



T.C.
İSTANBUL BİLİM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI

PERKUTAN KORONER GİRİŞİM UYGULANAN HASTALARDA
KLOPİDOGREL DİRENCİ İLE CYP2C19 GEN POLİMORFİZMİ VE
SERUM LEPTİN DÜZEYİ ARASINDAKİ İLİŞKİ

Dr. Ali DOĞAN

UZMANLIK TEZİ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Çavlan ÇİFTÇİ

İSTANBUL – 2012

TEŞEKKÜR

Kardiyoloji uzmanlık eğitimimi en iyi koşullarda tamamlamamı sağlayan, Türk Kardiyoloji Vakfı, Florence Nightingale Hastaneleri eski yönetim kurulu başkanı ve T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi'nin kurucusu merhum Sayın **Prof. Dr. Cem'i DEMİROĞLU**'na, Türk Kardiyoloji Vakfı, Florence Nightingale Hastaneleri Yönetim Kurulu Başkanımız ve T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi Mütevelli Heyeti Başkanımız Sayın **Prof. Dr. Cemşid DEMİROĞLU**'na, Türk Kardiyoloji Vakfı ve T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi Mütevelli Heyeti başkan yardımcısı çok değerli hocam Sayın **Prof. Dr. Nuran YAZICIOĞLU**'na, T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi Rektörü Sayın **Prof. Dr. Hakan BERKKAN**'a ve kurucu Rektörü Sayın **Prof. Dr. Canan Efendigil KARATAY** Hocam'a

T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı, Kardiyoloji Anabilim Dalı Başkanı, tüm uzmanlık eğitimim boyunca kendisinden çok şey öğrendiğim, tecrübesi ve bilgisinden faydalandığım, tezimin her aşamasında bilgisi ve tecrübesi ile beni yönlendiren değerli hocam Sayın **Prof. Dr. Çavlan ÇİFTÇİ**'ye, kardiyoloji eğitimime büyük katkıları olan, bilgi ve deneyimlerini paylaşan Kardiyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi değerli hocam Sayın **Doç. Dr. Nurcan ARAT**'a, **Doç. Dr. Yelda TAYYARECİ**'ye ve **Yrd. Doç. Dr. Selen YURDAKUL**'a, uzmanlık eğitimim boyunca tecrübesi ve bilgisinden yararlandığım değerli hocam Sayın **Prof. Dr. Saide AYTEKİN**'e, invaziv kardiyoloji rotasyonu boyunca tecrübesi ve bilgisinden faydalandığım değerli hocalarım Sayın **Prof. Dr. Vedat AYTEKİN**'e, **Prof. Dr. Murat GÜLBARAN**'a, **Doç. Dr. Alp Burak ÇATAKOĞLU**'na, **Yrd. Doç. Dr. Refik ERDİM**'e,

Tez çalışmalarımda büyük emeği olan Sayın **Doç. Dr. Uzay GÖRMÜŞ**'e ve **Yard. Doç. Dr. Veysel Sabri HANÇER**'e,

Tezin hazırlanmasında desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım **Zeynep Akalan**'a, **Ömer Özgür Altuntaş**'a, **Doğan Yılmaz**'a ve tüm kateter laboratuvarı çalışanlarına,

Yaşamımda bu günlere gelmemi sağlayan, zorlu ve uzun tıp eğitimimde destekleri ile her an yanımda olan aileme, dostlarıma, tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

1.KISALTMALAR	4
2. ÖZET	5
3. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	9
3.1 Trombosit Aktivasyonu ve Aterosklerozdaki Rolü	9
3.1.1 Trombosit Yüzey Membran Reseptörleri	10
3.1.2 Trombosit Adezyonu	10
3.1.3 Trombosit Aktivasyonu	11
3.1.4 ADP ve Trombosit Agregasyonu	11
3.1.5 Trombosit ve İnflamasyon	12
3.1.6 Trombositlerin ateroskleroz patogenezindeki etkisi	13
3.2 Klopidoğrel Etki Mekanizması	13
3.2.1 ADP ve Reseptörü	13
3.2.2 Klopidoğrel Farmakokinetiği	14
3.3 Klopidoğrel'in Klinik Kullanımı	15
3.3.1 USAP/NSTEMI 'da Klopidoğrel Kullanımı	15
3.3.2 ST Elevasyonlu MI'da Klopidoğrel Kullanımı	17
3.3.3 Perkütan Koroner Girişimlerde Klopidoğrel	20
3.4 Klopidoğrel Direnci	22
3.4.1 Klopidoğrel Direnci Mekanizmaları	23
3.4.2 Klopidoğrel Direncinin Klinik Önemi	23
3.4.3 Klopidoğrel Direncinin Tespitinde Kullanılan Laboratuvar Yöntemler	25
3.4.3.a Turbidimetrik Trombosit Agregasyonu (Optik Agregometri)	
3.4.3.b VerifyNow (Accumetrics)	
3.4.3.c Plateletworks	
3.4.3.d Platelet Function Analyzer-100 – PFA-100	
3.4.3.e Tam Kanda İmpedans Agregometri	
3.4.3.f Vazodilatör-Uyarıcı Fosfoprotein Fosforilasyonu	
3.5 Genetik Değişkenlik ve CYP2C19 Gen Polimorfizminin Klopidoğrel Metabolizmasına Etkisi	30
3.5.1 CYP2C19 Ve Klopidoğrel Direnci	31
3.5.2 İlaç-ilaç Etkileşimleri	33

3.6 Diabetes Mellitus, İnsülin Direnci ve Trombosit Yanıtı	34
3.7 Leptin ve Klopidoğrel Direnci.....	36
3.7.1 Leptin Direnci	37
3.7.2 Leptin ve Klopidoğrel Direnci	38
3.8 Klopidoğrel Direncine Yaklaşım.....	38
3.8.1 Klopidoğrel dozunu ayarlama.....	39
3.8.2 Silostazol	39
3.8.3 Prasugrel	39
3.8.4 Tikagrelor.....	40
3.8.5 Kangrelor	40
4. AMAÇ	40
5. GEREÇ VE YÖNTEM	41
5.1 Dahil Edilme Kriterleri	41
5.2 Çalışma Dışı Bırakılma Kriterleri.....	41
5.3 Veri Toplama Yöntemleri	42
5.4 Antropometrik Ölçümler	42
6. ÇALIŞMA PROTOKOLÜ.....	43
6.1 Biyokimyasal Değerlendirme	43
6.2 VerifyNow ile Klopidoğrel İnhibisyonu Tayini	43
6.3 Genetik Analiz	44
6.4 Serum Leptin Düzeyinin Tayini	45
7. İSTATİKSEL ANALİZ VE BULGULAR	46
8. TARTIŞMA	55
9. ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI	61
10. SONUÇ	61
11. KAYNAKLAR	63

1. KISALTMALAR

ADP: Adenozin Difosfat

PKG: Perkutan Koroner Girişim

COX: Siklooksijenaz

PAR: Proteaz aracılı reseptör

cAMP: Siklik Adenozin Monofosfat

AC : Adenozin Siklaz

VASP: Vazodilatör Uyarıcı Fosforilasyon

USAP: Unstable Angina- Kararsız Angina Pektoris

NSTEMI: ST Elevasyonu Olmayan Miyokard Enfarktüsü

STEMI: ST Elevasyonu Olan Miyokard Enfarktüsü

ESC: European Society Of Cardiology

LTA: Light transmittance Aggregometry

WBA: İmpedans Platelet Aggregasyon

PFA-100: Platelet Function Analyser-100

SAT: Subakut stent trombozu

MACE: Major Adverse Cardiac Events, Major Kardiyak Olay

CYP P450: Sitokrom P450

RPA: Rezidüel Trombosit Aktivitesi

PPI: Proton Pompa İnhibitörü

DM: Diabetes Mellitus

KVH: Kardiyovasküler Hastalık

PRU: P2Y12 Reaction Unit

DES: Drug-Eluting Stent- İlaç salınımlı Stent

BMS: Bare Metal Stent- Çıplak Metal Stent

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

Vs: -e karşı

2.ÖZET

Giriş: Trombosit aktivasyonu ve agregasyonunun inhibe edilmesi akut koroner sendrom ve perkutan koroner girişim sonrasında kritik öneme sahiptir. Klopidoğrel tienopiridin türevi bir ilaç olup, etkisini trombosit agregasyonunu ADP P2Y12 reseptörlerini inhibe ederek gösterir. Klopidoğrelin aspirin ile kombine edilerek antitrombosit tedavi uygulanması akut koroner sendrom geçiren ve perkutan koroner girişim uygulanan hastalarda kabul gören tedavi yaklaşımıdır.

Klopidoğrel ile trombosit agregasyonunun inhibe edilmesi hastalar arasında değişkenlik gösterebilir. Klopidoğrel direnci yeterli antitrombosit tedaviye rağmen klopidoğrel reseptörünün devam eden aktivitesi olarak tanımlanıp, klopidoğrel sonrası yüksek trombosit reaktivitesinin başta stent trombozu ve kardiyovasküler ölüm olmak üzere, olumsuz kardiyovasküler olay riski ile ilişkili olduğu ortaya konmuştur.

Amaç : Klopidoğrel direnci ile obezite, serum leptin düzeyi ve CYP2C19 gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmak.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza, hastanemiz acil servis veya kardiyoloji polikliniğine başvurmuş, koroner arter hastalığı tespit edilip perkutan koroner girişim uygulanmış 100 adet hasta dahil edilmiştir. Hastaların demografik özellikleri, kardiyovasküler hastalık risk faktörleri, vücut kitle indeksleri, klopidoğrel ile etkileşebilecek ilaç kullanımları, biyokimyasal parametreleri, sol ventrikül fonksiyonları, serum leptin seviyeleri ile CYP2C19*2 ve CYP2C19*3 mutant allel varlığı klopidoğrel direnci olan ve olmayan grupta karşılaştırılmıştır. Çalışmamızda klopidoğrel trombositi inhibisyon düzeyi, Verify Now © P2Y12 sistemi ile ölçülmüş olup PRU > 240 olan hastalar dirençli kabul edilmiş, PRU < 240 olanlar ise klopidoğrel yanıtının olduğu şeklinde değerlendirilmiştir. Ayrıca, leptin düzeyi > 15 ng/ml olması hiperleptinemi olarak kabul edilmiştir.

Bulgular: Çalışmamızda CYP2C19*2 ve CYP2C19*3 mutant allellerinin varlığı ile klopidoğrel direnci arasında ilişki istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. (p=0.073). Tek başına CYP2C19*2 allel varlığı da yine istatistiksel anlamlılığa ulaşmamaktadır. (p=0.141) Benzer biçimde, PRU değeri açısından karşılaştırıldığında tüm mutant allellerde (CYP2C19*12+22+13) 260.88±70.97 iken, normal allel sahibi bireylerde 213.69±70.99'dir. (p=0.093)

Klopidoğrel direnci olan ve olmayan grupta sırasıyla leptin düzeyi 8.03 ± 7.27 ve 5.48± 5.82 iken bu farklılık istatistiksel anlamlılığa ulaşmadı. (p= 0.116) Leptin düzeyi >15 olan grupta ise klopidoğrel direnci anlamlı olarak daha fazla idi. (p= 0.017) Leptin düzeyi > 15 hastalarda PRU değeri daha yüksek olup, istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı. (292.18±70.11 vs

208.76±66.98, p= 0.001) Benzer biçimde, VKİ > 30 hastalarda, istatistiksel olarak anlamlı derece daha fazla sayıda hastada klopidogrel direnci izlenmiştir.(p=0.015)

Sonuç : Obez, leptin düzeyi yüksek hastalarda klopidogrel direnci daha fazla görülmektedir. Bu hasta grubunda, klopidogrel tedavi dozunun arttırılması düşünülebilir. Klopidogrel direnci ile CYP2C19 gen polimorfizmi arasındaki ilişki için daha fazla mutant allel taşıyan hasta sayısına ve yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

SUMMARY

Introduction: Platelet activation and aggregation play a crucial role after acute coronary syndrome and percutaneous coronary intervention. Clopidogrel is a thienopyridine derivative that inhibits platelet aggregation by blockade of platelet ADP P2Y₁₂ receptor. Combination with aspirin for patients with acute coronary syndrome and percutaneous coronary intervention is accepted treatment approach. Inhibition of platelet aggregation by clopidogrel can vary between patients. Clopidogrel resistance can be described as the persistent activity of clopidogrel receptor despite an adequate antiplatelet regime. High platelet reactivity after clopidogrel was shown to be associated with adverse cardiovascular events, particularly stent thrombosis and cardiovascular death.

Purpose: The aim of the study is to investigate relationship between clopidogrel resistance and obesity, serum leptin levels and CYP2C19 gene polymorphism

Methods: In this study, 100 patients who have undergone percutaneous coronary intervention for coronary artery disease after their admission to hospital emergency department or cardiology clinic were included. Patients' demographic data, risk factors for cardiovascular disease, body mass index, use of drugs that can interact with clopidogrel, biochemical parameters, left ventricular functions, serum leptin levels and the presence of CYP2C19 * 2 and CYP2C19 * 3 mutant allele were compared between clopidogrel resistant and responsive groups. Clopidogrel platelet inhibition level is measured by the Verify Now © P2Y₁₂ system. Patients whose PRU level > 240 were accepted resistant to clopidogrel, while PRU <240 ones were evaluated as responsive to clopidogrel. In addition, leptin levels > 15 ng / ml was considered to be hyperleptinemia.

Results: In our study, relationship between the presence of CYP2C19 *2 and CYP2C19 *3 mutant alleles and clopidogrel resistance did not reach statistical significance. (p=0.073). The presence of CYP2C19 * 2 allele alone did not also achieve statistical significance. (p=0.141) Similarly, in terms of PRU value, patients carrying mutant alleles (CYP2C19* 12+22+13) PRU were 260.88±70.97, while patients carrying normal alleles PRU were 213.69±70.99 (p=0.093). Leptin levels were respectively 8.03 ± 7.27 and 5.82 ± 5.48, in clopidogrel resistant and responsive groups. However, this difference did not reach statistical significance. (p= 0.116). Clopidogrel resistance is significantly more in patients with leptin level > 15. (p= 0.017) PRU value was higher in in patients with leptin level > 15, statistically significant relationship was found. (292.18±70.11 vs 208.76±66.98, p= 0.001). Similarly, in patients

with BMI > 30, statistically significant greater number of clopidogrel resistance was observed. (p=0.015)

Conclusion: Clopidogrel resistance is seen more in obese, hyperleptinemic patients. Increasing the dose of clopidogrel should be considered in this group. For the relationship between clopidogrel resistance and CYP2C19 gene polymorphism, more patients carrying mutant alleles and new studies are needed

3. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

Trombosit aktivasyonu ve agregasyonu akut koroner sendroma yol açabilecek aterotrombozun patogeneğinde ve perkutan koroner girişimler sonrasında çok önemli role sahiptir.¹ Klopidoğrel tienopiridin türevi bir ilaç olup, etkisini trombosit aktivasyonu ve agregasyonunu adenosin difosfat (ADP) P2Y12 reseptörlerini inhibe ederek gösterir.^{2,3} Kardiyovasküler hastalığı bulunan hastalarda aspirine alternatif bir ilaçtır. Ayrıca akut koroner sendrom geçiren ve perkutan koroner girişim (PKG) uygulanan hastalarda aspirin ile kombine edildiğinde ek antitrombosit etki sağlar.⁴ Bu kombinasyon subakut stent trombozunu önlemede altın standarttır.⁵

Klopidoğrel ile trombosit agregasyonunun inhibe edilmesi hastalar arasında değişkenlik gösterebilir.⁶⁻⁷ Yetersiz trombosit inhibisyonu artmış kardiyovasküler olay riski ile birlikte.⁸⁻⁹ Klopidoğrel direnci olarak ifade edilen bu yetersiz yanıtın mekanizması tam anlaşılammakla birlikte, çok sayıda altta yatabilecek mekanizma öne sürülmüştür. Son yıllarda yapılan çalışmalar P2Y12 reseptör ve sitokrom P450 gen polimorfizmi, obezite ve metabolik sendrom, yetersiz ilaç alımı, ilaç-ilâç etkileşimleri (örneğin proton pompa inhibitörleri) gibi nedenlerle klopidoğrelle yanıtın azalabileceğini göstermektedir.¹⁰⁻¹¹

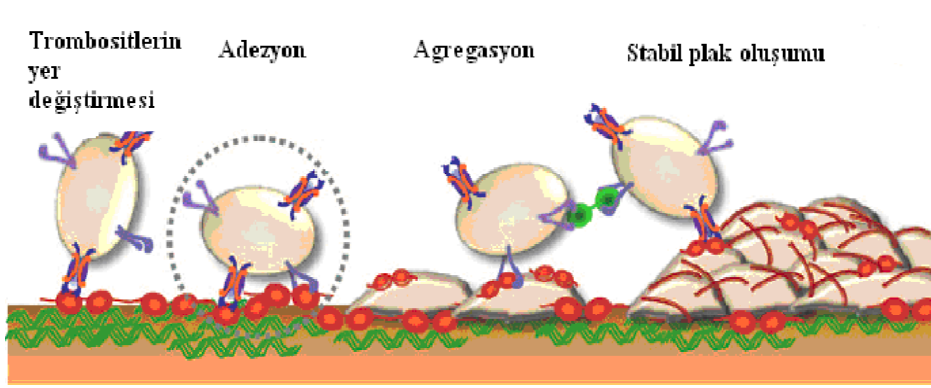
3.1 TROMBOSİT AKTİVASYONU VE ATEROSKLEROZDAKİ ROLÜ

Trombositler aktive olup, hızla mobilize olmalarından ötürü hemostatik plak oluşumunda önemli role sahiptirler. Fakat aterosklerotik lezyon altındaki matriks proteinleri ile temas kurduklarında olumsuz sonuçlara da neden olabilirler. Bu nedenle, antitrombosit tedavi girişimsel kardiyojinin önemli bir parçası haline gelmiştir.¹²

Trombositler, megakaryosit kökenli, nukleusu olmayan hücreler olup 7-10 gün yaşam süresine sahiptir. Damar yatağının endotel tabakası ile anlamlı bir etkileşim olmaksızın karşılaşılırlar. Vasküler hasar durumunda ise trombosit adezyonu, aktivasyonu ve agregasyonu ile sonuçlanan aşamalar başlar. Aterosklerotik damar mekanik olarak açıldığında (örneğin perkutan koroner girişim ile) veya plak rüptürü oluştuğunda kan trombojenik maddeler ile karşılaşır ve trombositler bu patofizyolojik sürece dahil olur.¹³

Vasküler hasar sonrası, trombositler endotel hasar bölgesine yönelerek hemostatik plak oluşturur. Bundan sonrası trombositlerin subendotelial matrikse bağlanma yetilerine ve trombositlerin hızlıca şekilsel ve biokimyasal değişiklik göstermesine bağlıdır. Süreç sırasıyla

trombosit adezyonu, trombosit agregasyonu ve nihayet stabil plak oluşumu ile devam edecektir.¹⁴ (Şekil-1)



Şekil 1 Plak oluşum süreci (Kaplan ve ark. Role of platelets in atherothrombosis ‘den modifiye edilmiştir.)

