direnci 12/37, klopidogrel direnci 1/17 sıklığında bulundu. PFA-100 ve agregometre arasında ilaç direncinin saptanmasına dair bir ilişki bulunamadı. Antitrombotik ilaçların trombositler üzerinde farklı etkilere sahip oldukları ve trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan yöntemlerin birbirleriyle ilişkili olmadığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Trombosit. Aspirin. Klopidogrel. Agregometre. PFA-100.

Assessment of the Response to Antiplatelet Treatment in Cardiovascular Patients With the Optical Aggregometer and PFA-100

ABSTRACT

Many studies have shown that antiplatelet drugs decrease vascular events while some patients experience vascular events despite the antiplatelet treatment. We evaluated the effects of aspirin and clopidogrel on platelet functions and investigated the incidence of antiplatelet drug resistance. The study group consisted of 72 cardiovascular patients using antiplatelet drugs and 22 volunteers. The % maximum aggregation and time to reach maximum aggregation against ADP, collagen and epinephrine were determined. Collagen/Epinephrine and Collagen/ADP cartridges closure times were recorded. Those with platelet functions within the control group limits despite antiplatelet treatment were considered to be resistant to drugs. Aspirin decreased the aggregation response especially against epinephrine and collagen while clopidogrel mainly decreased the aggregation response against ADP. The combined drug group had the lowest maximum aggregation responses. PFA-100 showed that aspirin increased only Collagen/Epinephrine cartridge's closure times. The incidence of aspirin resistance was 12/37 and clopidogrel resistance was 1/17. We found no association between the PFA-100 and the aggregometer in determining drug resistance. We observed that antiplatelet drugs had various effects on platelets and that the methods used to assess platelet functions did not show correlation with each other.

Key Words: Platelet. Aspirin. Clopidogrel. Aggregometer. PFA-100.

Geliş Tarihi: 24.04.2009
Kabul Tarihi: 15.02.2010

* Çalışmamız, XX. Ulusal Kardiyoloji Kongresi'nde (27-30 Kasım 2004, Antalya) sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

Dr. Engin SAĞDİLEK
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı
16059 Görükle / BURSA
Tel: 0 224 2954001
Fax: 0 224 2954014
E-mail: esagdilek@hotmail.com

Ciddi vasküler olayların (non-fatal miyokard infarktüsü, non-fatal inme ve vasküler ölüm) patofizyolojisinde, aterosklerotik zeminde gelişen arteriyel trombüslerin olduğu ve arteriyel trombüs oluşumunda da trombositlerin önemli bir role sahip olduğu uzun zamandır bilinmektedir¹. Kardiyovasküler hastalıklarda primer ve sekonder koruma amacıyla uygulanan antitrombotik tedavinin, vasküler olayları anlamlı bir şekilde azalttığı birçok klinik çalışma ile gösterilmiştir².

Trombositler hemostazda ve trombozda merkezi role sahip kan hücreleridir. Vasküler endotelin hasarı ile ortaya çıkan subendotelial doku ve von Willebrand Faktör, trombositlerin hasar bölgesine toplanmasını sağlar. Kollajen, ADP, epinefrin, trombin, tromboksan A₂ (TxA₂), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve serotonin gibi uyarıcı ajanların etkisiyle şekil değiştiren ve granül içerikleri ile sentezledikleri TxA₂ ve PAF gibi maddeleri salgılayan trombositler agregatlar oluştururlar¹. Uyarıcı ajanların trombositler üzerindeki reseptörleri, çoğunlukla G protein bağlantılı reseptör ailesindedir. Reseptörlerin özgüllüğüne bağlı olarak G proteinlerin farklı alt tipleri uyarılır ve farklı hücre içi yolaklar üzerinden trombosit aktive olur^{1,3}.

Trombosit aktivasyonu farklı uyarıcı ajanlar, farklı reseptörler ve farklı hücre içi yolaklar üzerinden çok yönlü olmasına rağmen, klinikte en çok kullanılan antitrombotik ilaç olan aspirin, yalnızca TxA₂ sentezini bloke eder. Diğer bir antitrombotik ilaç grubu olan tienopiridinler (tiklopidin ve klopidogrel) ADP reseptörlerinden (P_{2Y1} ve P_{2Y12}) yalnızca birinin (P_{2Y12}) antagonistidirler^{4,5}. Antitrombotik ilaçların hücre düzeyinde oldukça spesifik etkilerine rağmen klinik yararları tartışılmaz. Antithrombotic Trialists' Collaboration, son çalışmada, tıkaçıcı vasküler olay sıklığının arttığı hastalıklarda antitrombotik tedavi ile ciddi vasküler olay sıklığının % 25 azaldığını ortaya koymuştur². İki farklı antitrombotik ilacın birlikte kullanılmasının da, farklı aktivasyon mekanizmalarını bloke ederek sinerjistik etkileşim gösterdiği bilinmektedir⁶⁻⁸.