3.1.1 Trombosit Yüzey Membran Reseptörleri

Trombositler agonistler için reseptörlere sahip olup, bunların önemli bir bölümü integrin ailesine ait glikoproteinlerdir.¹⁵ İntegrinler α zinciri ve non kovalen bağlanan β zincirinden oluşur. Bunlardan GP Ib/IX/V trombosit adezyonunda, özellikle subendotelyal matris ile ilk bağlantıda işlev görür.¹⁶ Bu da GP IIb-IIIa (α IIb β 3) aktivasyonuna yol açıp agregasyona neden olur.¹⁷ GP Ib/IX/V vasküler hasar bölgesine lökositlerin yönlendirilmesi ve trombin aracılı trombosit aktivasyonu ve koagülasyonda da görev alır.¹⁸ GP IIb-IIIa trombosit yüzeyindeki en yaygın integrin proteinidir. Dinlenme halinde fibrinojen veya von Willebrand faktöre bağlı değildir. Aktivasyonla birlikte trombosit içi yoğunlukları artar, proteinde şekilsel değişim ortaya çıkar. Bu da ligand bağlanma bölgelerini ortaya çıkarıp, yüksek afiniteli bir durum yaratır. Sonuçta GP IIb-IIIa (α IIb β 3) aktivasyonu oluşup agregasyona neden olur. Parenteral GP IIb-IIIa inhibitörleri(absiksimab, ebtifibatid, tirofiban) iskemik olayların azaltılmasında ve perkutan koroner girişim uygulanan hastalarda başarılı olmuştur.¹⁹

3.1.2 Trombosit Adezyonu

Trombositler vasküler hasar durumunda GP Ib/IX/V kompleksi yoluyla von Willebrand faktöre bağlanırken, subendotelyal kolajen GP Ia/IIa reseptörüne bağlanır. Von Willebrand faktör yoluyla oluşan adezyon hızla ayrışabilir, bu nedenle tek başına trombüs oluşturmaya yetmez. Bu bile GP VI reseptörlerinin (kolajenden gelen sinyaller ile trombosit aktivasyonu sağlar) kolajenle bağlantı kurmasına yeter.^{20,21}(Şekil 2)

3.1.3 Trombosit Aktivasyonu

Agonistler aracılığı ile oluşan trombosit aktivasyonu trombosit morfolojisinde hızla değişikliğe yol açar. Aktivasyonla birlikte düzgün disklerden, düzensiz kenarlı yapılara dönerler. Aktive trombositler depolanmış granülleri salıp, oldukça güçlü bir vazokonstriktör ve trombosit agonisti olan tromboksan A2 'yi oluşturur. Trombaksan A2 araziidonik asitten siklooksijenaz (COX) ve tromboksan sentaz enzimleri ile sentezlenir. Aspirin bu yolda siklooksijenazı inhibe ederek etki gösterir.^{22,23}

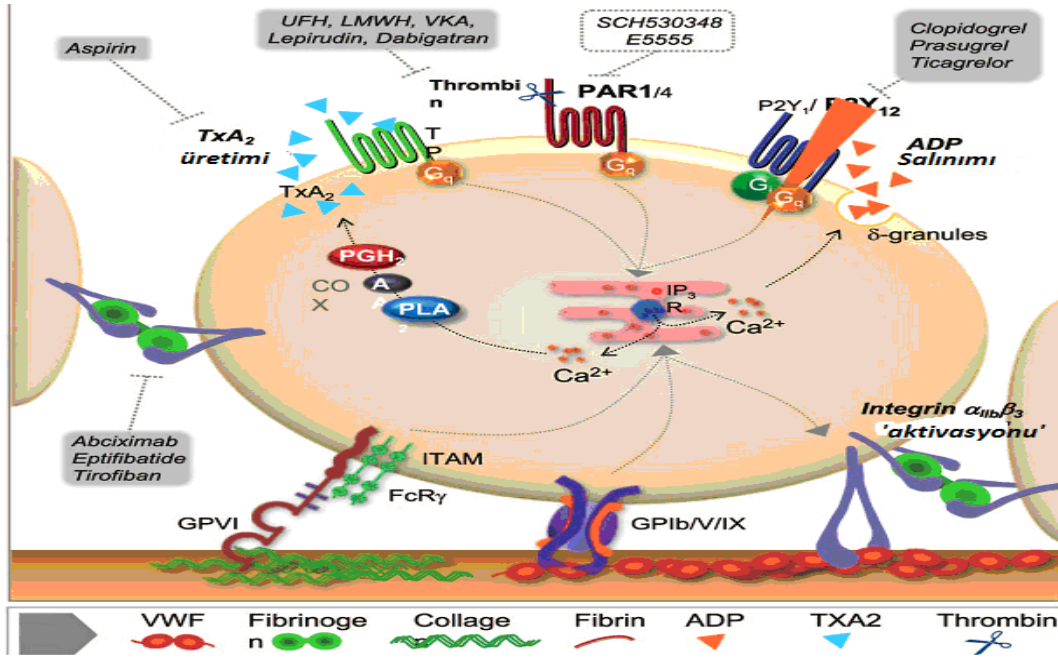
GP VI 'nın kolajen tarafından uyarılması trombosit granüllerinden ADP 'nin salınmasına neden olur. Tromboksan A2 ile ADP trombosit aktivasyonunu sağlayan zincirleme bir reaksiyona yol açar. Çünkü bu maddeler otokrin ya da parakrin olarak pozitif geri bildirim ile trombositleri devamlı olarak uyararak bir sisteme sahiptir.

Trombin, GP Ib reseptörlerine bağlanıp, trombosit aktivasyonu ve agregasyonuna etki eden bir diğer maddedir.²⁴ Trombin, trombositten tromboksan A2 üretimini artırır. Endotel hücrelerinde veya monositlerde bulunan doku faktörü, koagülasyon faktörü VIIa 'yı uyararak trombin üretilmesini sağlar. Bu da protrombinin trombine dönüşümünü protrombinaz ile aktive trombosit yüzeyinde gerçekleştirir. Trombin fibrinojeni fibrine çevirir. Trombin ayrıca trombosit membranındaki proteaz aracılı reseptörleri (PAR) uyararak güçlü trombosit uyarımı sağlar. İnsan trombositlerinde özellikle PAR-1 ve 4 bulunmaktadır. SCH 530348 ve E5555 PAR inhibitörü olarak etkinliği araştırılan moleküllerdir.²⁵ Fibrinin GP IIb-IIIa reseptörüne bağlanması pıhtı sağlamlığının oluşumuna yardımcı eder. (Şekil 2)

3.1.4 ADP ve Trombosit Agregasyonu

ADP 'nin trombosit agregasyonunu uyarması yaklaşık yarım yüzyıldır bilinen bir olgudur. Fakat G protein aracılı reseptörlerinin anlaşılması nispeten yeni bir konudur. ADP trombosit yüzeyinde iki P2Y reseptörünü uyarır: Gq aracılı P2Y1 ve Gi aracılı P2Y12. P2Y1 ve P2Y12 reseptörünün uyarılması fibrinojenle bağlanan GP IIb-IIIa reseptörünün ortaya çıkmasına yardımcı eder.

P2Y1 etkisi ortadan kaldırılırsa trombosit aktivasyonu hemen hiç gerçekleşmez. P2Y12 eksikliği olanlarda ise, P2Y1 tek başına trombositte şekil değişikliği ve geçici trombosit agregasyonu oluşturur. Fakat tam agregasyonun olmasını sağlayan sekonder dalga oluşmaz.²⁶ Klopidoğrel, prasugrel ve tikagrelor P2Y12 reseptörünü inhibe ederek antitrombositler etkinliğini gösterir.



Şekil 2 Trombosit adezyon ve agregasyon süreci. (Kaplan ve ark. Role of platelets in atherothrombosis ‘ den modifiye edilmiştir)

3.1.5 Trombosit ve İnflamasyon

Trombositler aterotrombozda rol oynayan iltihabi yanıt ürünlerinin ve büyüme faktörlerinin depolanmasını sağlarlar. Adezyon molekülleri (fibrinojen, fibronektin, von Willebrand faktör, P- seletin, GP IIb-IIIa ($\alpha_{IIb}\beta_3$), trombospondin), büyüme ürünleri (PDGF, TGF- β , EGF), kemokinler, sitokin veya sitokin benzeri maddeler (CD40 ligandı, interlökin 1 β), koagülasyon faktörleri (faktör V, faktör XI, protein S) bunların arasındadır.²⁷

Von Willebrand faktörle birlikte, P seletin trombosit ve lökosit adezyonundan sorumludur. Von Willebrand faktör ve P seletin endotel içerisinde Weibel- Palade cisimciği ve trombositte α granüllerinde depolanır. Birlikte lökosit göçü ve makrofaj birikimini sağlar. Apolipoprotein E eksikliği olan farelerde trombosit P seletininin ateroskleroza duyarlı endotelde lökosit göçünde önemli rolü olduğu gösterilmiştir.²⁸

Trombositten salınan bir diğer proinflamatuvar madde CD40 ligandıdır. CD40 ligandı nötrofil ve monositler için ciddi bir uyarıcıdır.²⁹

3.1.6 Trombositlerin ateroskleroz patogenezindeki etkisi

İnsanda ateroskleroz gelişiminde trombositlerin rolü ile ilgili olarak elde edilen veriler trombosit aktivasyonunun koroner arter hastalığı, transplant vaskülopatisi ve karotis arter hastalığında arttığını göstermektedir. Trombosit aktivasyonunun karotis arterde duvar kalınlığının artması ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, bazı trombosit kökenli kemokinler ve büyüme faktörleri aterosklerotik plaklarda bulunmuştur. Aspirin ve klopidogrel gibi antitrombosit ilaçların ateroskleroz ilerlemesini engellemede etkili olmadığı düşünülmektedir.³⁰

3.2 KLOPIDOGREL ETKİ MEKANİZMASI

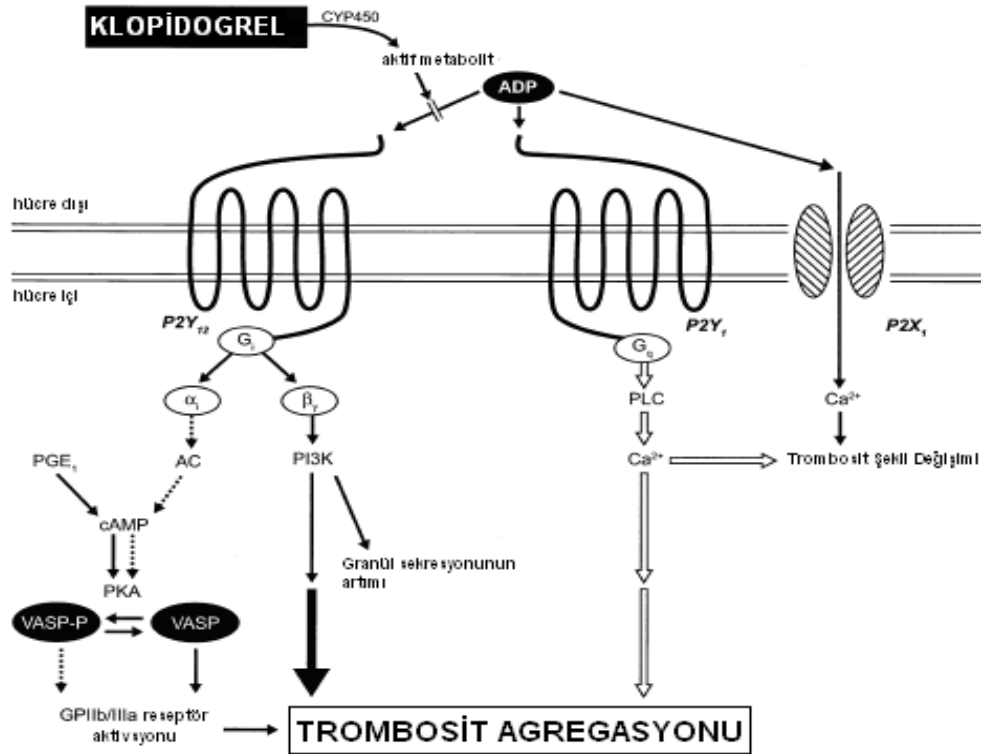
Klopidogrel tienopiridin türevi bir ilaç olup trombosit agregasyonunu geri dönüşümsüz olarak trombosit yüzeyindeki ADP P2Y₁₂ reseptörlerine bağlanarak inhibe eder.³¹ Sitokrom P450 enzim sistemi ile aktif metabolitlerine dönüşen bir ön ilaçtır. Aktif bileşenler ADP P2Y₁₂ reseptörü etkinliğini inhibe ederek, sonrasında gerçekleşecek glikoprotein IIb-IIIa yolağını bloke eder. Bu yolak trombosit agregasyonu ve fibrin ile bağlanmayı sağladığından kritik öneme sahiptir.³²

3.2.1 ADP ve Reseptörü

Adenozin difosfat, trombositlere iki G proteini aracılı reseptör (P2Y₁ ve P2Y₁₂) ve bir de katyon kanalı aracılı reseptörle (P2X₁) bağlanır. P2Y₁'in aktive oluşu trombositte hızlı ve geçici bir kalsiyum girişine neden olur, fakat trombosit agregasyonunda önemli bir rol oynamaz. P2Y₁ G_q aracılıdır, fosfolipaz C'yi aktive eder ve hücre içi kalsiyumda geçici bir artış ve trombositte şekil değişikliğine neden olur. Agregasyonda daha zayıf etkinliğe sahiptir, ancak P2Y₁₂ etkinliği için gereklidir.³³

P2Y₁₂ reseptörü G_i aracılıdır. ADP'nin bağlanması G_i proteinini α ve $\beta\gamma$ alt ünitelerine ayırır. $\beta\gamma$ ünitesi trombosit granüllerinden sekresyonu artırır. G_i α ünitesi adenilat siklaz (AC)'ı inhibe ederek siklik adenozin monofosfat (cAMP) seviyesini azaltır. Bu azalma protein kinazların aktivasyonunu engeller. Protein kinazlar artık vazodilatör uyarıcı fosfoprotein (VASP)'i fosforilleyemez. VASP fosforilasyonu glikoprotein IIb-IIIa reseptör aktivasyonunda çok öneme sahiptir. $\beta\gamma$ ünitesi ise; fosfatidilinositol 3 kinazı aktive eder,

böylece P2Y₁₂ aracılı trombosit granül sekresyonunu ve glikoprotein IIb-IIIa reseptör aktivasyonunu sağlar.³⁴ (Şekil 3)



Şekil 3 Klopidoğrel etki mekanizması ve ADP reseptörleri³⁵ (Nguyen ve ark. (2005) Resistance to clopidogrel: A review of the evidence. J Am Coll Cardiol. ‘ den modifiye edilmiştir.)

3.2.2 Klopidoğrel Farmakokinetiği

Klopidoğrel, sitokrom P450 enzim sistemi ile aktif metabolitlerine dönüşen bir ön ilaçtır. Klopidoğrelin ancak az bir kısmı (% 15) P450 ile metabolize olur. Geri kalan kısmı esterazlarla inaktif karboksilik asit türevlerine yıkılır.³⁶

Klopidoğrel standart dozu (75 mg) yaklaşık olarak ADP aracılı trombosit agregasyonunun % 50’sini inhibe eder. Klopidoğrelle yanıt doz ve zaman bağımlıdır. 300 mg yükleme dozu 4 saatte % 38-40 trombosit agregasyon inhibisyonuna, 600 mg ise % 55-59 inhibisyona yol açar.³⁷ 900 mg verilmesi ile ek antitrombositler etkinlik izlenmemiştir.³⁸

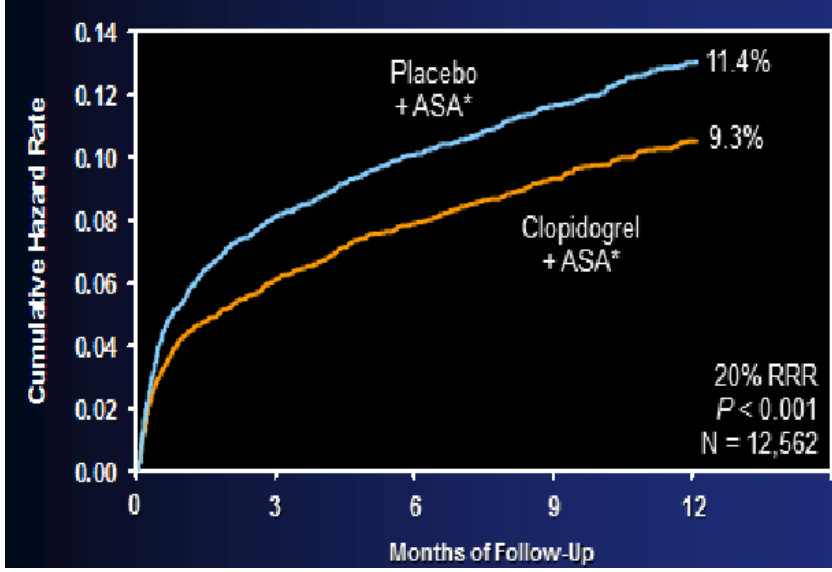
Antiagregan etkinliği yanında klopidogrel, C reaktif protein (CRP) ve aktive olan trombositlerdeki iltihabi belirteçleri azaltır. CD40 ligand ve CD62 P selektin gibi belirteçler perkutan koroner girişimde artar ve klopidogrelle etkinliği düşer.³⁹ Klopidogrel ayrıca trombosit- lökosit bileşimini ST elevasyonlu olmayan miyokard enfarktüsünde (NSTEMI) azaltır.⁴⁰

3.3 KLOPIDOGRELİN KLİNİK KULLANIMI

3.3.1 USAP/NSTEMI ‘da Klopidogrel Kullanımı

USAP(Unstable Angina- Kararsız Angina Pektoris) /NSTEMI (ST elevasyonu olmayan miyokard enfarktüsü) ‘da klopidogrelin etkinliği ile ilgili olarak iki önemli çalışmadan bahsedilebilir: CURE çalışması ve PKG uygulananlardaki alt grup çalışması olan PCI-CURE çalışması.