Son zamanda yapılan birçok çalışmada antitrombotik tedaviye yanıtın tüm hastalarda benzer olmadığı, uygun tedavi dozlarında kullanılmalarına rağmen trombotik veya embolik vasküler olay yaşayan hastaların olduğu bildirilmektedir. Gerek klinik olarak, gerekse trombositlerin değerlendirildiği laboratuvar yöntemleriyle ortaya konan bu durum aspirin direnci veya klopidogrel direnci olarak tanımlanmaktadır⁹⁻¹⁴. Laboratuvar yöntemleriyle aspirin veya klopidogrel direnci saptanan hastaların uzun dönem takipleri sonucunda da, ilaç direncinin artmış vasküler olay sıklığı ile ilişkili olduğu da gösterilmiştir¹⁵⁻¹⁷. Alternatif antitrombotik ilaçların varlığı ve kombine ilaç kullanımının sinerjistik etkileşimi nedeniyle teoride önenebilir bir durum gibi düşünülebilecek antitrombotik ilaç direncinin laboratuvar yöntemleriyle net olarak tanımlanabilmesi önemli konulardan biridir.

Bizim bu çalışmadaki amacımız; kardiyovasküler hastalarda aspirin ve klopidogrel trombotik üzerindeki etkilerini optik agregometre ve PFA-100 ile değerlendirmek, her iki yöntemin trombosit fonksiyonlarını saptamadaki etkinliğini karşılaştırmak ve aspirin ile klopidogrel direncinin sıklığını araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Denekler

Çalışmamız 30–76 yaş arası 72 kardiyovasküler hasta ile 40–76 yaş arası 22 gönüllü üzerinde yapıldı. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Polikliniği'ne başvuran stabil kardiyovasküler hastalardan antitrombotik tedavi alanlar ve kontrol grubu gönüllüleri bilgilendirildikten sonra rızaları alınarak çalışmamıza dahil edildi. Çalışmamız "Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu" protokollerine uygun olarak yürütüldü. Her hasta ile birebir görüşülerek hastalığı ve kullandığı ilaçlara dair iyi bir anamnez alındı ve antitrombotik ilacını düzenli kullanıp kullanmadığı özellikle sorgulandı. Kişisel ve aile hikâyesinde herhangi bir kanamalı durum veya hastalığı olanlar, son bir ay içinde cerrahi girişim geçirenler, oral antikoagülan kullananlar, son 10 gün içinde trombositleri etkileyebilecek ilaç alanlar (ağrı kesici amaçla alınan aspirin, nonsteroid antiinflatuar ilaçlar, vb), akut enfeksiyonu olanlar ve sigara içenler çalışmamıza dâhil edilmedi.

1- Kontrol grubu

Kontrol grubumuzu oluşturan 22 kişiden 10'u sağlık problemi bulunmayan ve ilaç kullanmayan gönüllülerken, 12'si hipertansiyon, hiperlipidemi veya aritmi gibi kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle ilaç tedavisi gören, hastalıkları stabil seyreden ve antitrombotik ilaç kullanmayan gönüllülerdi.

2- Aspirin grubu

En az 6 aydan beri düzenli olarak günlük 100 mg aspirin alan 28 hasta ile kardiyovasküler hastalık riski yüksek olup primer koruma amacıyla yine en az 6 aydan beri düzenli olarak günlük 100 mg aspirin alan 9 gönüllüden oluşturuldu.

3- Klopidogrel grubu

En az 6 aydan beri düzenli olarak günlük 75 mg klopidogrel alan 17 hastadan oluşturuldu. Bu hastaların özgeçmişinde aspirin veya nonsteroid antiinflatuar ilaç sonrası geçirilmiş dispeptik şikâyetler veya gastrointestinal sistem kanaması veya aspirine karşı alerjik reaksiyon (ürtiker, kaşıntı vb) hikâyesi bulunmakta idi.

4- Aspirin + Klopidogrel grubu

Düzenli olarak günlük 100 mg aspirin ve 75 mg klopidogrel alan 10 hastadan oluşturuldu. Bu hastaların özgeçmişinde koroner by-pass cerrahisi veya perkütan translüminal koroner anjioplasti (balon/stent) hikâyesi vardı. En az bir ay önce yapılmış girişim sonrası kombine antitrombotik tedaviye devam ediliyordu.

5- Aspirin yeni başlananlar grubu

Daha önceden antitrombotik tedavi görmeyen, kardiyoloji polikliniği tarafından antitrombotik tedavi

Antitrombotik Tedavide Agregometre ve PFA-100 İncelemesi

başlanması uygun görülen ve günlük 100 mg aspirin başlanan 8 hastadan oluşturuldu. Bu hastalar aspirin tedavisine başlamadan önce ve en az 7 günlük (ortalama 12,5 gün) tedavi sonrası olmak üzere iki kez değerlendirildi.

Grupların kullandığı ilaçlar ve hastalıklarının genel tanıları Tablo-I'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo I- Kontrol ve antitrombotik ilaç gruplarının kullandıkları kardiyovasküler ilaçlar ve hastalıkların genel tanıları.