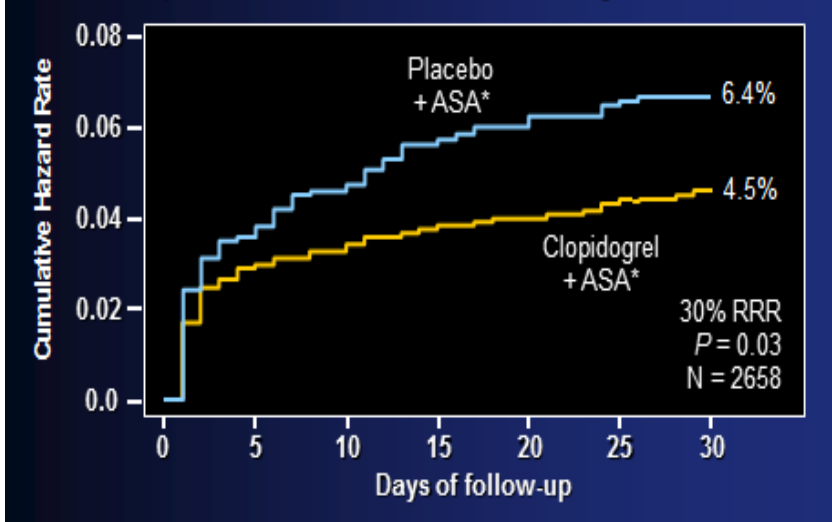
CURE (Clopidogrel in Unstable angina to prevent **R**ecurrent **E**vents) çalışması, USAP veya NSTEMI ile hastaneye başvuran hastalarda yapılmıştır. 12 562 hasta, 300 mg klopidogrel ardından, günde 75 mg klopidogrel ve aspirin ya da sadece aspirin (75-325 mg) almak üzere iki gruba randomize edilip, ortalama 9 ay (3-12 ay arası) takip edilmiştir. İkili antitrombosit tedavisi alan grupta, primer sonlanım noktası olan kardiyovasküler nedenlerle ölüm, ölümle sonuçlanmayan MI ve inmede %20’lik görece risk, % 2.1’lik mutlak risk azalması izlenmiştir. Alt grup analizleri, klopidogrelin faydasının kullanılan diğer ilaç tedavilerinden ve revaskülarizasyon alıp almamasından bağımsız olduğunu göstermiştir. CURE çalışmasında hayatı tehdit eden kanama oranında artış olmasa da, majör kanama klopidogrel grubunda daha fazladır. CURE çalışması, erken girişimsel tedavi uygulanmayan hastalarda yapılmış olup, hastaların bir bölümüne (% 23’üne) revaskülarizasyon uygulanmıştır.⁴¹⁻⁴⁴ Bu nedenle, USAP ve NSTEMI başvuran ve girişimsel tedavi planlanmayan hastalarda aspirin ile birlikte klopidogrel kullanımını destekler yönde veriler sunmaktadır. CURE-alt grup çalışmalarının birinde, klopidogrelen en büyük faydayı daha önce revaskülarizasyon girişimi uygulanmış hastaların aldığı gözlemlenmiştir.⁴²



Şekil 4 CURE çalışmasına göre primer sonlanım noktası açısından plasebo grubu ile klopidogrel grubunun karşılaştırması ⁴¹

(www.clinicaltrialresults.org/Slides/CoreCureSlideKit9-06-011.ppt'den alınmıştır.)

CURE çalışmasının bir alt grubu olan ve PKG yapılmış 2658 hastayı içeren PCI-CURE çalışmasında hastalar, PKG'den önce 300 mg klopidogrel yükleme dozu ile birlikte aspirin veya sadece aspirin olacak şekilde randomize edilmiş, ardından bütün hastalara PKG'den sonra 2-4 hafta boyunca klopidogrel veya tiklopidin verilmiştir. Hastalar, sonrasında sekiz ay için tekrar klopidogrel veya plasebo olacak şekilde randomize edilmiştir. Buradaki temel amaç, PKG öncesi yükleme dozunun ardından uzun süreli klopidogrel tedavi yönteminin, yükleme dozu yapılmadan klopidogrel tedavisi ve PKG sonrası dört haftalık klopidogrel uygulaması yöntemine göre daha iyi olduğunu kanıtlamaktır. Perkütan koroner girişim uygulanması ardından primer sonlanım noktası olarak belirlenmiş olan 30 gün içindeki kardiyovasküler ölüm, MI ve acil hedef damar revaskülarizasyonunda, klopidogrel ile %30'luk görece risk, %1.9'luk mutlak risk azalması ve çalışmanın sonunda kardiyovasküler ölüm ve ölümlle sonuçlanmayan MI'da % 31'lik görece risk azalması izlenmiştir. Klopidogrel'in, PKG öncesinde, birinci ve sekizinci ayın sonunda plaseboya göre daha etkili olduğu kanıtlanmıştır. PCI-CURE çalışması, USAP ve NSTEMI ile başvuran ve girişimsel tedavi uygulanacak hastalarda PKG öncesi başlanan ve işlem sonrasında da devam eden uzun süreli klopidogrel tedavisinin, majör kardiyovasküler olayları hem erken hem geç dönemde azalttığını ortaya koymuştur. ^{43,44}



Şekil 5 PCI-CURE çalışmasında klopidogrel ve plasebo grubunda 30 günlük olay sıklığı karşılaştırması ⁴³ (www.clinicaltrialresults.org/Slides/CoreCureSlideKit9-06-011.ppt'den alınmıştır.)

2011 ESC (European Society Of Cardiology) kılavuzuna göre NSTEMI tedavisinde klopidogrel ile ilgili öneriler şöyledir: ⁴⁵

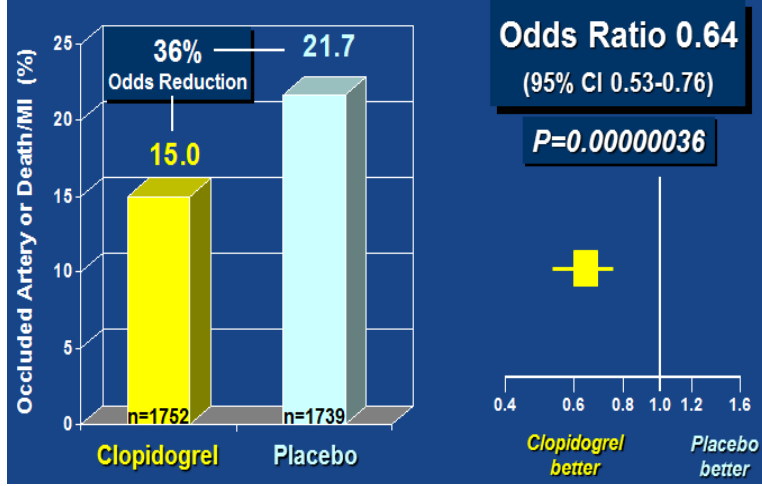
- Klopidogrel, 300 mg yükleme, 75 mg/ gün dozunda prasugrel veya tikagrelor kullanamayan hastalarda önerilir. (*Sınıf I; Kanıt düzeyi A*)
- Klopidogrel, prasugrel veya tikagrelor gibi bir seçenek yoksa, girişimsel yaklaşım izlenecek hastalarda 600 mg yükleme (Ya da 300 mg PKG öncesi, 300 mg PKG sırasında) yapılacak şekilde önerilir. (*Sınıf I; Kanıt düzeyi B*)

3.3.2 ST Elevasyonlu MI'da Klopidogrel Kullanımı

STEMI (ST elevasyonlu miyokard enfarktüsü) 'da klopidogrel kullanımı ile ilgili üç temel çalışma bulunmaktadır: CLARITY TIMI-28, COMMIT/CCS2 ve PCI-CLARITY çalışmaları

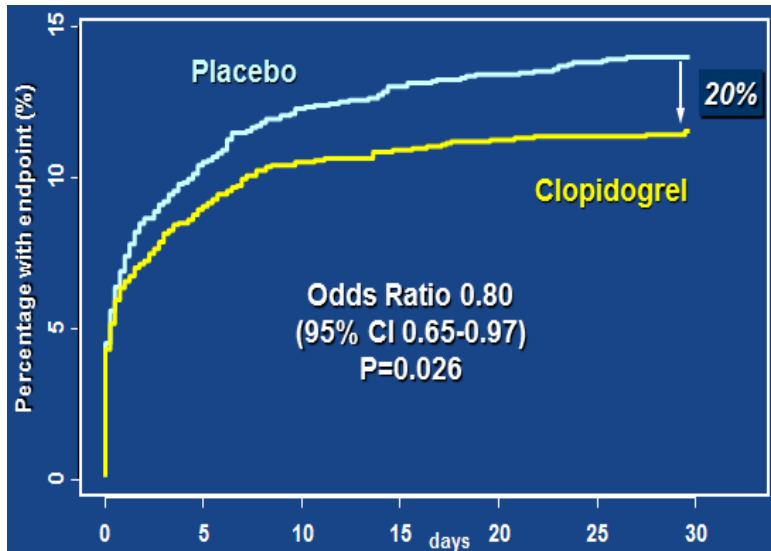
CLARITY-TIMI 28 çalışması (Clopidogrel as Adjunctive Reperfusion Therapy-Thrombolysis in Myocardial Infarction 28) ST yükselmeli Mİ ile başvuran 3491 hastada yapılmış olup, hastalar 300 mg yükleme dozu, ardından 75 mg /gün klopidogrel veya plaseboya randomize edilmiş ve tedavi başlaması ardından sonraki 2-8 günde bütün hastalara koroner anjiyografi uygulanmıştır. Çalışmanın amacı, fibrinolitik tedavi verilmiş, aspirin ve heparin gibi standart tedavileri alan hastalarda, klopidogrelin tüm nedenlere bağlı ölüm, infarkta neden olan arterin tıkanıklığı ve tekrarlayan MI'dan oluşan primer sonlanım noktasını nasıl etkileyeceğini belirtmektedir. Primer sonlanım noktası plasebo grubunda % 21.7,

klopidogrel grubunda %15 bulunmuş, %36 göreceli ve %6.7'lik mutlak risk azalması izlenmiştir. Klopidogrel alan grupta daha iyi koroner akım ve miyokard perfüzyonu sağlanmıştır. Klopidogrel ile plaseboya göre daha az düzeyde ciddi darlık ve infarkta neden olan arterde daha geniş lumen çapı izlenmiş ve intrakoronar trombus daha az görülmüştür. Fibrinolitik, antiagregan ve antikoagulan tedavi almış bu hastalarda, klopidogrel ile majör kanama ve intrakraniyal kanama oranlarında artış izlenmemiştir.^{44,46}



Şekil 6 CLARITY-TIMI 28 çalışmasına göre klopidogrel ile plasebo grubun primer sonlanım noktasının karşılaştırılması⁴⁶

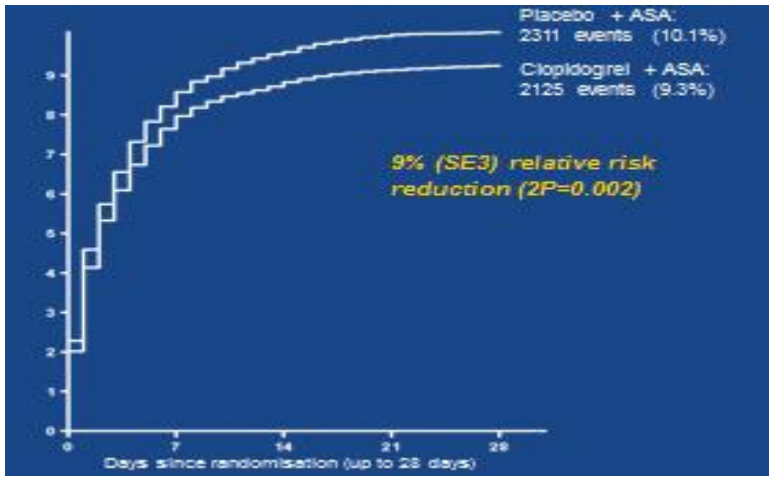
(www.clinicaltrialresults.org/Slides/CLARITYLBCTFINAL.ppt'den alınmıştır)



Şekil 7 CLARITY-TIMI 28 çalışmasına göre 30 günlük olay oranının karşılaştırılması⁴⁶

(www.clinicaltrialresults.org/Slides/CLARITYLBCTFINAL.ppt'den alınmıştır)

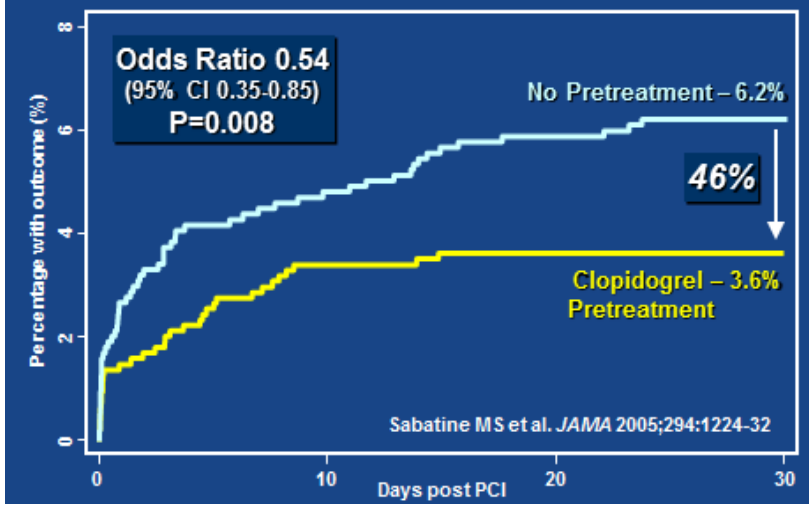
COMMIT/CCS2 (The Clopidogrel Metoprolol Myocardial Infarction Trial/Second Chinese Cardiac Study) çalışması MI çalışmaları arasında en büyük çalışmalardan olup, 45.852 fibrinolitik tedavi uygulanmış hasta alınmış, hastaların tümü aspirin alırken, hastaların yarısı plasebo diğer yarısı da klopidogrel alacak şekilde randomize edilmiştir. Ölüm, tekrarlayan MI ve inmeden oluşan primer birleşik sonlanım noktasında klopidogrel ile % 9 oranında görece risk azalması sağlandığı gösterilmiştir. Ayrıca, bu tedavi hayatı tehdit eden kanamaları arttırmamıştır. COMMIT/CCS2 çalışmasında, aspirine ilave edilen klopidogrelin STEMI geçiren hastalarda fibrinolitik ve antikoagulan gibi standart tedavilerden bağımsız olarak mortalite ve morbiditeyi azalttığı saptanmıştır.^{44,47}



Şekil-8 COMMIT/CCS2 çalışmasına göre klopidogrel ile plasebonun primer son nokta karşılaştırılması⁴⁷ (www.clinicaltrialresults.org/Slides/COMMIT_ACC_clop_final.ppt'den alınmıştır)

CLARITY-TIMI-28 ve COMMIT/CCS2 çalışmaları, fibrinolitik tedavi başta olmak üzere, STEMI tedavisine klopidogrel eklemenin, mortalitede azalma sağladığı ve infarkta neden olan arterin açıklığında artmaya yol açtığını ortaya koymuştur.^{44,46,47}

PCI-CLARITY (The PCI-Clopidogrel as Adjunctive Reperfusion Therapy) çalışmasına CLARITY-TIMI-28 çalışmasına dahil edilen hastalar alınmıştır. Stent uygulanan hastalara en az 300 mg klopidogrel yüklemesi yapılmış ve günde 75 mg dozda devam edilmiştir. Perkütan koroner girişimden önce klopidogrel alanlarda, PKG ardından 30 gün içindeki kardiyovasküler ölüm, tekrarlayan MI ve inmeden oluşan sonlanım noktası, klopidogrel grubunda daha düşük bulunmuştur (%3,6 vs % 6,2; p=0.008). Bu çalışmanın sonuçları, ST yükselmeli MI'da klopidogrelin erken kullanımını ve PKG uygulananlarda işlem öncesi klopidogrel kullanımını desteklemektedir.^{44,48}



Şekil-9 PCI-CLARITY 30-Günlük olay sıklığının karşılaştırılması ⁴⁸

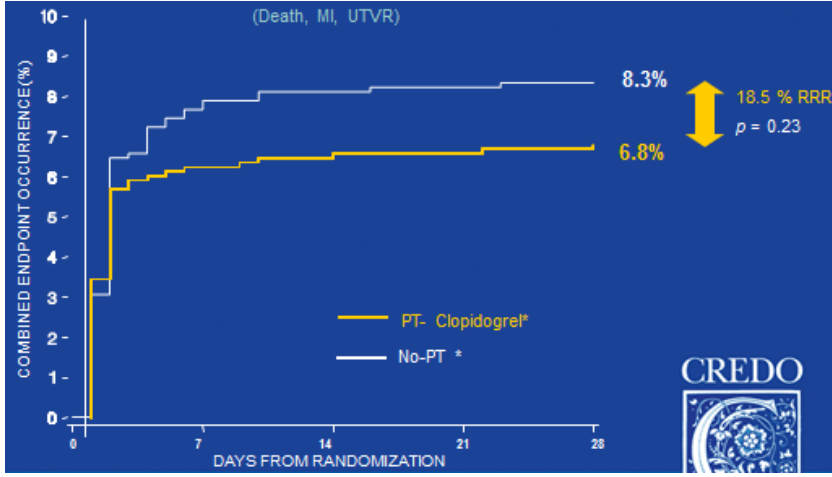
(www.cardiosource.com/img/ClopidogrelACSOoverview.ppt'den alınmıştır.)