	Kontrol Grubu	Aspirin Grubu	Klopidogrel Grubu	Aspirin + Klopidogrel Grubu	Aspirin Yeni Başlayanlar Grubu
n	22	37	17	10	8
Kardiyovasküler ilaçlar					
İlaç almayan	10				
Nitrat	1	4	9	6	2
Diüretik		2	1	1	
Bloker	5	10	6	8	5
Antiaritmik	1	2		1	
Kalsiyum kanal blokeri	1	9	3	3	
ACE inhibitörü/reseptör antagonisti	4	13	10	2	2
Antihiperlipidemik	2	17	9	5	2
Genel tanı					
Primer koruma		9			
Koroner Arter Hastalığı					
Hipertansiyon		28	17	10	8
Hiperlipidemi	12				
Aritmi					

Kan Örneklerinin Toplanması

Kontrol ve hasta gruplarımızdan sabah açken, 21 G iğne ile üst kola hafif venöz staz uygulanarak antecubital venden, 0,129 M sodyum sitratlı ve EDTA'lı tüplere sırasıyla 10 ml ve 2,5 ml kan alındı. Sodyum sitratlı kan PFA-100 ve optik agregometre deneylerinde, EDTA'lı kan hemogram tayininde kullanıldı. İlk kan örneği alındıktan sonra 1,5 saat içerisinde deneylere başlandı ve en geç 3 saat içerisinde tüm deneyler tamamlandı.

PFA-100 Sistemi

Primer hemostazı oldukça hızlı ve kolay bir biçimde değerlendiren PFA-100 (Platelet Function Analyzer, DADE-BEHRING) sisteminin tek kullanımlık iki farklı kartuşu vardır (Kollajen/Epinefrin [Kol/Epi], Kollajen/ADP [Kol/ADP] kartuşları). Kılcal bir borudan yüksek kayma hızında emilen antikoagüle tam kan, kollajenle kaplı bir membran üzerindeki 147 µm

çaplı delikten geçer. 2 µg fibriler Tip I kollajen içeren bu membran aynı zamanda Kol/Epi kartuşunda 10 µg epinefrin, Kol/ADP kartuşunda ise 50 µg ADP içerir. Trombositler delikten geçerken kollajene yapışır ve diğer uyarıcı ajanla uyarılmasıyla da aktive olur. Agregasyonun meydana gelmesi ve trombosit tıkaçının oluşmasıyla delik kapanır ve kan akımı kesilir. Kanın emilmeye başladığı andan akımın kesildiği ana kadar olan zamanı ölçen sistem, sonuçları Kapanma Zamanı (KZ) olarak verir. Sağlıklı insanlarda yapılan birçok çalışmada KZ'nin normal sınırları, Kol/Epi kartuşu için 85-165 sn, Kol/ADP kartuşu için 71-118 sn sınırları arasında bulunmuştur^{18,19}.

Optik Agregometre

Optik agregometreler modifiye edilmiş spektrofotometrik aletlerdir. Trombositten zengin plazmanın belirli bir hızda karıştırılırken uyarıcı ajanın eklenip trombositlerin agregatlar oluşturması ile ışık geçirgenliğindeki değişikliğin ölçülmesi prensibi ile çalışırlar²⁰. PFA-100 testleri tamamlandıktan sonra kan örnekleri 150 G'de 10 dk santrifuj edilerek trombositten zengin plazma (PRP: Platelet Rich Plasma), 2000 G'de 15 dk daha santrifuj edilerek trombositten fakir plazma (PPP: Platelet Poor Plasma) elde edildi. PRP'nin trombosit içeriği ADVIA 70 (Hematology System, BAYER) hemogram cihazında değerlendirildi. PRP'nin trombosit sayısının 300.000-400.000/µl olmasına dikkat edildi. 400.000/µl'nin üzerindeki değerler otolog PPP ile seyreltilti. PRP, PPP ve uyarıcı ajanlar agregometrenin kuvvetlerinde 37°C'de inkübe edildi. Agregasyon testleri PACKS-4 (Platelet Aggregation Chromogenic Kinetic System, HELENA LABORATORİES) agregometre cihazında yapıldı.

Uyarıcı ajan olarak ADP, Kol (Helena BioSciences) ve Epi (BİOFARMA İlaç Sanayii Ltd. Şti) kullanıldı. Test son konsantrasyonları ADP 10 µM, Kol 10 µg/ml, Epi 300 µM olarak ayarlandı. Önce 500 µl PPP ile kalibrasyon yapıldı. Sonra içinde karıştırıcı miknatıs parçacığı bulunan (karıştırma hızı 1000 devir/dk) 450 µl PRP'nin üzerine 50 µl uyarıcı ajan eklenerek başlatılan agregasyon süreci 10 dk takip edildi. Deney sonuçları % maksimum agregasyon (% MA) ve maksimum agregasyona ulaşma süresi (MAS) (sn) olarak ifade edildi.

Aspirin - Klopidogrel Direncinin Saptanması

Antitrombotik tedaviye rağmen trombosit fonksiyonları kontrol grubu sınırları içinde olan hastalar antitrombotik ilaca dirençli kabul edildi.

Aspirin grubunda; PFA-100 sisteminde Kol/Epi kartuşu KZ değerleri 163 sn'nin altında olanlar (kontrol grubumuzun en üst değeri 162 sn.), optik agregometrede kontrol grubunun ADP, Kol ve Epi'e karşı maksimum agregasyon değerleri ortalamasının (-) bir standart sapma değerinin üstünde maksimum agregasyon verenler aspirin dirençli olarak tanımlandı.

Klopidogrel grubunda; optik agregometrede kontrol grubunun ADP'ye karşı maksimum agregasyon değeri ortalamasının (-) bir standart sapma değerinin üstünde maksimum agregasyon verenler klopidogrel dirençli olarak tanımlandı.

Kontrol grubu değerleri [Ort ± ss (min-mak)]:	Aspirin / Klopidogrel direnci sınırları:
Kol/Epi KZ (sn): 123,9 ± 21,2 (75-162)	163 sn > Aspirin direnci
ADP % MA: 91,3 ± 5,7 (74,1-96,4)	% 85,6 < Aspirin / Klopidogrel direnci
Kol % MA: 92,4 ± 4,4 (85,1-97,3)	% 88,0 < Aspirin direnci
Epi % MA: 92,1 ± 3,7 (84,1-99,9)	% 88,4 < Aspirin direnci

İstatistiksel Analiz

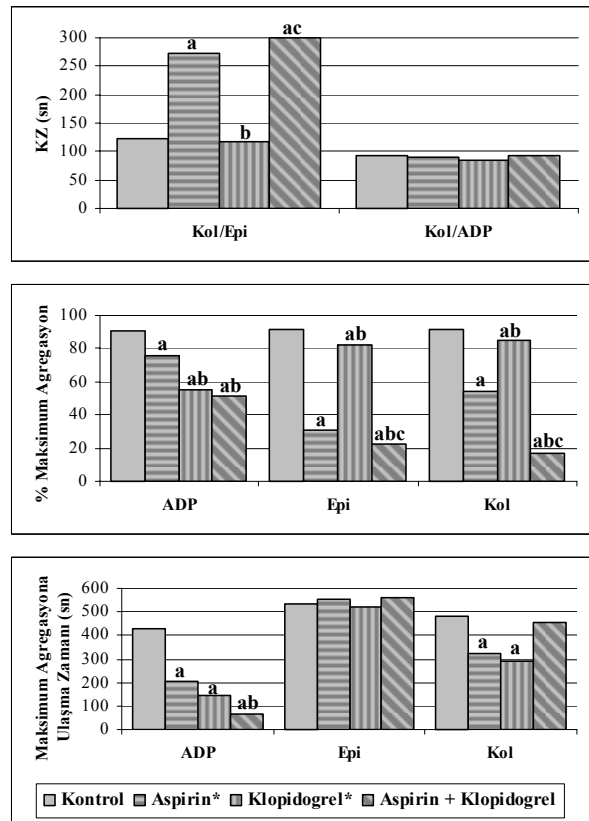
Yaş ve yöntemlere ait parametreler ortalama ± standart sapma (Ort ± ss) ve minimum-maksimum (min-mak) değerler şeklinde gösterildi. Cinsiyet sıklık ve yüzde olarak verildi. Yaş ve yöntemlere ait parametrelerin istatistiksel değerlendirilmesi tek yönlü varyans analizi veya Kruskal-Wallis testi (değişkenler homojen dağılmadığında) ile yapıldı. Anlamli bulunan sonuçlarda gruplar arası karşılaştırma Bonferroni test veya Mann-Whitney U test ile yapıldı. Cinsiyetin karşılaştırılmasında Pearson ki-kare test veya Fisher kesin ki-kare test kullanıldı. Aspirin dirençlilerle duyarlılar arasındaki karşılaştırma t test veya Mann-Whitney U test ile yapıldı. Aspirin yeni başlanan grupta ilk ve ikinci değerlerin karşılaştırılmasında Eşleştirilmiş t test veya Wilcoxon sıra toplamları testi kullanıldı. p değerinin 0,05'ten küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

72 hasta ve 22 kontrol olmak üzere toplam 94 denegın % 57,4'ü erkek ve % 74,4'ü 50 yaş ve üzerindeydi. Kontrol grubu ile hasta grupları arasında ve hasta gruplarının kendi arasında yaş ve cinsiyet ile ilgili olarak istatistiksel bir farklılık bulunmadı. Tüm deneklerin hemogram sonuçları normal sınırlar içindeydi. Belirlenen kriterlere göre aspirin grubunda 12 hastanın (12/37), klopidogrel grubunda bir hastanın (1/17) ilaç direnci gösterdiği saptandı. Antitrombotik tedaviye direnç gösteren bu hastalar gruplarından çıkarılarak karşılaştırmalar yapıldı (Aspirin* grubu [n=25], Klopidogrel* grubu [n=16]).

PFA-100 sisteminde elde edilen sonuçlara göre, Kol/ADP kartuşu KZ değerleri gruplar arası fark göstermezken, Kol/Epi kartuşu KZ değerleri özellikle aspirin kullanımına bağlı olarak anlamlı şekilde yükselmişti. Aspirin* grubundaki 18 hastada (% 72), Aspirin + Klopidogrel grubunun tümünde (% 100) Kol/Epi kartuşu KZ değerleri 300 sn.'nin üzerindeydi.