ESC 2012 STEMI kılavuzuna göre klopidogrel ile ilgili öneriler şöyledir: ⁴⁹

- Primer PKG uygulandığında; klopidogrel, prasugrel veya tikagrelor bulunmuyorsa veya kontraendike ise önerilir. (*Sınıf I; Kanıt Düzeyi C*)
- Fibrinolitik tedavi uygulandığında; klopidogrel aspirine ek olarak verilmelidir. (*Sınıf I; Kanıt Düzeyi A*)

3.3.3 Perkütan Koroner Girişimlerde Klopidogrel Kullanımı

CREDO (The Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation) çalışması, perkütan koroner girişim uygulanmış hastalarda klopidogrel kullanımının etkinliği ile ilgili olup, elektif olarak PKG uygulanan 2216 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. PKG öncesi bir gruba 3-24 saat önce klopidogrel 300 mg ve aspirin birlikte (Klopidogrel grubu) verilmiş, diğer gruba plasebo ve aspirin (Plasebo grubu) verilmiştir. PKG uygulanması sonrası, tüm hastalara aspirin ve klopidogrel, 28 gün boyunca verilmiştir. Ardından, klopidogrel grubunda 1 yıl boyunca klopidogrel vermeye devam edilmiş, diğer grupta ise kesilmiştir. PKG öncesi klopidogrel yüklemesi yapılan klopidogrel grubu ile plasebo grubu arasında primer sonlanım noktası olan ölüm, MI ve acil revaskülarizasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmamıştır. (Plasebo: % 8.3, klopidogrel % 6.8, p=0.23) ^{44,50}



Şekil-10 CREDO çalışması PKG öncesi klopidogrel yükleme grubunda primer sonlanım noktası karşılaştırması⁵⁰

(www.theheart.org/documents/nonMenuItems/823207/ppt/credo_030303.ppt'den alınmıştır)

PKG'den 3-6 saat, 6-12 saat ve 24 saat önce verilmesi karşılaştırıldığında, sadece PKG'den en az altı saat önce klopidogrel verilen hastalarda 28 gün sonunda plaseboya göre %37'lik görece risk azalması olduğu görülmüştür. Ancak, bu farklılık istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. ($p=0.051$). PKG uygulanması ardından sadece dört hafta boyunca klopidogrel kullanan grupla ile klopidogrele bir yıl boyunca devam eden grup kıyaslandığında, klopidogrele devam eden grupta primer sonlanım noktaları açısından %44,4'lük görece ve %3'lük mutlak risk azalması olduğu gösterilmiştir.^{44,50}

Elektif PKG'den en az altı saat önce 300 mg yükleme dozunda verilen klopidogrel, konvansiyonel antitrombosit tedavi yöntemi olarak bilinmektedir. ISAR-CHOICE çalışmasında (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose Between 3 High Oral Doses for Immediate Clopidogrel Effect), 300, 600 ve 900 mg'den oluşan üç farklı klopidogrel dozunun antitrombosit etkileri karşılaştırılmış; 300 mg klopidogrelden 600 mg'ye çıkmak daha fazla plazma konsantrasyonu ve daha fazla trombosit inhibisyonu sağlarken, dozun 600 mg'den 900 mg'ye çıkarılmasının ek bir faydasının olmadığı görülmüştür.^{38,44}

BASKET-LATE çalışmasında (Basel Stent Kosten Effektivitats Trial) hasta grubunun büyük bir kısmı AKS hastaları olup, paklitaksel kaplı, sirolimus kaplı ve düz metal stent takılan hastalar altı ay boyunca klopidogrel kullanmış, ardından klopidogrel kesilmiştir. Altı ay boyunca kardiyovasküler olay gelişmeyen olan hastalar, klopidogrel kesilmesinin ardından geç trombotik olaylar açısından bir yıl boyunca izlenmiştir. Bu çalışma, klopidogrel

tedavisine ne kadar süre devam edilmeli sorusunu yanıt aramaktadır.⁵¹ İlaç kaplı stent takılan hastalarla, düz metal stent takılan hastalar karşılaştırılmış ve klopidogrel kesildikten sonraki bir yıl içinde primer sonlanım noktası olan kardiyak ölüm veya Mİ ilaç kaplı stent grubunda daha fazla bulunmuştur. (% 4.9 vs % 1.3; p=0.01). Ayrıca, ölümlerle sonuçlanmayan Mİ ve kardiyak ölüm oranları da ilaç kaplı stent grubunda daha fazla izlenmiştir. Restenoz oranları ise her iki stent grubunda benzer düzeydedir. Anjiyografik olarak gösterilen tromboz ve trombotik klinik olaylar olarak tanımlanan geç stent trombozu, ilaç kaplı stent grubunda %2.6 iken, düz metal stent grubunda ise %1.3 oranındadır. Ancak, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0.23). BASKET LATE çalışmacıları, geç stent trombozunun önlenmesi için klopidogrel-aspirin ile oluşan ikili antitrombosit tedaviye daha uzun süre devam etmenin geçici çözüm seçenekleri arasında en iyisi olduğunu belirtmişlerdir.⁴⁴

2010 ESC Miyokardiyal Revaskülarizasyon kılavuzuna göre klopidogrel ile ilgili öneriler şu şekildedir:⁵²

- Elektif PKG uygulanan vakalarda klopidogrel verilmelidir. (*Sınıf I; Kanıt Düzeyi A*)
- Elektif PKG öncesi > 6 saat öncesinde 300 mg, > 2 saat öncesinde 600 mg yükleme dozu önerilir. (*Sınıf I; Kanıt Düzeyi C*)

3.4 KLOPIDOGREL DİRENCİ

Aspirin ve klopidogrel in akut koroner sendromlu veya perkutan koroner girişim uygulanmış hastalarda ikili kullanımı, mevcut ACC/AHA ve ESC kılavuzlarına göre standart tedavi yöntemidir.^{53,54} Bu tedaviye rağmen bazı hastalar en kötüsü stent trombozu olacak şekilde tekrarlayan iskemik olaylar geliştirebilir.⁵⁵ Klopidogrele antitrombosit yanıtı hastalar arasında değişebilmektedir.⁵⁶ Trombosit aktivitesinde yetersiz azalma olan hastalar düşük yanıtlı, yanıtız veya dirençli hastalar olarak nitelendirilir.

Klopidogrel direnci veya diğer bir deyişle klopidogrel yanıtızlığı, yeterli düzeyde antitrombosit tedavite rağmen klopidogrel in hedefi olan P2Y12 reseptörünün devam eden aktivitesi olarak tanımlanır.⁵⁷ Klopidogrel direnci farklı toplumlarda % 4 ila 44 arasında değişir.⁵⁸ Laboratuvar olarak klopidogrel direnci rezidüel trombosit aktivitesini tespit eden test ve seçilen eşik değere göre değişir. Örneğin, optik agregometri testinde yüksek rezidüel trombosit aktivitesini belirlemede trombosit inhibisyonunun % 20'den az oluşu baz alınır.⁵⁹ Gurbel ve ark. göre ise tedavi öncesi ve sonrası ADP ile uyarılan trombosit agregasyonu

arasındaki fark \leq %10 ise klopidogrel direnci sözkonusudur.⁵⁶ Verify Now © P2Y12 testinde ise eşik değer olarak 230-240 PRU (*P2Y12 Reaction Unit*) değeri belirlenir. Çünkü bu PRU aralığının klinik olumsuz olaylarla yüksek korelasyon gösterdiği ortaya konmuştur.⁶⁰

3.4.1 Klopidogrel Direnci Mekanizmaları

Klopidogrel direnç mekanizmaları tam olarak ortaya konamamıştır. Olası mekanizmalar şu şekilde sınıflanabilir:⁵⁶

Klinik Faktörler

- Kötü hasta uyumu
- Yetersiz absorpsiyon
- Dozun yetersizliği
- Akut koroner sendrom (Trombosit aktivitesi artmış)
- Diabettes Mellitus /İnsülin direnci
- Artmış vücut kitle indeksi
- Karaciğer P glikoprotein üzerinden ilaç etkileşimi
- CYP2CA4 enzim sistemi üzerinden ilaç etkileşimi

Hücrel Faktörler

- Artmış trombosit yıkımı
- Artmış ADP salınımı
- Trombosit yüzeyinde P2Y12 reseptör yoğunluğunun azalması

Genetik Faktörler

- P2Y12 reseptör polimorfizmi
- CYP3A ve CY2C19 gen polimorfizmi

3.4.2 Klopidogrel Direncinin Klinik Önemi

Çok sayıda çalışma yetersiz düzeyde trombosit inhibisyonunun tekrarlayan olumsuz klinik olaylar, stent trombozu ve işlem sonrası MI ile ilişkili olduğunu göstermiştir.⁶¹ Bu çalışmalar STEMI, NSTEMI nedeniyle PKG uygulanmış veya elektif olarak PKG uygulanmış hastaları içermektedir. (Tablo 2). Bunların içerisinde stent trombozu ciddi bir komplikasyon olarak ayrıca sunulmuştur. (Tablo 3)

Çalışma	Yıl	Hasta Sayısı	Hasta Popülasyonu	Klopidogrel Dozu (mg) YD/İD	Klopidogrel Direnç Testi	Takip Süresi (ay)	Klinik Sonuç
Metetsky ve Ark.	2004	60	STEMI hastalarında Primer PKG	300 / 75	LTA (ADP 5 µmol/L)	6	Tekrarlayan Kardiyovasküler olay: 1. çeyreğin %40'ı 2. çeyreğin %6.7'si 3. ve 4. çeyrekte izlenmedi
Gurbel ve Ark.	2005	192	Acil olmayan PKG	300 veya 600 / 75	LTA (ADP 20 µmol/L)	6	KV Ölüm, MI, UA, inme: 38 hastada daha yüksek trombosit agregasyon değeriyle primer sonnoktaya ulaşıldı (%6±12% vs. %6±13%, p=0.02)
Cuisset ve Ark.	2006	106	NSTEMI hastalarında PKG	300 / 75	LTA (ADP 10 µmol/L) veya (Araşidonik asit 1 mg / mL)	1	KV Ölüm, stent trombozu, inme veya tekrarlayan AKS: ilk çeyrek vs. diğer çeyrekler: OR 22.4, %95 CI 4.9-109
Hochholzer ve Ark.	2006	802	Elektif PKG	600 / 75	LTA (ADP 5 µmol/L)	1	MACE değeri: 4. çeyrek %3.5, 3. çeyrek %3.1, 2. çeyrek %0.5, 1. çeyrek %0.5
Geisler ve Ark.	2006	329	Kararlı Angina veya AKS için PKG	600 / 75	LTA (ADP 20 µmol/L)	3	KV Ölüm, MI, inme: HR 3.71, %95 CI, 1.08-12.69, p=0.037
Bilden ve Ark.	2007	100	Acil olmayan PKG	-/en az bir ay 75 mg	LTA (ADP 5 µmol/L) veya (Araşidonik asit 1 mg / mL)	12	Klopidogrelle yüksek trombosit reaktivitesi olan veya olmayanlarda %70 vs. %8 iskemik olay p=0.001
Fatti ve Ark.	2008	160	PKG (STEMI çıkarılmış)	600 / 75	VerifyNow P2Y12	1	Kardiyak Ölüm, MI, HDR: ilk çeyrek vs. diğer çeyrekler: OR 6.1, %95 CI, 1.1-18.3, p=0.033
Price ve Ark.	2008	380	İlaç kaplı stent ile PKG	600 / 75	VerifyNow P2Y12	6	KV Ölüm, MI: daha yüksek kardiyovasküler ölüm (%2.8 vs. %0; p=0.04), birleşik sonnokta (%6.5 vs. %1; p=0.008)
Marcucci ve Ark.	2009	683	AKS nedeniyle PKG	600 / 75	VerifyNow P2Y12	12	KV Ölüm: HR 2.53, %95 CI 1.08-6.07, p=0.034 Ölümlü olmayan MI: HR 3.38, %95 CI, 1.49-7.58, p=0.04

Tablo 2 Klopidogrel direncinin klinik sonuçlarına ilişkin yapılan çalışmaların değerlendirmesi ⁶¹ (Vlachojannis GJ, Dimitropoulos G, Alexopoulos D. Clopidogrel Resistance: Current Aspects and Future Directions. Hellenic J Cardiol 2011; 52: 236-245)

Çalışma	Yıl	Hasta Sayısı	Hasta Popülasyonu	Klopidogrel Dozu (mg)	Klopidogrel Direnç Testi	Takip Süresi (ay)	Stent Trombozu
Barragan ve Ark.	2003	1684	Koroner stentli hastalar	/150	VASP	1	SAT gelişmiş hastalarda daha yüksek trombosit reaktivitesi (%63.3 vs. %39.8 p<0.0001)
Ajzenberg ve Ark.	2005	10 SAT hastası ve 22 kontrol	Koroner stentli hastalar	300 / 75	SIPA	1	- SAT gelişmiş hastalarda daha yüksek trombosit reaktivitesi (p=0.0008)
Gurbel ve Ark.	2005	20 SAT hastası ve 100 kontrol	Koroner stentli hastalar	300	LTA (ADP 5 ve 20 µmol/L)	1	- SAT gelişmiş hastalarda daha yüksek trombosit reaktivitesi (%65.3 vs. %51.2; p=0.001)
Buonamici ve Ark.	2007	804	Herhangi bir nedenle ilaç salınımlı stent	600 / 75	LTA (ADP 10 µmol/L)	6	Stent trombozu yanıt vermeyenlerde %8.6, yanıt verenlerde %2.3 p<0.001 HR 3.08 %95 CI, 1.32-7.16; p=0.009
Price ve Ark.	2008	380	Herhangi bir nedenle ilaç salınımlı stent	600 / 75	VerifyNow P2Y12	6	Yanıt vermeyenlerde daha yüksek stent trombozu oranı (%4.6 vs. %0, p=0.004)
Geisler ve Ark.	2010	1019	Herhangi bir nedenle PKG	600 / 75	LTA (ADP 20 µmol/L)	3	Stent trombozu hastalarında daha yüksek trombosit agregasyonu (p=0.003)

Tablo 3 Klopidogrel direnci ilişkili olarak stent trombozu çalışmalarının değerlendirilmesi ⁶¹

3.4.3 Klopidoğrel Direncinin Tespitinde Kullanılan Laboratuvar Yöntemler

Hastanın klopidoğrelle yanıtı değişik yöntemler ile tespit edilebilir. Bu yöntemler arasında Optik Agregometri (Turbidimetrik Trombosit agregasyonu – *Light transmittance Agregometry- LTA*) trombosit fonksiyon testleri arasında altın standart olarak kabul edilir.

Fakat zaman alıcı olması, teknik bilgi gerektirmesi nedeniyle özelleşmiş laboratuvarlar ile sınırlanmıştır.⁶²

Yapılan çalışmalarda farklı trombosit fonksiyon testlerinden LTA ile en güçlü korelasyonu Verify Now © P2Y12 testi göstermektedir.⁶³ POPULAR çalışması 6 farklı trombosit testini karşılaştırmıştır (LTA, VerifyNow © P2Y12, Platelet Works, Impact- R, PFA-100, Innovance PAF P2Y).⁶⁴ Klinik sonuçlara göre, altın standart kabul edilen LTA ile en yüksek korelasyon Verify Now testi ile saptanmıştır. Ayrıca, VerifyNow ve daha az oranda LTA'nın, klopidoğrelin aktif metabolitinin plazma seviyesi arasında yüksek korelasyon olduğu ortaya konmuştur.⁶⁵

Trombosit fonksiyon ölçüm yöntemleri şu şekilde sınıflandırılabilir:

1. ADP ile stimülasyon yöntemleri

- Optik Agregometri- Turbidimetrik trombosit agregometri-LTA
- VerifyNow P2Y12
- İmpedans platelet agregometri (WBA)
- Plateletwoks
- Platelet Function Analyzer-100 – PFA-100

2. P2Y12 için spesifik test: VASP Fosforilasyon (Flow sitometri)

3.4.3.a Optik Agregometri (Turbidimetrik Trombosit Agregasyonu)

Light Transmittance Agregometry-LTA olarak bilinen bu yöntem 1960'larda bulunmuş, trombosit fonksiyon testleri arasında altın standart kabul edilmiştir. Testte ekzojen trombosit agonistine yanıt sonucunda meydana gelen trombosit agregasyonunun, ışık geçirgenliğinde oluşturduğu artış ölçülür, ancak lipemi ve hemoliz ile sonuç etkilenir. Yaygın kullanımına rağmen laboratuvarlar arasında ciddi farklılıklar vardır. Diğer dezavantajları ise trombosit zengin plazma, yüksek örnek hacmi gerektirmesi, zaman tüketici bir işlem olmasıdır.^{66,67}



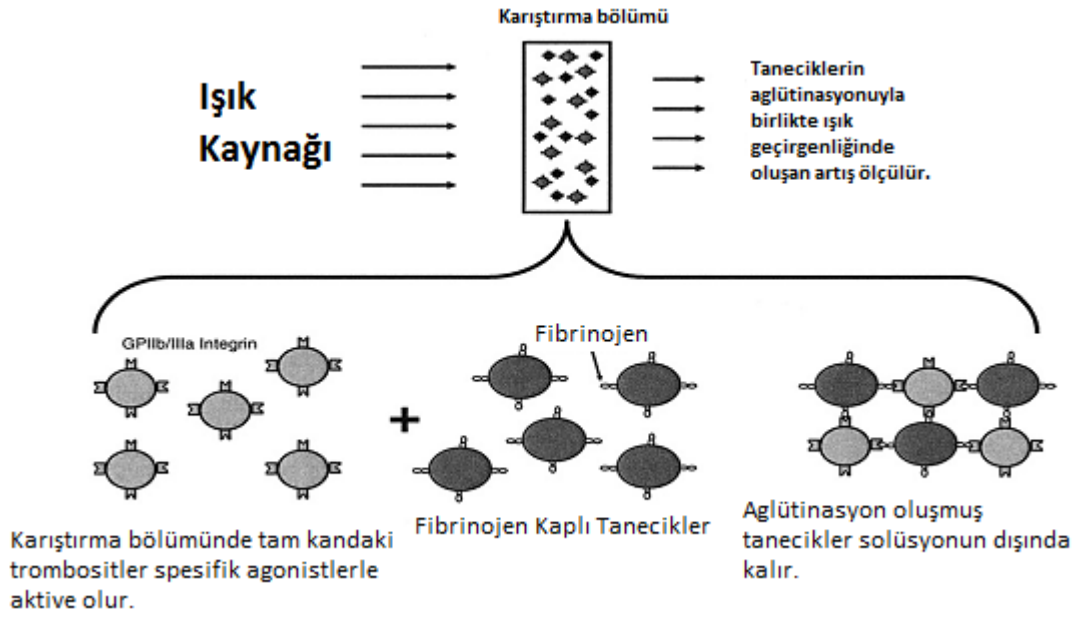
Şekil 11 Sekiz kanallı ve dört kanallı Optik Agregometri (Light Transmittance Agregometry-LTA) (Pakala R. Currently available methods for platelet function analysis: advantages and disadvantages. Cardiovascular Revascularization Medicine, Volume 12, Issue 5, Pages 312-322'den alınmıştır)

3.4.3.b VerifyNow ©P2Y12:

VerifyNow sistemi sitratlı tam kanda, fibrinojen kaplı taneciklerin agonistle uyarılmasına dayalı bir sistemdir. Bu agonistler karıştırma bölümünde bulunan ADP, TRAP (thrombin receptor-activating peptide) ve araşidonik asittir. Antikoagüle kanın karıştırma bölümüne eklenmesinin ardından trombositler aktive olur. Trombosit yüzeyindeki aktive olmuş GpIIb/IIIa reseptörlerine taneciklerin fibrinojen aracılığı ile bağlanması sonucu, trombosit agregasyonu oluşur. Ardından ışık geçirgenliğindeki değişim P2Y12 reaksiyon ünitesi (PRU) olarak belirtilir. Basit ve hızlı bir test olması, az miktarda kanın yeterli olması gibi avantajlara sahiptir. Test için hematokrit ve trombosit sayısı önemlidir.^{66,67}



Şekil 12 VerifyNow sistemi (Karon B. ve ark. Laboratory Methods for Evaluating Effectiveness of Anti-platelet Therapy. Clinical Laboratory News April 2011: Volume 37, Number 4 'ten alınmıştır)



Şekil 13 Verify Now © P2Y12 testinin ölçüm mekanizması (Michelson A. Methods for the Measurement of Platelet Function. Am J Cardiol 2009;103[suppl]:20A–26A’den alınmıştır)

3.4.3.c Plateletworks:

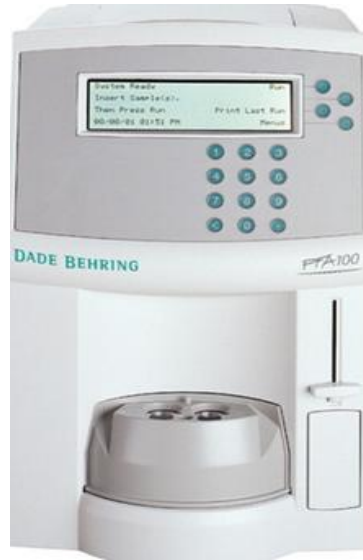
Plateletworks, GpIIb/IIIa ile bağlantılı trombosit agregasyonunu ölçen diğer bir metod olup, trombosit sayısının agonistle ve agonistsiz karşılaştırılmasına dayanır. Tam kanda çalışması ve az miktarda kan örneğinin yeterli olması gibi avantajları yanında, çok fazla çalışılmamış olması gibi dezavantajları da vardır.^{67,68}



Şekil 14 Plateletworks sistemi (Pakala R. Currently available methods for platelet function analysis: advantages and disadvantages. Cardiovascular Revascularization Medicine, Volume 12, Issue 5, Pages 312-322’den alınmıştır)

3.4.3.d Platelet Function Analyzer-100 – PFA-100

PFA-100, sitratlı tam kanda CEPİ (kolajen-epinefrin) veya CADP (kolajen- ADP) ile kaplı bir açıklık içeren kartuşların yüksek kesme hızlarında aspire edilmesine dayalı bir sistemdir. Bu agonistler, trombosit agregasyonunu uyararak açıklığın kapanmasına ve kan akımının durmasına neden olur. Açıklığın kapanmasına kadar geçen süreye kapanma zamanı ismi verilir. PFA-100 ayrıca, fizyolojik kesme hızını gösterir ve in vitro kanama zamanı cihazı olarak bilinir. Avantajları; basit olması, hızlı sonuç vermesi, örnek hazırlamaya gerek olmayışı ve tam kanda çalışılabilmesidir. En önemli dezavantajları ise kapanma zamanının Von willebrand faktör düzeyi ile hematokrite bağımlı olması ve klopidogrele olan yanıtı izlemede yetersiz olmasıdır. ^{66,67,69}



Şekil 15 PFA-100 sistemi (Pakala R. Currently available methods for platelet function analysis: advantages and disadvantages. Cardiovascular Revascularization Medicine, Volume 12, Issue 5, Pages 312-322'den alınmıştır)

3.4.3.e Tam Kanda İmpedans Agregometri (Whole Blood Aggregometry- WBA)

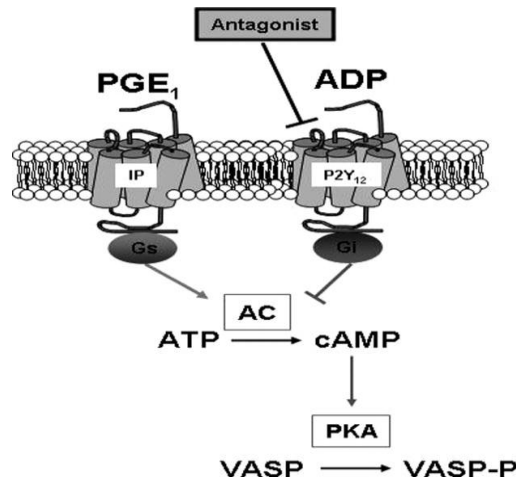
İmpedans Agregometri, iki ince elektrod yüzeyinde trombositler toplandıktan sonra, bağlanan trombositlerin elektrotlar arasında elektriksel impedansı arttırmasına dayanan ve antikoagüle edilmiş tam kanda çalışılan bir yöntemdir. İmpedans agregometrenin en önemli avantajları daha fizyolojik olması ve trombositten zengin plazmanın ayrılmasına ihtiyaç duyulmamasıdır. Buna karşın, impedans agregometre daha fazla kan hacmi gerektirir, daha zaman alıcı ve daha pahalıdır. ^{67,69}



Şekil 16 WBA sistemi- Tam Kanda İmpedans Agregometri (Pakala R. Currently available methods for platelet function analysis: advantages and disadvantages. Cardiovascular Revascularization Medicine, Volume 12, Issue 5, Pages 312-322’den alınmıştır)

3.4.3.f Vazodilatör-Uyarıcı Fosfoprotein Fosforilasyonu (VASP-Fosforilasyon)

VASP fosforilasyon aracılığı ile P2Y12 inhibisyonunu ölçümü için flow sitometri kiti gerekmektedir. VASP, intraselüler bir protein olup bazal durumda fosforile olmayıp, cAMP aracılı bir döngü ile fosforile olur. Bu döngü, Prostaglandin E1 ile aktive olur; ADP ile inhibe olur. VASP fosforilasyonu P2Y12 inhibisyonunu gösterirken, defosforilasyon P2Y12 reseptör aktivitesini gösterir. cAMP, protein kinaz-A’yı aktive eder, bu da VASP’ ı fosforilleyerek VASP-P’ye çevirir. ADP ve Prostaglandin E1 varlığında, VASP-P düzeyi, P2Y12 inhibisyonu ile orantılıdır. ^{66,67,70,71}



Şekil 17 VASP fosforilasyonu (Michelson A. Methods for the Measurement of Platelet Function. Am J Cardiol 2009;103[suppl]:20A–26A’den alınmıştır)

VASP yönteminin avantajları, klopidogrelin hedefi olan P2Y12 ile bağlantılı olması, az miktarda kan gerektirmesi ve tam kanda ölçüm yapılmasıdır. Bunun yanında, sitratlı kan tüplerinde bekletilip, topluca çalışılabilmesi nedeniyle klinik çalışmalar için uygundur.⁷² Dezavantajları ise flow sitometri kiti ve tecrübeli teknisyen gerektirmesidir.⁶⁷

Test	Fonksiyon	Olumlu Yönleri	Kısıtlılıkları
LTA	ADP ile uyarılmış trombosit zengin plazmada agregasyonu aydınlatma gücü olarak ölçer	Altın Standart olarak kabul edilir	Zaman, işgücü ve tecrübe gerektirir
VASP	Adenilat siklazın inhibisyonu yoluyla VASP fosforilasyonunun inhibisyon düzeyini ölçer	P2Y12 için spesifiktir	Pahalı, zaman alıcı Flow Sitometri gerektirir
PFA-100	Vasküler hasar sonrasında gelişen trombosit zengin trombüs oluşumunu taklit ederek trombosit agregasyonunu hesaplar	Basit ve Hızlıdır	Von Willebrand faktöre ve trombosit sayısına bağlıdır. LTA ile zayıf korelasyon gösterir.
WBA	ADP eklenmesinin 5 dakika sonrasında tam kanda iki elektrot arasındaki elektriksel direnci ölçer	Antitrombosit etkiye daha duyarlıdır. Örnek daha rahat hazırlanır	Spesifik değildir. LTA ile zayıf korelasyon gösterir.
VerifyNow	Fibrinojenle kaplı tanecikler içeren sistemde trombosit agregasyonunu ölçer. ADP trombosit agonisti olarak, PGE1 ise hücre içi serbest kalsiyumu baskılayıcı olarak bulunur	Hızlı,otomatik kullanımı kolay, tecrübe gerektirmez, LTA ile en iyi korelasyon veren testtir	Cihazın ayarı yoktur

Tablo 1 Trombosit Fonksiyon Testlerinin Karşılaştırması (Vlachojannis et al. Clopidogrel Resistance: Current Aspects and Future Directions. Hellenic J Cardiol 2011; 52: 236-245'ten alınmıştır.)

3.5 GENETİK DEĞİŞKENLİK VE CYP2C19 GEN POLİMORFİZMİNİN KLOPIDOGREL METABOLİZMASINA ETKİSİ

Sitokrom P450 (CYP450) enzim sistemi ilaç metabolizmasında çok önemlidir. Çoğunlukla karaciğerden sentezlenmekle birlikte, akciğer, karaciğer ve bağırsakta da bulunabilir. Sitokrom P450 enzimleri renkli (*chrome*), hüresel (*cyto*) proteinler olup hem pigmentleri (*P*) barındırır. Bu pigmentlerde karbon monoksit maruz kaldığında 450 nm dalga boyunda ışığı absorbe eder. 50'den fazla CYP450 enzimi vardır. CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5 ilaçların % 90'ından fazlasını metabolize eder.⁷³

Hepatik CYP450 enzim sisteminde de, P2Y12 reseptörlerinde de polimorfizmin klopidogrel yanıtı etkileyeceği düşünülür. Son çalışmalarda ise P2Y12 genetik polimorfizmin etkisinin daha az olduğu, buna karşın CYP450 enzim polimorfizminin klopidogrel yanıtında etkili olduğu gösterilmiştir.⁷⁴

Klopidogrel aktivasyonu kısmen CYP3A (A4 ve A5'ten oluşur) sistemince yönetilir. ⁷⁵ CYP3A4 karaciğerde baskın olan formdur. CYP3A5 ise karaciğerde polimorfik olarak sunulur, total CYP3A aktivitesinin % 50'sini oluşturabilir. ⁷⁶ Klopidogrel CYP3A4 ile metabolize olduğu saptanmasının ardından, diğer CYP3A substratları (örneğin atorvastatin) ile birlikte kullanılırsa etkinliğinin düşeceği tezi ortaya atıldı. ⁷⁷ Pravastatin ise CYP3A ile metabolize edilmediğinden bu tür etkiye olmadığı belirtildi. Ayrıca, rifampisin, CYP3A4 aktivitesini artırarak klopidogrel antitrombotik etkinliğini arttırdığı; buna karşın ketakonazolün CYP3A4 inhibitörü olarak klopidogrel metabolizmasını azalttığı saptanmıştır. ⁷⁸

Angiolillo ve ark. CYP3A4 geni IVS10+ 12G > A polimorfizminin klopidogrel etkinliğini azaltabileceğini ve trombosit aktivasyonunu değiştirebileceğini göstermiştir. ⁷⁹ CYP3A5 polimorfizmi ise kişiler arası klopidogrel yanıtı farklılığında daha az öneme sahiptir. ⁸⁰ CYP3A5 ile ilgili bir çalışmada ise CYP3A5 ekspresor genotipe sahip olanlarda, non ekspresor genotipe sahip olanlara göre daha fazla klopidogrel yanıtı olduğunu göstermiştir. Yine non ekspresor genotipe sahip olanlarda stent implantasyonu sonrası daha fazla olumsuz olay gerçekleşmiştir. ⁸¹

3.5.1 CYP2C19 Ve Klopidogrel Direnci

CYP2C19, CYP450 enzim sistemi içerisinde klopidogrel yanıtı en çok incelenmiş enzimlerden biridir. CYP2C19 klopidogrel metabolizmasındaki 1. aşamanın %45'i; 2. aşamanın ise %20'sinden sorumludur. Sağlıklı gönüllü bireylerde yapılmış farmakogenetik bir çalışmada klopidogrel yanıtının CYP2C19 genetik durumundan fazlasıyla etkilendiği gösterilmiştir. ⁸² CYP2C19 polimorfizmi etnik gruba ve genetik yapıya göre bağlı olmakla birlikte % 30 ila % 55 arasında değişmektedir. ⁸³ Klopidogrel yanıtını hem farmakodinamik hem de farmakokinetik olarak etkilemektedir.

CYP2C19 oldukça polimorfik olup 25'ten fazla bilinen alleli mevcuttur. Bunlar içerisinde CYP2C19*1 alleli normal fonksiyonlu olup, en sık fonksiyon kaybı (*loss-of-function*) ile seyreden alleli CYP2C19*2 allelidir. CYP2C19*2 ve *3 total polimorfizmin % 85-90'unu oluşturur. Buna tezat biçimde, klopidogrel artmış aktivitesi ile seyreden alleli ise CYP2C19*17 allelidir. CYP2C19 genotipine bağlı olarak oluşan fenotipler 4 gruba ayrılmıştır: Çok hızlı metabolize edenler, yoğun (ya da normal) metabolize edenler, orta düzeyde metabolize edenler ve zayıf metabolize edenler. ⁸⁴ (Tablo 4)

Fenotip	Genotip	DiploTip Örnekleri
Çok hızlı metabolize ediciler: Normal veya artmış aktivite (hastaların %5 - %30'u)	İki tane artmış aktiviteli allel (*17) veya bir normal (*1) + bir artmış aktiviteli allel (*17)	*1/*17, *17/*17
Yoğun metabolize ediciler: Homozigot normal aktivite (wild type) (hastaların %35-%50'si)	İki fonksiyonel allel içeren bireyler (*1)	*1/*1
Orta derecede metabolize ediciler: Heterozigot veya orta derecede aktivite (hastaların %18-%45'i)	Bir fonksiyonel allel (*1) + bir fonksiyon kaybı alleli (*2-*8)	*1/*2, *1/*3
Düşük metabolize ediciler: Homozigot, mutant, düşük veya yetersiz aktivite (hastaların %2-%15'i)	İki fonksiyon kaybı içeren allellerde (*2-*8)	*2/*2, *2/*3, *3/*3

Tablo 4 CYP2C19 genotipine göre fenotip sınıflaması (Scott et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450-2C19 (CYP2C19) genotype and clopidogrel therapy. Clin Pharmacol Ther 2011'den modifiye edilmiştir)

En az bir düşük fonksiyonlu CYP2C19 alleleline sahip olmak, sağlıklı gen taşıyanlara göre plazmadaki aktif metabolitte % 32.4 azalmaya neden olduğu gösterilmiştir.⁸⁵ Bu durum özellikle CYP2C19*2 alleli için geçerlidir. 1400 hastadan fazla akut koroner sendrom geçiren, aspirin ve klopidogrel kullanan hastanın olduğu Giusti ve ark. yaptığı çalışmada CYP3A4 IVS10+12G/A ve CYP2C19*2 ve P2Y12 reseptörü (P2Y12 T744C) polimorfizminin trombosit fonksiyonu üzerine etkisi incelenmiştir.⁸⁶ Sadece yüksek riskli, klopidogrel alan hastaların CYP2C19*2 gen polimorfizmi durumunda yüksek trombosit reaktivitesi gösterdiği ortaya konmuştur. Başka bir çalışmada Frere ve ark. 600'ün üstünde NSTEMI vakasında CYP3A4, CYP3A5 ve CYP2C19 polimorfizminin klopidogrel yanıtına etkisi araştırmıştır.⁸⁷ Sonuçta CYP2C19*2 alleli, CYP3A4*1B ve CYP3A5*3 ile kıyaslandığında ADP 'ye daha fazla trombosit yanıtı oluşturduğu saptanmıştır.