Optik agregometrede elde edilen sonuçlara göre, ADP'ye karşı agregasyon Aspirin* grubunda azaltılmakla birlikte Klopidogrel* ve Aspirin + Klopidogrel gruplarında azalma daha belirgindi. ADP'ye karşı agregasyonun azalmasına paralel olarak maksimum agregasyona ulaşma süresi de kısalıyordu. Epi ve Kol'e karşı agregasyon, Klopidogrel* grubunda da anlamlı olarak azalsa da Aspirin* ve Aspirin + Klopidogrel gruplarında daha düşük düzeylerdeydi. Epi'e karşı maksimum agregasyona ulaşma süreleri açısından gruplar arası fark bulunmazken, Kol'e karşı maksimum agregasyona ulaşma süreleri Aspirin* ve Klopidogrel* gruplarında kısalmıştı (Şekil-1).



Şekil-1:

Antitrombotik ilaçların PFA-100 ve optik agregometre ile değerlendirilen parametrelere etkisi (KZ: Kapanma zamanı) (a: $p < 0,05$ Kontrol grubuna göre, b: $p < 0,05$ Aspirin* grubuna göre, c: $p < 0,05$ Klopidogrel* grubuna göre).

Aspirin direnci gösteren 12 hastanın saptandıkları parametrelere göre dağılımı incelendiğinde, yedi hastanın tek bir parametreye göre saptandığı, sadece tek bir hastada tüm parametrelerin bulunduğu gözlenmiştir. Parametreler veya yöntemler arası bir ilişki bulunmamıştır.

Aspirine duyarlı olan 25 hasta ile dirençli olan 12 hastanın karşılaştırılması Tablo-II'de verilmiştir. Bu karşılaştırmaya göre aspirin direncinin yaşla ilişkisi olduğu gözlenmektedir.

Antitrombotik Tedavide Agregometre ve PFA-100 İncelemesi

Tablo II- Aspirine dirençli hastalar ile duyarlı hastaların karşılaştırılması (KZ: Kapanma zamanı, % MA: % maksimum agregasyon, MAS: Maksimum Agregasyona ulaşma süresi).

		Aspirin Dirençli (n = 12)	Aspirin Duyarlı (n = 25)	p	
Yaş (yıl)		63,0 ± 5,0	56,1 ± 10,0	p<0,01	
Ort±ss (min-mak)		(53-70)	(30-75)		
Cinsiyet		5/7	7/18	p>0,05	
♀/♂ (%♂)		%58,3	%72,0		
PFA-100	Kol/Epi KZ (sn)	183,5 ± 66,1 (108-301)	273,4 ± 47,2 (172-301)	p<0,001	
	Kol/ADP KZ (sn)	89,3 ± 15,9 (56-118)	88,7 ± 19,2 (56-125)	p>0,05	
Optik Agregometre	% MA	ADP	84,8 ± 9,0 (61,4-95,1)	76,1 ± 7,0 (58,6-84,1)	p<0,01
		Epi	50,5 ± 27,3 (7,7-95,1)	31,4 ± 12,7 (14,1-70,5)	p<0,05
		Kol	68,4 ± 29,6 (18,6-95,5)	53,7 ± 22,8 (9,5-82,7)	p>0,05
	MAS	ADP	348,8 ± 153,3 (98-535)	204,8 ± 104,2 (66-429)	p<0,01
		Epi	518,3 ± 99,6 (214-580)	554,1 ± 24,6 (493-577)	p>0,05
		Kol	370,6 ± 123,4 (164-558)	323,5 ± 153,1 (154-577)	p>0,05

Aspirine yeni başlanan gruptaki 8 hastanın aspirin öncesi ve sonrası PFA-100 ve agregometre sonuçları Tablo-III'te karşılaştırılmıştır. Aspirin kullanımı anlamlı bir şekilde tüm hastalarda Kol/Epi kartuşu KZ değerlerini uzatırken, uyarıcı ajanlara karşı agregasyonu azaltmış ve ADP ile Kol'e karşı maksimum agregasyona ulaşma süresini kısaltmıştır.

Tablo III- Aspirine yeni başlanan grubun aspirin kullanmadan önce ve en az 7 günlük tedavi sonrası değerlerinin karşılaştırılması (KZ: Kapanma zamanı, % MA: % maksimum agregasyon, MAS: Maksimum Agregasyona ulaşma süresi).

n=8		Aspirin öncesi	Aspirin sonrası	p	
PFA-100	Kol/Epi KZ (sn)	133,1 ± 16,8 (103-157)	279,4 ± 43,9 (184-301)	p<0,01	
	Kol/ADP KZ (sn)	85,1 ± 15,8 (54-109)	94,6 ± 15,4 (77-127)	p>0,05	
Optik Agregometre	% MA	ADP	85,2 ± 9,7 (68,6-92,7)	74,0 ± 8,9 (58,2-88,2)	p<0,001
		Epi	89,5 ± 4,1 (81,4-93,2)	38,1 ± 13,3 (20,1-65,1)	p<0,01
		Kol	88,2 ± 3,2 (85,1-92,9)	53,7 ± 20,4 (22,7-77,7)	p<0,05
	MAS (sn)	ADP	418,1 ± 80,6 (291-512)	183,8 ± 90,6 (93-351)	p<0,01
		Epi	550,3 ± 37,7 (456-579)	549,6 ± 39,2 (473-576)	p>0,05
		Kol	508,5 ± 58,0 (419-575)	321,8 ± 53,2 (272-424)	p<0,05

Tartışma

Antitrombotik ilaçların trombositler üzerinde farklı etkilere sahip oldukları ve trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan optik agregometre ve PFA-100 yöntemlerinin birbirleriyle ilişkili olmadığı çalışmamızda ortaya konmuştur.

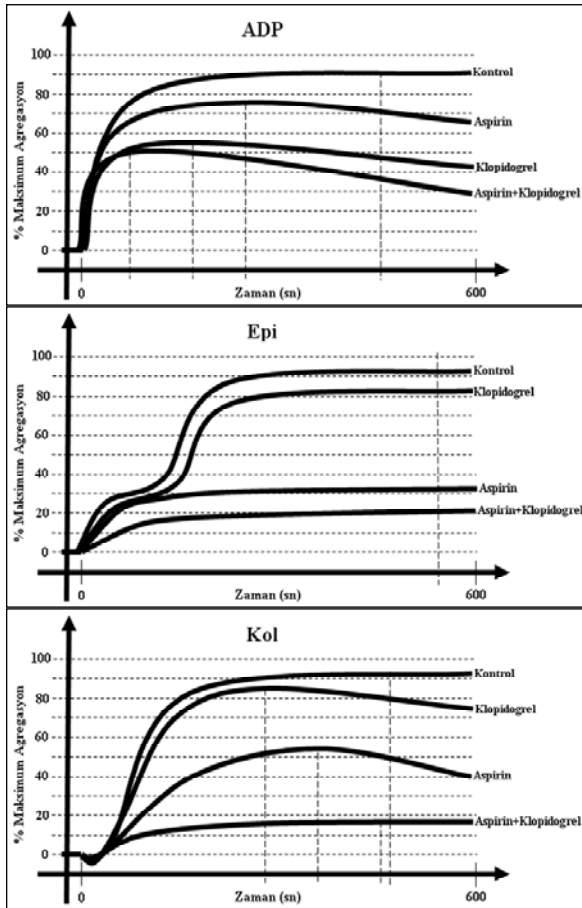
PFA-100 sisteminde, aspirinin sadece Kol/Epi kartuşu KZ'nı uzatması, ilaçların farklı etkilerini ortaya koymakla birlikte, her iki kartuşun farklı parametrelerden etkilendiğini de göstermektedir. Aspirinin optik agregometrede özellikle Epi ve Kol'e karşı etkili olması Kol/Epi kartuşu KZ'nın uzamasını açıklayabilir. Fakat Aspirin + Klopidoğrel tedavisinin uygulandığı grupta Kol ve Epi'in yanı sıra ADP'ye karşı da en düşük agregasyon yanıtlarının alınmasına rağmen Kol/ADP kartuşunun etkilenmemesi, bu kartuşun trombositlerin inhibe edilmesinden etkilenmediğini düşündürmektedir.

Aspirin + Klopidoğrel tedavisi ile optik agregometrede uyarıcı ajanlara karşı en düşük agregasyon cevaplarının alınması, Kol/Epi kartuşu KZ'larının grubun tamamında 300 sn.nin üzerinde olması, aynı zamanda bu grupta antitrombotik ilaç direncine rastlanmaması; kombine antitrombotik ilaç tedavisinin, tekli ilaç tedavisine göre daha etkin olduğunu göstermektedir.

Optik agregometre deneylerinde ADP ve Kol'e karşı maksimum agregasyona ulaşma süresinin antitrombotik ilaç kullanımıyla birlikte azalması ilaçların etkinliğini gösteren bir diğer parametredir. Kontrol grubuna göre daha düşük maksimum agregasyon değerlerine daha kısa sürelerde ulaşılması ve sonrasında eğrinin tekrar sıfır değerine doğru dönmesi tam bir disagregasyonu yansıtmaya da oluşan agregatın çok sıkı olmadığını göstermektedir (Şekil-2). Aspirin + Klopidoğrel grubunda Kol'in maksimum agregasyona ulaşma süresinin kontrol grubuna göre farklılık göstermemesi ilginçtir. Kol'e karşı maksimum agregasyonun, çalışmanın tamamındaki en düşük agregasyon seviyesi olduğu bu grupta (% 17,1±5,6), disagregasyon oluşturacak kadar agregatın oluşmadığı düşünülebilir.