EXELSIOR (Impact of Extent of Clopidogrel-Induced Platelet Inhibition During Elective Stent Implantation on Clinical Event Rate) çalışmasında ise 797 hasta PKG sonrası 1 yıl ikili antitrombosit tedavi altında takip edilmiştir.⁸⁸ CYP2C19*2 fonksiyon kaybı polimorfizmine sahip olanların homozigot olanlara göre 600 mg yükleme dozu sonrası daha yüksek rezidüel trombosit agregasyonu (RPA) gösterdiği ortaya konmuştur. Bu durum hem klopidogrel yükleme dozu sonrası hem de taburculuk öncesi geçerlidir.

CYP2C19*2 gen polimorfizminin klinik yansıması da incelenmiştir. Collet ve ark. yaptığı çalışmada 18-45 yaşları arasında MI geçirmiş 378 hastada CYP2C19*2 gen polimorfizmi bakılmış.⁸⁹ Primer sonlanım noktası kardiovasküler ölüm, ölümlle sonuçlanmayan MI, acil revaskülarizasyon olarak belirlenmiştir. Yeni kardiovasküler olaya riski ve stent trombozu CYP2C19*2 polimorfizmine sahip olanlarda daha fazla bulunmuştur. Sibbing ve ark.'nın yaptığı 2485 perkutan koroner girişim uygulanmış hastada 600 mg yükleme dozu sonrası 30 gün içerisinde stent trombozu incelenmiş ve CYP2C19*2 alleleline sahip olanlarda daha fazla olduğu saptanmıştır.⁹⁰ RECLOSE (Low Responsiveness to Clopidogrel and Sirolimus- or Paclitaxel-Eluting Stent Thrombosis) çalışmasına göre CYP2C19*2 polimorfizminin stent trombozu için bağımsız risk faktörü olduğu ortaya konmuştur.⁹¹

Aynı düzeyde çalışma olmamakla birlikte CYP2C19*3 allelinde de benzer bir sonuç elde edilmiştir. Lee ve ark. tarafından yapılan 387 klopidogrel kullanan hastada CYP2C19*3 allelinde klopidogrel direnci için bağımsız bir risk faktörü olabileceği belirtilmiştir.⁹²

3.5.2. İlaç-ilaç Etkileşimleri

Proton pompa inhibitörleri (PPI)

Klopidogrel direnci konusunda çok araştırılan ilaç gruplarından biri proton pompa inhibitörleridir. İkili antitrombosit tedavi gastrointestinal kanama riskini de beraber getirmiştir. Bu durum oluşursa ilaçları kesilmesine neden olacaktır ve sonuçta koroner stent uygulanımı sonrası olumsuz sonuçlara neden olacaktır. Bu sebepten proton pompa inhibitörleri özellikle yüksek riskli hastada sıklıkla profilaktik olarak verilmektedir. Çoğu PPI CYP P450, daha spesifik olarak CYP2C19 tarafından metabolize edilir.⁹³ Omeprazol daha çok bu yolla metabolize edilir. Buna karşın esomeprazol, pantoprazol, lansoprazol bu yolla daha az metabolize edilir. Rabeprazol CYP2C19 ile en az metabolize edilmektedir.⁹⁴

İlk olarak Gilard ve ark. omeprazol kullanan hastalarda klopidogrel aktivitesinin azaldığını göstermiştir.⁹⁵ Daha sonra PACA (Proton Pump Inhibitors And Clopidogrel Association) çalışmasında omeprazol ile pantoprazol karşılaştırılmış, sonuçta omeprazol grubunda daha fazla klopidogrel yanıtı olmadığı belirtilmiştir.⁹⁶ Mevcut veriler ışığında önce European Medicines Agency, sonrasında US Food And Drug Administration omeprazol ve klopidogrel'in beraber kullanımının uygun olmadığını belirten bildirimler yayınlamıştır.

Statinler

İlk olarak Lau ve ark. atorvastatinin, pravastatinden farklı olarak klopidogrelin antitrombosit etkinliğini azalttığını göstermiştir.⁷⁷ Fakat sonrasında oluşan bilgiler çelişkilidir. Bununla birlikte klopidogrel ile statin birlikte kullanımının klinik sonuçlarının olumsuz olmadığına ilişkin çok sayıda veri vardır. Örneğin, CREDO, GRACE ve MITRA PLUS çalışmalarında statin ve klopidogrelin birlikte kullanımının olumsuz klinik olay ile ilişkili olmadığını göstermiştir.^{50, 97,98}

PROVE-IT TIMI 22 (Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy—Thrombolysis in Myocardial Infarction 22) çalışmasında ise 4162 akut koroner sendrom tanılı hasta 80 mg atorvastatin veya 40 mg pravastatine randomize edilmiş. Primer sonlanım noktası MI, kararsız angina pectoris, revaskülarizasyon ve inme olarak belirlenmiştir. Önceki bulguların tersine atorvastatin grubunda daha az kardiyovasküler olay saptanmıştır.⁹⁹ CHARISMA ve EXELSIOR çalışmaları da CYP3A4 ile metabolize edilen statinlerde artmış olay riski izlenmediğini ortaya koymuştur.^{88,100} Bu nedenle güncel veriler statinlerle klopidogrelin beraber kullanımının güvenli olduğu yönündedir.

3.6 DİABETES MELLİTUS, İNSÜLİN DİRENCİ VE TROMBOSİT YANITI

Diabetes mellitus (DM), sıklıkla hızlanmış ateroskleroz ile ilişkili olup klinik olarak erken koroner arter hastalığı, artmış serebrovasküler olay riski ve ciddi periferik arter hastalığı ile sonuçlanır.¹⁰¹ Tip 2 diabetli hastalar 2 ila 4 kat daha fazla koroner arter hastalığı riskine sahiptir. Ayrıca MI geçirmemiş diabetli hastalar, diabetik olmayan fakat myokard enfarktüsü geçirmiş hastalara göre aynı oranda akut koroner sendrom geçirme riskine sahiptir.¹⁰²⁻¹⁰³ Bunun yanında, DM'li hastalar daha fazla tekrarlayan iskemik olay riskine sahiptir.¹⁰⁴ Diabetli hastalarda görülen trombosit disfonksiyonu bu hasta grubunda görülen artmış aterotrombotik komplikasyon riskini açıklayan nedenlerden biridir.¹⁰⁵

DM'de artmış trombosit agregasyonu ilk olarak 1965 yılında tanımlanmıştır.¹⁰⁶ Sonrasında, DM 'li hastalardaki trombositlerin doğal antiagregan agonistlere (örneğin prostasiklin ve nitrik oksit) azalmış duyarlılığa sahip olduğu belirtilmiştir.¹⁰⁷ Son çalışmalar trombosit yanıtının değişmesinde; metabolik değişiklikler, oksidatif stres ve endotel disfonksiyonunun önemli rol oynadığını göstermiştir.¹⁰⁸

Tip 2 diabetin özellikle başlangıç aşamasında artmış insülin ile birlikte olduğu, insülin direnci ile ilişkili olduğu bilinen bir durumdur. Trombositler insülinin etkilediği hedeflerden biridir ve insüline bağlanan reseptöre sahiptir.¹⁰⁹ İnsülinin genel olarak değişik agonistlere karşı trombosit yanıtını azalttığı düşünülür.¹¹⁰ Tip 2 DM hastalarında ise azalmış trombosit- insülin reseptör sayısı ve afinite saptanmıştır. Bu da azalmış insülin duyarlılığının, diabette trombosit hiperaktivitesini açıklayabileceğini gösterir.¹¹¹ Burada şu soru gündeme gelir: Trombositler insülin direncinin gerçekleştiği yerlerden biri midir? İnsülin trombosit üzerindeki etkisini inceleyen Trovati ve ark. insülin dirençli olgularda insüline azalmış trombosit yanıt olduğunu, bu nedenle insan trombositlerinde insülin direnci izlendiğini belirtmiştir.¹¹²

Diabetik hastalarda trombositlerin aspirine daha az duyarlı olduğu bilinmektedir.¹¹³ Daha da önemlisi, azalmış duyarlılık veya zayıf yanıt, artmış iskemik olay riski ile ilişkilidir.¹¹⁴ Aspirine zayıf yanıt tromboksan A2 yeterli düzeyde baskılansa bile gerçekleşebilir. Özellikle artmış hücre- hücre iletişimi (trombosit ve eritrosit arasında) ve trombositin ADP 'ye artmış yanıtı diabetik hastalarda bu duruma neden olabilir.¹¹⁵⁻¹¹⁶ Bu da ADP reseptör antagonisti olarak klopidogrelin neden diabetik hastalarda iskemik olayları önlemede daha etkili olduğunu açıklar.¹¹⁷ Klopidogrel ile aspirini karşılaştıran CAPRIE (The Clopidogrel versus Aspirin in Patients at Risk of Ischemic Events) çalışmasında klopidogrel (75 mg/gün) ile aspirin (300 mg/gün) 19185 geçirilmiş inme, myokard enfarktüsü veya kanıtlanmış periferik arter hastalığı olan hastaya randomize edilmiştir.¹¹⁸ Çalışma grubunun yaklaşık % 20'si diabetiktir. Bhatt ve ark. retrospektif olarak CAPRIE çalışmasının diabetik alt grubunu incelemiştir. Bu grupta vasküler primer son nokta klopidogrel kullanan grupta daha azdır.¹¹⁷

CURE (The Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events) çalışması 12 562 akut koroner sendromlu hastada aspirin ile aspirin- klopidogrel kombinasyonunu karşılaştırmıştır. Primer son nokta (kompozit vasküler ölüm, MI veya inme) diabetik alt grupta tüm hasta popülasyonuna benzer biçimde klopidogrel aspirin kombinasyonunda daha az olmuştur. Ancak olay oranı diabetik grupta daha fazladır. Yüksek olay oranı diabetik hastalarda artmış trombosit reaktivitesine bağlanabilir. Diabetik hastalar klopidogrel kullansalar da daha fazla trombosit agregasyonu ve aktivasyonu gösterir.⁴²

Diabetik hastalarda klopidogrel yanıtının nasıl olduğu Angiolillo ve ark. tarafından araştırılmıştır. Aspirin ve klopidogrel kombinasyonu uygulanan hastalar diabetik ve diabetik olmayan olarak karşılaştırılmıştır. Sonuçta diabetik hastalarda daha fazla klopidogrel

yanıtsızlığı olduğu ve diabetik hastalarda daha fazla trombosit reaktivitesi izlendiği belirtilmiştir. Ayrıca, azalmış duyarlılığın diabetik hastalardaki aterotrombotik riskin fazla oluşuna etki edebileceği vurgulanmıştır.¹¹⁹ Tip 2 DM 'li PKG uygulanan hastalarda 300 mg yükleme dozu sonrası 24 saatte yanıtızlık oranı 4 kat daha fazladır. Trombosit reaktivitesi klopidogrel idame fazında da yüksektir ve özellikle hastalığın ileri aşamasındaki insülin ihtiyacı olanlarda belirgindir.¹²⁰ Bu bulgular neden diabetin ileri aşamasındaki (insülin ihtiyacı olan) hastalarda aterotrombotik olay riskinin fazla oluşunu açıklayabilir. Ayrıca, ilaç kaplı stentlerle ilgili çalışmaların neden diabeti stent trombozu öngörmede kullandığını da açıklayabilir.¹²¹⁻¹²²

Diabetik hastalarda klopidogrel yanıtının azalmasını birkaç mekanizmaya bağlanabilir. P2Y12 yolağının aktivitesinin artışı bunlar içerisinde tip 2 DM 'li hastalarda daha önemlidir.¹²³ İnsülinin trombosit aktivasyonunu P2Y12 yolunu inhibe ederek azalttığı gösterilmiştir. İnsülin trombosit üzerindeki reseptöre bağlanarak P2Y12 'yi inhibe eder. Fakat, diabetik hastaların trombositleride insülin direncinden muzdariptir ve sonuçta insüline olan duyarlılık azalır. Nihai sonuç, P2Y12 yolağının aktivitesinin artışıdır. Klopidogrel direnci ile ilişkili diğer mekanizmalar ADP maruziyetinin artışı, sitoplazmik kalsiyum seviyesinin artışı ve trombosit döngüsünün artışıdır.

3.7 LEPTİN VE KLOPIDOGREL DİRENCİ

Leptin, obezite geninin ürünü olan 167 aminoasitten oluşan, memelilerde enerji depolanmasını düzenleyen bir proteindir. Leptin yokluğunda ya da mutasyonu durumunda hiperfajiye ve obeziteye neden olup, bu durum leptin uygulanması ile düzeltilir. Yüksek leptin seviyeleri iştahı azaltıp, metabolizmayı hızlandırarak kilo kaybını artırır.¹²⁴

1950'de Ingalls ve ark. yeni bir mutant obez fare(ob/ob) serisi tanımlamıştır.¹²⁵ Bu farelerin özelliği hiperfaji ve azalmış enerji tüketimi (azalmış metabolik hız, ısı üretimi ve fiziksel aktivite) nedeniyle ciddi obez oluşlarıydı. Sonrasında 1973'de Coleman tarafından obez farelerin dolaşımı normal farelere bağlanınca kilonun normaleştiği bildirildi.¹²⁶ Bu da obez farelerin dolaşımında eksik bir madde olduğunu gösteriyordu. Nihayet, 1994'te Zhang ve ark. Rockefeller Üniversitesi'nde obezite geninin kodladığı bu proteini izole etti.¹²⁷ Kısa bir süre sonra rekombinan obezite gen ürünü obez farelere verilince obezitenin düzeldiği görüldü.¹²⁸ Bu gen ürünü Latince leptos (Türkçesi zayıf) kelimesinden türetilerek leptin olarak adlandırıldı. Sonrasında leptinin etkileri üzerine araştırma süreci başladı.

Leptin öncelikli olarak adipositlerde bulunur ve leptin seviyesi obezite ile artar.¹²⁹ Leptin adipositler dışında çok sayıda hücrede bulunur ve başka fizyolojik görevleride vardır. Örneğin immünolojik fonksiyonu, anjiogenezi, kemik oluşumunu, fertilitiyi etkilediği ortaya konmuştur.^{130,131,132,133} Leptin ayrıca proinflamuar sitokinler (İL-6) ile yapısal ve işlevsel benzerliğe sahiptir. Bu da adipositokin olarak sınıflandırılmalarının temelini oluşturur.¹³⁴ Leptin ve/veya reseptörünün monositler, lenfositler, vasküler dokular, pankreas, iskelet kası ve miyokard gibi çok sayıda hücrede bulunuşu leptinin obezite ile ilişkili hastalıklarda pivot vazifesi gördüğünü ve pleitropik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.¹³⁵

Bunun yanında, şu anda leptinin fizyolojik ve patolojik olarak anjienez ve vasküler hastalıklarda etkili olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda leptin-eksik veya leptin olan fakat leptine bağlanan antikor olan farelerde kararsız bir trombüs oluştuğu, arterial hasara zayıflamış trombotik yanıt oluştuğu, trombosit agregasyonunda bozukluk meydana geldiği görülmüştür.¹³⁶ Sonuçta, leptinin obezite ve kardiyovasküler risk bağlantısında rol oynadığı öne sürülmüştür.¹³⁷ WOSCOPS (West of Scotland Coronary Prevention) çalışması leptinin koroner arter hastalığı açısından bağımsız bir risk faktörü olduğunu ortaya koymuştur.¹³⁸

3.7.1 Leptin direnci

Leptin düzeyinin, leptine olan duyarlılık azaldığında yetersiz yanıtı cevap olarak (relatif leptin yetmezliği) artığı bilinmektedir.¹³⁹ Bu bilgi çoğu obez hastada leptin düzeyinin az değil tam tersine yüksek seviyede oluşuyla desteklenir. Bu nedenle yüksek dozda ekzojen leptin verilse bile yeterli düzeyde kiloya düşülememektedir.¹⁴⁰

İlginç biçimde, 1999 yılında trombositler üzerinde de leptin reseptörü uzun formunun olduğu bulunmuştur. Bu da leptinin reseptörü aktive ederek trombosit agregasyonunu uyarabileceğinin düşündürmüştür.¹⁴¹ Leptinin obez ve sağlıklı farelerde trombosit agregasyonunu uyardığı gösterilmiştir.^{142,143} Buna karşıt olarak Ozata ve ark. tarafından yapılan çalışmada hem obez hem sağlıklı hem de leptinden yoksun bireylerde ADP, kolajen ve epinefrin ile trombosit agregasyonunda leptinin etkisi olmadığını öne sürülmüştür.¹⁴⁴ Sonrasında ise kanıtlar agregasyonu uyardığı yönündedir.

Yüksek konsantrasyondaki leptinin ADP ile sinerjistik etki ederek trombosit agregasyonunu uyardığı gösterilmiştir. Bu da leptinin protrombik etkisinin obez hiperleptinemik hastalarla sınırlı olduğunu gösterebilir.¹⁴⁵

Obez hastalarda hiperleptineminin leptin direncine bağlı olduğu bilinmektedir. Benzer direncin trombosit üzerinde de olup olmadığı araştırılmıştır. Corsonello ve ark. yaptığı çalışmada leptinin insanda trombosit agregasyonunu ADP aracılı olarak doz bağımlı biçimde uyardığını, fakat obezlerde agregasyon yanıtının zayıfladığını öne sürmüştür. Trombositlerin obezitede leptin direncinin görüldüğü yerlerden biri olabileceği öne sürülmüştür.¹⁴⁶ Daha sonra Dellas ve ark. tarafından yapılan çalışmada obez bireylerde ADP aracılı trombosit agregasyonunun arttığı, bunun kısmen leptin düzeyinin artmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Bunun yanında, obez bireylerde trombositlerin leptinle oluşan ADP aracılı trombosit agregasyonuna dirençli olmadığı belirtilmiştir.¹⁴⁷

3.7.2. Leptin ve Klopidoğrel Direnci

Klopidoğrel, ADP aracılı trombosit agregasyonunu P2Y₁₂ reseptörüne bağlanarak inhibe eder. Hiperleptineminin ADP aracılı trombosit agregasyonunu uyardığı gösterildiğinden klopidoğrel etkinliğinin azalabileceği düşünülmüştür. Bu konuda Gatto ve ark. 153 perkutan koroner girişim uygulanan hastada klopidoğrel yanıtı PRU > 240 olarak alınmış. Yanıt az olan bireylerde leptin düzeyinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Leptin düzeyi ile klopidoğrel direnci arasında ciddi bir ilişki olduğu öne sürülmüştür.¹⁴⁸

3.8 KLOPIDOGREL DİRENCİNE YAKLAŞIM

Klopidoğrelle zayıf yanıt ile kardiovasküler olay riski arasında net bir ilişki vardır. Klopidoğrelle yetersiz yanıt durumunda ne yapılacağı konusu açıklığı kavuşmamıştır. Fakat, klopidoğrel direncini aşmak için bir kaç yol denenebilir. Bunlar; daha yüksek yükleme veya idame dozu veya alternatif antitrombosit ilaçlara geçmektir.

3.8.1 Klopidoğrel dozunu ayarlama

600 g yükleme dozu yapılan hastalarda, 300 mg ile kıyaslandığında yanıtızlık oranının daha az olduğu ve daha fazla trombosit inhisbisyonu sağladığı ortaya konmuştur. ISAR- CHOICE çalışmasına göre 600 mg'dan daha fazla klopidoğrel ek bir yarar sağlamamaktadır. ³⁸

OASIS-7 çalışması 25087 USAP/Akut MI hastasını yüksek doz (600 mg yükleme, sonrasında 150 mg/gün bir hafta) ve standart doz (300 mg yükleme, sonrasında 75 mg/gün) olmak üzere ikiye ayırmıştır. 30 günde primer son noktada (kardiyovasküler ölüm, MI, inme) standart grup % 4.4 iken, yüksek doz grubunda % 4.2 olmuştur. Fakat PKG uygulanan hastalarda yüksek doz grubunda stent trombozu % 30, MI riski %22 azalmıştır. ¹⁴⁹ Buna karşın GRAVITAS çalışması ilaç kaplı stent uygulanmış hastalarda 150 mg 'ın 75 mg klopidoğrelle üstünlüğünü gösterememiştir. ¹⁵⁰ Bonello ve ark ise klopidoğrel yükleme dozunu, VASP yöntemi ile ölçülen trombosit fonksiyonuna göre belirleme fikrine dayalı bir çalışma yürütmüşlerdir. Bunun güvenli bir yöntem olduğunu ve klopidoğrel direnci olan hastalarda PKG sonrası klinik sonuçları olumlu etkilediğini belirtmişlerdir. ¹⁵¹

3.8.2 Silostazol

Silostazol güçlü bir fosfodiesteraz inhibitörü olup hem trombositlerde hem de düz kas üzerinde etkilidir. Silostazolun eklenmesi ile üçlü antirombosit tedavi uygulanması başta stent trombozu olmak üzere olumsuz olay gelişimini azaltır. ¹⁵² Bu konuda yapılmış ACCEL-RESISTANCE çalışması silostazolün klopidoğrel standart dozuna eklenmesinin, yüksek doz (150 mg/gün) klopidoğrel kullanımına göre daha etkili olduğunu göstermiştir. ¹⁵³

3.8.3 Prasugrel

Prasugrel yeni tienopridin türevi bir ilaç olup, klopidoğrel gibi oral olarak kullanılır ve P2Y12 reseptörünü hedef alır. Klopidoğrelden farklı olarak çoğunlukla CYP3A ve CYP2B6 ile metabolize edilir. Klopidoğrel metabolizmasında önemli olan CYP2C19 ve CYP2C9 'un etkisi azdır. Bu da söz konusu allellerde mutasyon durumunda neden prasugrelin etkilenmediğini açıklar. ¹⁵⁴

Prasugrel in hızlıca trombositleri inhibe ettiği ve yüksek doz klopidoğrelle karşılaştırıldığında bile daha etkili olduğu gösterilmiştir. Wiviott ve ark. 201 PKG uygulanan hastada prasugrel (60 mg yükleme ve 10 mg idame) ile yüksek doz klopidoğrel (600mg yükleme ve 150 mg/gün idame) randomize etmiş. ¹⁵⁵ Prasugrel grubunun daha fazla trombosit inhisbisyonu sağladığını göstermiştir. Buna karşın yakın zamanda yayınlanan TRILOGY ACS (Targeted Platelet Inhibition to Clarify the Optimal Strategy to Medically Manage Acute Coronary

Syndromes) çalışmasına göre ise PKG uygulanmayan, revaskularize edilmemiş AKS geçirmiş olan hastalarda prasugrelın klopidogrelle üstünlüğü olmadığı ortaya konmuştur. ¹⁵⁶

Prasugrelın CYP2C19*2 polimorfizmi durumunda ise klopidogrelle üstünlüğü belirgindir. ¹⁵⁷

Pena ve ark'nın yaptığı başka bir çalışmada stent trombozu gelişmiş, klopidogrel direnci olan 7 hastada, klopidogrel idame dozu 300 mg 'a kadar çıkılsa bile hiçbirinde prasugrelın oluşturduğu antitrombosit etki oluşturulamamıştır.

3.8.4 Tikagrelor

Tikagrelor oral, direk etkili bir ilaç olup diğer tienopiridinler gibi ADP P2Y12 reseptörünü hedef alır. Fakat klopidogrel ve prasugreliden farklı olarak, reseptöre geri dönüşümlü olarak bağlanır. ¹⁵⁸ PLATO çalışması 18 624 akut koroner sendromlu hastada tikagrelor (180 mg yükleme, ardından 90 mg günde iki kez idame) ile klopidogrel (300 – 600 mg yükleme, 75 mg/ gün idame) karşılaştırmıştır. ¹⁵⁹ Tikagrelor grubu daha az kardiyovaküler olay riskine sahiptir, fakat major kanama oranı daha fazladır. RESPOND çalışmasına göre tikagrelor, stabil koroner hastalığı olan hastalarda klopidogrel direncini aşmada etkili bir yöntem olabilir. Ayrıca tikagrelor etkinliği, klopidogrelle yanıt veren ile vermeyen grupta aynıdır. ¹⁶⁰

3.8.5 Kangrelor

Kangrelor, tienopiridin grubu olmayan ADP P2Y12 reseptör antagonisti olup intravenöz olarak uygulanır. CHAMPION-PLATFORMve CHAMPION –PCIçalışmalarına göre kangrelor klopidogrelle üstünlük gösterememiştir. ^{161,162} Fakat klopidogrel ile tedavi edilmiş hastada ek trombosit inhibisyonu sağlayabilir. Ayrıca, klopidogrel ile inhibe edilmiş trombosit agregasyonunda kişiler arası farklı yanıt oluşumunu azaltabilir. ¹⁶³

4. AMAÇ

1. Perkutan koroner girişim uygulanmış, bu nedenle klopidogrel kullanan hastalarda klopidogrel direnci ile serum leptin düzeyi arasındaki ilişkinin araştırılması
2. Leptinin obezite geninin ürünü olması nedeniyle, obezite ve klopidogrel direnci arasındaki ilişkinin ortaya koymak
3. Metabolik sendrom ve insülin direnci ile klopidogrel direnci arasındaki ilişkinin araştırılması

4. Koroner arter hastalığı olan bireylerde CYP2C19 * 2 ve * 3 allellerinin sıklığı araştırılarak, ülkemizde yaygınlığı konusunda bilgi edinmek
5. CYP2C19*2 ve*3 allelleriyle klopidogrel direnci arasındaki ilişkinin araştırılması
6. Klopidogrel direnci ile koroner arter hastalığı risk faktörleri (Diabetes Mellitus, hipertansiyon, hiperlipidemi, sigara kullanımı), klopidogrel ile etkileşebilecek proton pompa inhibitörleri ve statin grubu ilaçlar ve sol ventrikül EF ile klopidogrel direnci arasındaki ilişkinin araştırılması

5. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmaya 01/01/2012-30/04/2012 tarihleri arasında perkutan koroner girişim uygulanmış, klopidogrel kullanan 100 hasta dahil edildi. Hastalardan detaylı anamnez alınarak, fizik muayenelerini takiben çalışma kriterlerine uygun hastalar çalışmaya alındı.

5.1 Dahil edilme kriterleri

Hastanemizde koroner arter hastalığı saptanıp; 300 mg klopidogrel yüklemesi yapıp, takiben 75 mg /gün idame tedaviye geçilen veya en az 5 gün 75 mg/gün klopidogrel almış olan perkutan koroner girişim uygulanmış 30-85 yaş arası erkek ya da kadın hastalar dahil edildi.

5.2 Çalışma dışı bırakılma kriterleri

1. Malignite öyküsü olan hastalar
2. Aktif enfeksiyon hastalığı olan hastalar
3. İnflamatuvar hastalık (Bağ doku hastalığı gibi) olan hastalar
4. İlerlemiş karaciğer hastalığı olan hastalar
5. Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalar
6. Yakın zamanda geçirilmiş serebrovasküler hastalığı olanlar
7. Tiozolidinedion tedavisi alan hastalar
8. Kortikosteroid tedavisi alan hastalar
9. Hipotiroidi ve hipertiroidisi olan hastalar
10. İleri Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı olan hastalar

12. Hematokrit düzeyi % 30'un, trombosit sayısı 100.000'in altında olanlar

13. Glikoprotein IIb-IIIa inhibitörü kullanımı

5.3 Veri Toplama Yöntemleri

Tüm hastalara aşağıdaki belirtilen yöntemlerin uygulanması planlandı.

1. Verify Now metodu kullanılarak klopidogrel ile trombosit inhibisyon düzeyinin saptanması
2. CYP2C19 gen polimorfizminin genotiplendirilmesi.
3. Tüm hastalardan ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay) metodu kullanılarak serum leptin düzeylerinin ölçülmesi
4. Hastaların koroner arter hastalığı risk faktörlerinin, vücut kitle indeksleri ve bel çevrelerinin belirlenip açlık insülin, açlık kan glukozu, HbA1c ve lipit profilinin saptanması

5.4 Antropometrik Ölçümler

Hastaların boy ve kiloları ölçülerek vücut- kitle indeksleri (VKİ) hesaplandı. Vücut- kitle indeksi, hastanın kg cinsinden ağırlığının, metre cinsinden boyunun karesine bölünmesi ile hesaplandı.

VKİ değeri	
18.5 kg / m ² 'nin altında	Zayıf
18.5-24.9 kg / m ² arasında olanlar	Normal kilolu
25-29.9 kg / m ² arasında olanlar	Fazla kilolu
30-39.9 kg / m ² arasında olanlar	Obez
40 kg / m ² 'nin üzerinde olanlar	Morbid obez

Hastaların vücut-kitle indeksleri yanında, bel çevreleri ölçülerek abdominal obezite açısından değerlendirildi.

6.ÇALIŞMA PROTOKOLÜ

Çalışmaya dâhil edilen tüm hastaların yaş, cinsiyet, özgeçmiş, soygeçmiş bilgileri, alışkanlıkları, KVH risk faktörleri, mevcut tedavileri ve tüm sistemik fizik muayene bulguları ile VKİ ve bel çevresi kaydedildi. Çalışma yerel etik komite tarafından onaylandı. Tüm hastalar çalışma konusunda bilgilendirildi ve aydınlatılmış onam formu imzalatıldı

Biokimyasal ve genetik analiz için gerekli tam kan kateter laboratuvarında arterial sheath yan portundan ve PKG sonrası 12-24 saat sonra venöz olarak alındı. Klopidoğrel inhibisyon düzeyi ise 300 mg klopidoğrel yüklemesi yapıp, takiben 75 mg /gün idame tedaviye geçilen veya en az 5 gün 75 mg/gün klopidoğrel alan hastalarda işlemden 12-24 saat sonra venöz kan alınarak belirlendi. Hastaların sol ventrikül fonksiyonları General Electric Vivid 3 cihazı ile değerlendirildi.

6.1 Biyokimyasal Değerlendirme

Çalışmaya dâhil edilen tüm hastalardan 8-12 saat açlığı takiben brakial venden ve arterial sheath yan portundan 10 cc kuru tüpe kan alınarak santrifüjlendi. Total kolesterol, düşük dansiteli kolesterol (LDL-K), yüksek dansiteli kolesterol (HDL), trigliserid, açlık kan şekeri, kan üre azotu (BUN) ve kreatinin, AST, ALT, açlık insülin düzeyi düzeyleri hastanemiz biyokimya laboratuvarında “Roche Hitachi Cobas 6000” cihazı kullanılarak enzimatik yöntemlerle ölçüldü. Plazma örnekleri daha sonraki leptin ölçümleri için derhal -80 santigrat derecede saklandı. Tüm hastalarda hemoglobin, hemotokrit düzeyi ve trombosit sayısı ölçüldü. Hastadan EDTA’lı tüpe 2 cc kan alınarak genotiplendirme için +4 santigrat derecede saklandı.

6.2 VerifyNow ile Klopidoğrel İnhibisyonu Tayini

Klopidoğrelin inhibitör etkisi VerifyNow P2Y12 testi (Accumetrics, San Diego, CA, USA) ile ölçüldü. VerifyNow P2Y12 ilacın P2Y12 reseptörü üzerindeki etkisini ölçen, kartuş tabanlı olarak tasarlanmış hızlı bir trombosit fonksiyon testidir. Test, ADP ve ADP’nin P2Y1 reseptörüne bağlanmasını engellemek üzere 22 nmol prostaglandin E1 içerir. VerifyNow P2Y12 kartuşunda fibrinojen kaplı mikropartiküller trombosit üzerindeki reseptörlerine bağlanmak üzere bulunmaktadır. Cihaz agregasyonu ışık geçirgenliğindeki artış olarak ölçer ve bunu bir algoritma ile PRU(P2Y12 Reaction Unit) olarak ifade eder. Yüksek PRU, ADP

aracılı trombosit reaktivitesinin yüksek olduğunu gösterir. Çalışmamızda PRU > 240 olması klopidogrel direnci olarak değerlendirilmiştir.

6.3 Genetik Analiz

Klopidogrel kullanan 100 hastada 2cc EDTA'lı vakumlu tüplere kan örnekleri alındı.

6.3.1 Genomik DNA İzolasyonu

100 hasta bireyden DNA izolasyon kiti (HibriGen Quick Blood DNA isolation kit) kullanarak genomik DNA izolasyonu gerçekleştirildi. Santrifüj tüpüne geçen ve genomik DNA içeren sıvı analiz zamanına kadar +4 °C'de saklandı.

6.3.2 Allel Spesifik Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

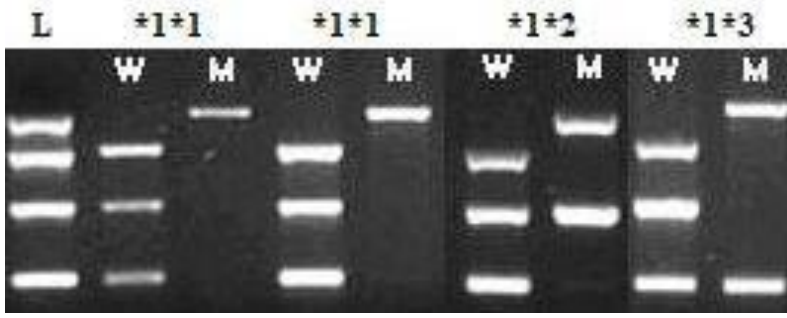
Mutasyon analizleri için, genin bu değişimleri kapsayan allel spesifik primer çiftlerini içeren bir kit (CY2C19 kit, Seegene, Korea) PZR ile çoğaltıldı.

PZR BİLEŞENLERİ	µl/TÜP	SON KONSANTRASYON
Steril ultra saf su	5	-
Master mix	15	1X
DNA	5	-
Toplam hacim	25	

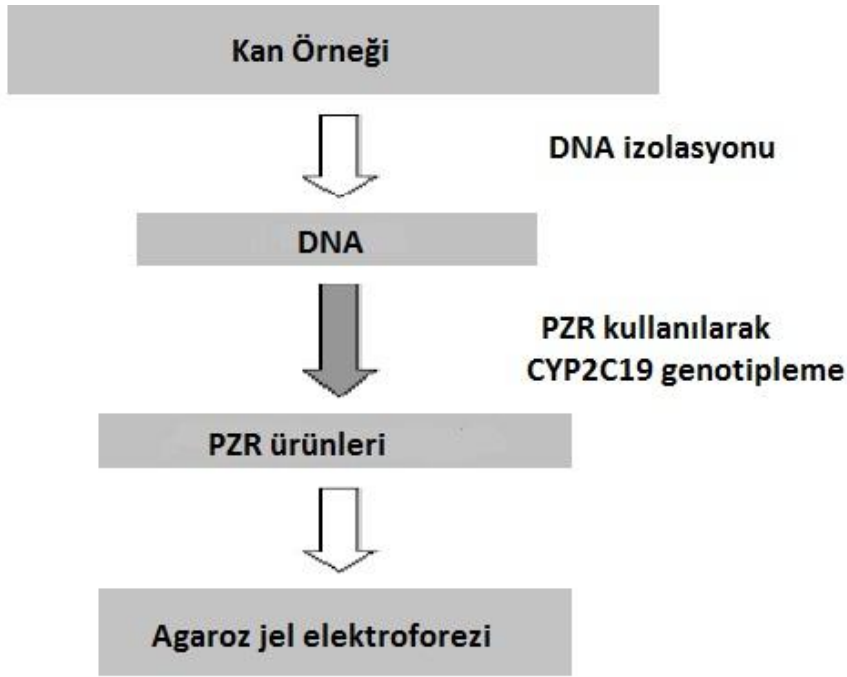
Tablo 5 PZR karışımı

6.3.3 Agaroz Jel Elektroforezi

Elektroforez yürütme tamponu olarak hazırlanan 5X TBE stok, dH₂O ile 1/10 oranında sulandırıldı. Hazırlanan %2.5 (w/v)'luk agaroz jele, 10 µl PZR ürünü, 2-3 µl yükleme tamponu ile karıştırılarak yüklendi ve 120V'da 20 dakika yürütüldükten sonra jel, UV ışık altında incelenerek CYP2C19 geninin polimorfizm noktaları (CYP2C19*2 ve 3) incelenerek genotiplendirildi.