Aspirin direncinin saptanmasında PFA-100 sisteminin Kol/Epi kartuşu KZ değerinde kabul ettiğimiz sınır (KZ<163 sn.), diğer araştırmacıların kabul ettiği sınıra göre (KZ<186-196 sn.) daha düşük bir değerdir^{7,9,10,16}. Sağlıklı bireylerde Kol/Epi kartuşu KZ değerinin 197 sn.ye kadar normal olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır^{19,21,22}. Ancak bu çalışmalarda yaş aralığı geniştir ve 40 yaş altı genç ve erişkinlerden elde edilen değerler üst sınırı yükseltmektedir. İleri yaşlarda KZ'nın kısalacağını gösteren bilgiler de bulunmaktadır¹⁹. Yaş, kardiyovasküler risk faktörleri arasında ilk sırada yer almaktadır ve ilerleyen yaşla birlikte

artan trombosit reaktivitesinin KZ'nı kısalttığı düşünülmektedir. Yaşla birlikte artan trombosit reaktivitesi agregasyon çalışmalarında da gösterilmiştir²³. Aspirin direncinin saptanmasında optik agregometrede belirlediğimiz ADP'ye karşı % maksimum agregasyon değeri yine Patricia AG ve arkadaşlarının kabul ettiği sınıra göre daha yüksektir⁹. Bizim çalışmamızda orta ve ileri yaş kontrol grubunun optik agregometrede uyarıcı ajanlara karşı vermiş oldukları maksimum agregasyon değerleri temel alınmıştır. Aspirinin etkisinin tüm hastalarda eşit olmaması ve uyarıcı ajanları farklı düzeylerde etkilemesi net bir sınır koymayı zorlaştırmaktadır. Aspirin tedavisi alıp kontrol grubu sınırları içinde agregasyon cevabı verenlerin aspirin tedavisine cevap vermedikleri net bir şekilde belirlidir. Bu yüzden kontrol grubuna göre sınırın belirlenmesinin daha uygun olduğu düşünülmüştür.



Şekil-2:

Kontrol ve antitrombotik ilaç gruplarının optik agregometrede uyarıcı ajanlara karşı gösterdikleri agregasyon eğrilerinin şematik gösterimi. % maksimum agregasyon ve maksimum agregasyona ulaşma süreleri (dikey kesikli çizgiler) ortalama değerlere göre çizilmiştir. ADP ve Kol'e karşı antitrombotik ilaçların meydana getirdiği disagregasyon, agregatın stabilitesinin bozulduğunu göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda aspirin direncinin sıklığı % 5,5-42,5 arasında değişmektedir^{9-11,16}. Aspirin direncinin sıklığı saptandığı parametreye ve parametrenin sınırlarına göre değişkenlik göstermektedir. Aspirin direncinin net olarak tanımlanamaması en büyük sorunlardan biridir. Eikelboom ve Hankey'in Antithrobotic Trialists' Collaboration'a göre yapmış oldukları değerlendirmelerinde, yüksek riskli hastaların 1/8'inin (% 12,9) aspirin kullanmasına rağmen gelecek iki yıl içerisinde tekrarlayıcı vasküler olay yaşadıkları belirtilmektedir²⁴. Klinik ve ileriye yönelik bir değerlendirmeyle ortaya çıkan bu sonuç aspirin direnci sıklığının dolaylı bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Bizim çalışmamızda da değerlendirilen 4 farklı parametreden en az ikisine göre aspirin direnci sıklığımız (5/37) % 13,5'tir. Bu bağlamda aspirin direncini tanımlayabilmek için birbirini destekleyen parametrelerle ihtiyaç olduğu açıktır.

Klopidogrel grubunda değerlendirilen 17 hastanın yalnızca birinde (% 5,9) klopidogrel direnci olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda optik agregometre ve PFA-100 ile yapılan değerlendirmelerde ADP reseptör antagonisti bir ilacın değerlendirildiği tek parametre optik agregometrede ADP'ye karşı elde edilen agregasyondur. Klopidogrel direncinin saptanması için yalnızca ADP'ye karşı agregasyonun değerlendirilmesinin yeterli olup olmadığı tartışmalıdır. Aspirin direncinde yöntemler ve parametreler arasındaki ilişkisizlikten yola çıkarak, farklı yöntemler ve parametrelerle klopidogrel direncinin varlığı desteklenmelidir.

Aspirin tedavisine yeni başlanan grupta ilk değerlerin kontrol grubuyla benzerlik göstermesi, ikinci değerlerin uzun süreden beri aspirin kullananlarla benzerlik göstermesi ve aspirin direnci sınırlarından uzak olmaları tedavinin etkin başladığını göstermektedir. Aspirin direncine rastlanılmamış olması direncin zamanla gelişebileceğini veya grup sayımızın az olmasından dolayı yakalayamadığımızı düşündürmektedir. Aspirin direncinin; aspirinin ilk kullanımıyla birlikte var olup olmadığı veya kullanıma bağlı olarak zamanla gelişip gelişmediği araştırılması gerekli konulardan biridir.

Çalışmamızı sınırlayan faktörlerden biri denek sayısının az olmasıdır. Özellikle klopidogrel, aspirin+klopidogrel ve aspirin yeni başlananlar gruplarında hasta sayısının az olması istatistiksel yöntemleri sınırlamaktadır. Ayrıca optik agregometrede yalnızca üç uyarıcı ajan (ADP, kollajen ve epinefrinin) kullanılması çalışmamızı sınırlayan başka bir faktördür. Araşidonik asit gibi aspirin direncine daha duyarlı uyarıcı ajanlar ileri çalışmalarda mutlaka değerlendirilmelidir.

Sonuç olarak; ciddi vasküler olayların patogenezinde önemli bir yere sahip olan trombositlerin kompleks yapıları nedeniyle antitrombotik ilaçların trombosit fonksiyonlarını inhibe etme yetenekleri farklıdır. Aynı ilaca karşı kişisel farklılıklar olabilmekte ve bazı hastalar bu ilaçlara karşı direnç gösterebilmektedir. Aspi-

Antitrombotik Tedavide Agregometre ve PFA-100 İncelemesi

rin veya klopidogrel direncinin vasküler olay sıklığını anlamlı olarak arttırması, alternatif ilaçların varlığı ve kombine antitrombotik tedavinin daha etkin olduğunun bilinmesi, trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Antitrombotik ilaç direnci laboratuvar yöntemleriyle net olarak tanımlanmalı, antitrombotik tedavinin yeterliliği mutlaka her hasta için saptanmalı ve tedavi bu sonuçlara göre yönlendirilmelidir.

Kaynaklar

1. Colman RW, Clowes AW, Goldhaber SZ, Marder VJ, George JN, (eds). Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
2. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *Brit Med J* 2002; 324: 71-86.
3. Offermanns S. Activation of Platelet Function Through G Protein-Coupled Receptors. *Circ Res* 2006; 99: 1293-1304.
4. Patrono C, Collier B, FitzGerald GA, Hirsh J, Roth G. Platelet-Active Drugs: The Relationships Among Dose, Effectiveness, and Side Effects. *Chest* 2004; 126: 234-264.
5. Murugappan S, Kunapuli SP. The role of ADP receptors in platelet function. *Front Biosci* 2006; 11: 1977-1986.
6. Moshfegh K, Redondo M, Julmy F, et al. Antiplatelet effects of clopidogrel compared with aspirin after myocardial infarction: Enhanced inhibitory effects of combination therapy. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 699-705.
7. Grau AJ, Reiners S, Lichy C, Bugge F, Ruf A. Platelet function under aspirin, clopidogrel, and both after ischemic stroke. *Stroke* 2003; 34: 849-855.
8. Peters RJ, Mehta SR, Fox KA, et al. Effects of aspirin dose when used alone or in combination with clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 108: 1682-1687.
9. Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, et al. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2001; 88: 230-235.
10. Pamukcu B, Ofiaz H, Acar RD, et al. The role of exercise on platelet aggregation in patients with stable coronary artery disease: Exercise induces aspirin resistant platelet activation. *J Thromb Thrombolys* 2005; 20: 17-22.
11. Roller RE, Dorr A, Ulrich S, Pilger E. Effect of aspirin treatment in patients with peripheral arterial disease monitored with the platelet function analyzer PFA-100. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002; 13: 277-281.
12. Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: Response variability, drug resistance and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation* 2003; 107: 2908-2913.
13. Michelson AD, Frelinger AL, Furman MI. Resistance to anti-platelet drugs. *Eur Heart J Suppl* 2006; 8: 53-58.
14. Gurbel PA, Tantry US. Aspirin and clopidogrel resistance: Consideration and management. *J Intervent Cardiol* 2006; 19: 439-448.
15. Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 961-965.
16. Andersen K, Hurlen M, Arnesen H, Seljeflot I. Aspirin non-responsiveness as measured by PFA-100 in patients with coronary artery disease. *Thromb Res* 2003; 108: 37-42.
17. Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, et al. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004; 109: 3171-3175.
18. Kundu SK, Heilmann EJ, Sio R, Garcia C, Davidson RM, Ostgaard RA. Description of an in vitro Platelet Function Analyzer-PFA-100. *Semin Thromb Hemost* 1995; 21: 106-112.
19. Favaloro EJ. Utility of the PFA-100 for assessing bleeding disorders and monitoring therapy: a review of analytical variables, benefits and limitations. *Haemophilia* 2001; 7: 170-179.
20. Jarvis GE. Platelet Aggregation: Turbidimetric Measurements. In: Gibbins JM, Mahaut-Smith MP, editors. Platelets and Megakaryocytes: Volume 1, Functional Assays. New Jersey: Humana Press Inc; 2004. pp. 65-76.
21. Salat A, Kroess S, Felfernig-Boehm D, et al. Comparison of in vitro closure time (PFA-100) with whole blood electrical aggregometry and platelet surface antigen expression in healthy volunteers. *Thromb Res* 2002; 105: 205-208.
22. Peters AJ, Borries M, Gradaus F, Jax TW, Schoebel FC, Strauer BE. In vitro bleeding test with PFA-100—Aspects of controlling individual acetylsalicylic acid induced platelet inhibition in patients with cardiovascular disease. *J Thromb Thrombolys* 2001; 12: 263-272.
23. Gormsen J, Nielsen JD, Dalsgaard J, Andersen LA. ADP-induced platelet aggregation in vitro in patients with ischemic heart disease and peripheral thromboatherosclerosis. *Acta Med Scand* 1977; 201: 509-513.
24. Eikelboom JW, Hankey GJ. Aspirin resistance: A new independent predictor of vascular events? *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 966-968.