Şekil 18 CYP2C19 genotipleme agaroz jel elektroforez görüntüsü



Şekil 19 CYP2C19 genotiplemenin özeti

6.4 Serum Leptin Düzeyinin Tayini

Serum leptin kantitatif düzeyleri, ELISA yöntemi ile LEPTIN (DIAsource ImmuneAssays SA, KAP2281,Belgium) test kiti kullanılarak ölçüldü. Bu testte insan leptininin farklı epitoplarna karşı monoklonal antikorlar kullanır. Kalibratörler ve örnekler mikrotiter duvarlarında kaplı bulunan monoklonal antikor (Mab1) ve HRP (*horseradish peroksidaz*) ile işaretli monoklonal antikor (Mab2) ile reaksiyona girer. Mab1-insan leptini- Mab2- HRP' den oluşan bir sandiviç meydana gelmesini sağlayan inkübasyon dönemi ardından, mikrotiter plate, bağlanmamış enzim işaretli antikorları çıkarmak üzere yıkanır.

Bağılı enzim işaretli antikorlar kromojenik reaksiyonla ölçülür. Kromojenik solüsyon eklenir ve inkübe edilir. Reaksiyon durdurma solüsyonu ile durdurulur. Mikrotiter plate ardından uygun dalga boyunda okunur. Substrat turnover miktarı kolorimetrik olarak absorbans ölçülerek belirlenir. Bu da leptin konsantrasyonu ile orantılıdır. Bir kalibrasyon eğrisi çizilir ve örneklerdeki leptin konsantrasyonu, kalibrasyon eğrisinden ara değerlendirme ile belirlenir.

7. İSTATİKSEL ANALİZ VE BULGULAR

Bu çalışmada istatistiksel analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 16.0 sürümü paket programı ile yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel yöntemlerin (ortalama, standart sapma) yanı sıra kategorik değişkenlerin, sıklıklarının ve oranlarının karşılaştırılmasında Ki-kare, gerekli yerlerde Fisher Kesin Ki – kare testi uygulanmıştır. İki grubun parametrik varsayımın karşılandığı değişkenlerinin ortalamalarının karşılaştırılmasında Student-T testi, parametrik varsayımların sağlanmadığı durumlarda Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Üç ve daha fazla sayıda grubun sürekli değişkenlerinin karşılaştırılmasında parametrik varsayımlar karşılanmadığında verilerde Kruskal Wallis kullanılmıştır. Klopidoğrel PRU düzeyine etki edebilecek faktörleri belirlemek için tekli ve çoklu lojistik regresyon analizleri kullanılmıştır. Tekli lojistik regresyon modelinde $p < 0.10$ düzeyinde anlamlılık gösteren değişkenler çok değişkenli regresyon modeline alınmıştır. Sonuçların istatistiksel anlamlılığı için $p < 0,05$ düzeyi esas alınmıştır.

Çalışmaya perkutan koroner girişim uygulanmış, bu nedenle klopidoğrel kullanan 100 hasta alınmıştır. Çalışmaya katılanların 18'i(%18) kadın, 82'si (%82) erkek olup yaşları 38 ila 85 arasında (ortalama 63.92 ± 9.22) değişmektedir. Hasta popülasyonunun genel özellikleri Tablo 6'da verilmiştir.

N=100	Yüzde
Yaş	63.92 ± 9.22 *
Cinsiyet (Kadın)	18%
Klinik Durum	%80 Stabil KAH - %20 AKS
DM	36%
Hipertansiyon	77%
Hiperlipidemi	96%
Sigara (içiyor)	45%
Stent tipi	%54 DES - %46 BMS

* : Ortalama ve Standart Sapma

Tablo 6 Hasta popülasyonunun genel özellikleri

Biyokimyasal Parametreler	Min-Max	Ortalama + Standart sapma
Klopidogrel PRU	47-401	218.34±72.08
Leptin	0.11-38.88	6.42±6.48
Açlık İnsülin	1.95-107.8	20.13±21.47
Açlık Kan Şekeri	83-202	113.71±25.13
HbA1c	4.7-11.2	6.33±1.34
Trombosit Sayısı (bin)	100-371	216.31±56.7

Genetik Parametreler	N	%
CYP2C19 *11 allel	91	91
CYP2C19 *12 allel	5	5
CYP2C19 *13 allel	2	2
CYP2C19 *22 allel	2	2

Klinik Parametreler	Min-Max	Ortalama + Standart sapma
VKİ	21.9-37.5	27.99±3.40
Bel çevresi	82-106	94.90±5.03
Sol ventrikül EF	23-65	51.53±9.25

İlaç Kullanımı	N	%
PPI-H2 reseptör blokeri * Pantoprazol	93	93
PPI-H2 reseptör blokeri * Esomeprazol	4	4
PPI-H2 reseptör blokeri * Lansoprazol	2	2
PPI-H2 reseptör blokeri * Famotidin	1	1
Statin (Kullanan)	92	92

Tablo 7 Hastaların biokimyasal, genetik parametreleri, bazı klinik özelliklerinin ve ilaç kullanımının dağılımı

Çalışmaya katılanlardan; klopidogrel PRU değeri > 240 olanlar dirençli, < 240 olanlar ise yanıt var olarak sınıflandırılmıştır. Buna göre katılımcıların 37'si (%37) klopidogrel direnci var, 63'ü (%63) ise klopidogrele yanıtı var (direnç yok) olarak değerlendirilmiştir. Leptin düzeyi 15'ten küçük olan 89 (%89), VKİ 30'dan küçük 70 (%70) kişi bulunmaktadır. Bu klinik özelliklerin dağılımı Tablo 8'de verilmiştir.

N:100		N	%
Klopidogrel Direnci	Yok	63	63
	Var	37	37
Leptin Düzeyi (ng/ml)	Leptin <15	89	89
	Leptin >15	11	11
VKİ (kg/m²)	VKİ<30	70	60
	VKi >30	30	30

Tablo 8 Çalışmada Kullanılan Bazı Değişkenlerin Kesme Puanlarına Göre Dağılımı

Klopidogrel direnci olmayan grubun yaş ortalaması 62.73(±8.99) iken klopidogrel direnci olan grubun yaş ortalaması 65.94(±9.37)dir. İki grubun arasında yaşları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). Benzer şekilde EF, Bel çevresi, VKİ ve trombosit sayısı değişkenleri açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$). Karşılaştırmaya ilişkin verilerin dağılımı Tablo 9’da verilmiştir.

N=100	Klopidogrel Direnci		t	p
	Yok(n=63) Ort±SS	Var(n=37) Ort±SS		
Yaş	62.73±8.99	65.94±9.37	-1.700	0.092
EF	52.17±9.12	50.43±9.49	0.908	0.366
Bel Çevresi	94.82±4.67	95.02±5.65	-0.193	0.848
VKİ	27.42±2.91	28.38±3.45	-1.491	0.139
Trombosit Sayısı	216.04±57.65	216.75±55.95	-0.060	0.952

Studen t Test ** $p<0.01$

Tablo 9 Klopidogrel Direnci Olan ve Olmayan Katılımcıların Normal Dağılım Gösteren Sosyodemografik ve Klinik Özelliklerinin Karşılaştırılması

Klopidogrel direnci olmayan grubun leptin düzeyleri ortalaması 5.48(±5.82) ve medyanı 3.55 iken klopidogrel direnci olmayan grubun leptin düzeyi ortalaması 8.03(±7.27), medyanı 4.72’dir. Klopidogrel direnci olan ve olmayan grubun leptin, HbA1c, açlık kan şekeri ve insülin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$). Karşılaştırmaya ilişkin verilerin dağılımı Tablo 10’da verilmiştir.

N:100	Klopidogrel Direnci				z	p
	Yok(n=63)		Var(n=37)			
	Medyan	Ort±SS	Medyan	Ort±SS		
Leptin	3.55	5.48±5.82	4.72	8.03±7.27	-1.571	0.116
Açlık İnsülin	12.24	19.68±19.70	12.14	20.89±24.47	-0.096	0.923
Açlık Kan Şekeri	103.00	111.98±23.36	109.00	116.64±27.97	-0.836	0.403
HbA1c	5.70	6.24±1.28	5.90	6.49±1.45	-1.169	0.242

Mann-Whitney U, * $p<0.05$,

Tablo 10 Klopidogrel Direnci Olan ve Olmayan Katılımcıların Normal Dağılım Göstermeyen Klinik Özelliklerinin Karşılaştırılması

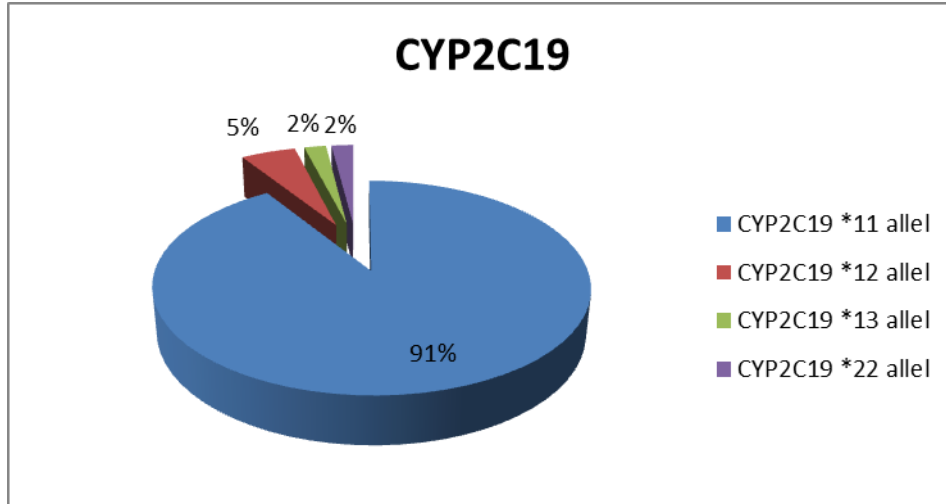
Leptin düzeyine göre katılımcıların Klopidoğrel PRU değerleri karşılaştırılmıştır. Leptin düzeyi >15 olan grubun klopidoğrel PRU düzeyleri, leptin <15 grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p<0.01$). Karşılaştırmaya ilişkin verilerin dağılımı Tablo 11’de verilmiştir.

N:100	Leptin Düzeyi				z	p
	<15 (n=89)		>15 (n=11)			
	Medyan	Ort±SS	Medyan	Ort±SS		
Klopidoğrel Düzeyi	204.00	208.76±66.98	302.00	292.18±70.11	-3.355	0.001**

*Mann-Whitney U, ** $p<0.01$,*

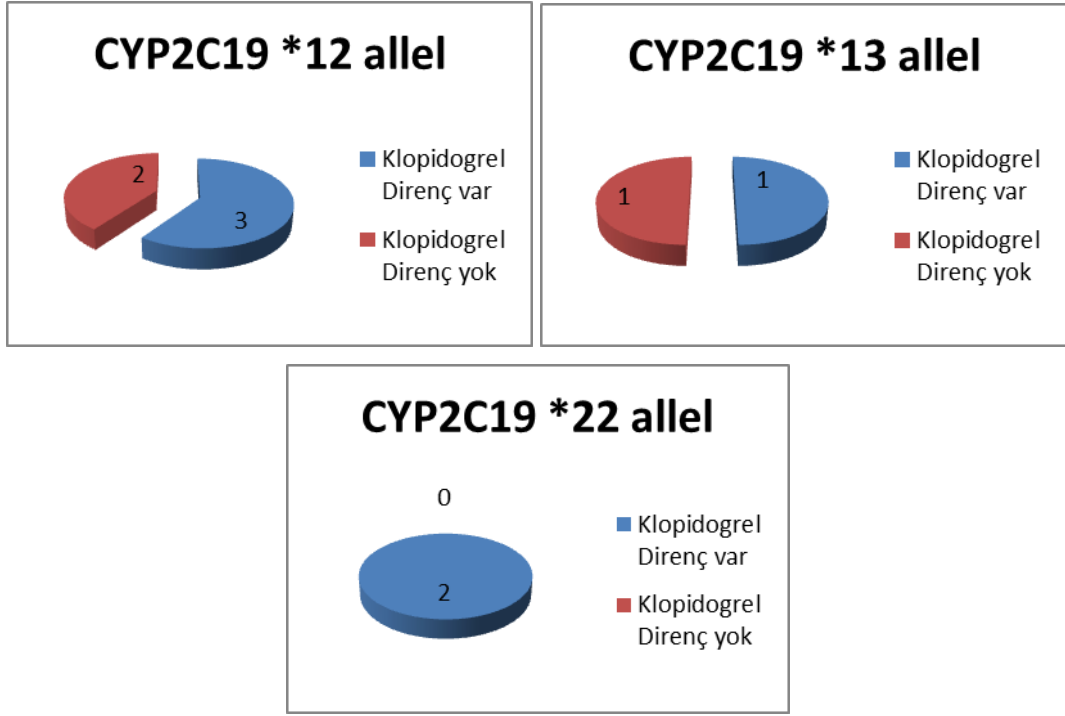
Tablo 11 Leptin Düzeyine Göre Katılımcıların Klopidoğrel PRU Düzeylerinin Karşılaştırılması

CYP2C19 allellerinde normal allel (wild-type) olan CYP2C19 *11, mutant heterozigot allel olan CYP2C19 *12, CYP2C19 *13 ve mutant homozigot allel olan CYP2C19 *22 allellerinin çalışmaya alınan hastalardaki oranları tablo 12 ‘de gösterilmiştir.



Tablo 12 CYP2C19 normal ve mutant allel tipleri

CYP2C19 mutant alleli saptanan hastalarda klopidogrel direncinin görülme oranı tablo 13'de belirtilmiştir.



Tablo 13 CYP2C19 allel tiplerinde klopidogrel direnç oranları

N=100		Klopidogrel Direnci			χ^2	p
		Yok(n=63) N(%)	Var(n=37) N(%)			
^b CYP2C19 (alleli)	11	60(%65.9)	31(%34.1)	4.875	0.146	
	12	2(%40.0)	3(%60.0)			
	13	1(%50.0)	1(%50.0)			
	22	0(%0.0)	2(%100)			
^b CYP2C19	11	60(%65.9)	31(%34.1)	2.467	0.073	
	12+13+22	3(%33.3)	6(%66.7)			
^b CYP2C19	11	60(%65.9)	31(%34.1)	4.129	0.141	
	12+22	2(%28.6)	5(%71.4)			
	13	1(%50)	1(%50)			
^b CYP2C19(N:93)	11	60(%65.9)	31(%34.1)	1.394	0.123	
	22	0(%0.00)	2(%100)			

^a χ^2 süreklilik düzeltmesi değeri, ^bFischer Exact χ^2 * $p < 0.05$

Tablo 14 Klopidogrel Direnci Olan ve Olmayan Hastaların CYP2C19 Allellere Göre Karşılaştırılması

Katılımcıların CYP2C19 tiplerine göre Klopidoğrel PRU düzeyleri karşılaştırılmıştır. CYP2C19 tiplerine göre Klopidoğrel PRU düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0.05$) Karşılaştırmaya ilişkin verilerin dağılımı Tablo 15 'te verilmiştir.

N:100	Klopidoğrel PRU		^a χ^2	p
	Medyan	Ort±SS		
CYP11(n:91)	212.00	213.69±70.99	4.200	0.241
CYP12(n:5)	256.00	255.40±76.37		
CYP13(n:2)	221.50	221.50±51.61		
CYP22(n:2)	314.00	314.00±73.53		
N:100	Medyan	Ort±SS	^b z	p
CYP11(n:91)	212.00	213.69±70.99	-1.680	0.093
CYP12+13+22(n:9)	258.00	260.88±70.97		
N:92	Medyan	Ort±SS	^b z	p
CYP11(n:91)	212.00	213.69±70.99	-1.695	0.090
CYP22(n:2)	314.00	314.00±73.53		
N:92	Medyan	Ort±SS	^b z	p
CYP11(n:91)	212.00	213.69±70.99	-1.680	0.093
CYP 12+22(n:7)	258.00	260.88±70.97		

^aKruskal Wallis, ^bFischer Exact X^2

Tablo 15 Klopidoğrel PRU değerinin CYP2C19 Allellerine Göre Karşılaştırılması

Klopidoğrel direnci olan grupta leptin düzeyi 15'in üzerinde olanların oranı direnç olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ($p<0.05$). Yine klopidoğrel direnci olan grupta BMI 30'un üstünde olanların oranı da direnci olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir($p<0.05$). Karşılaştırmaya ilişkin verilerin dağılımı Tablo 16'da verilmiştir

N=100		Klopidogrel Direnci			
		Yok(n=63)	Var(n=27)	χ^2	p
		N(%)	N(%)		
^a Cinsiyet	Kadın	10(%55.6)	8(%44.4)	0.205	0.651
	Erkek	53(%64.6)	29(%35.4)		
^a Klinik Durum	Stabil KAH	49(%61.3)	31(%38.8)	0.217	0.641
	AKS	14(%70.0)	6(%30.0)		
^a DM	Yok	41(%64.1)	23(%35.9)	0.006	0.938
	Var	22(%61.1)	14(%38.9)		
^a Hipertansiyon	Yok	18(%78.3)	5(%21.7)	2.195	0.138
	Var	45(%58.4)	32(%41.6)		
^b Hiperlidemi	Yok	4(%100)	0(%0.00)	1.037	0.294
	Var	59(%61.3)	37(%38.5)		
^a Sigara	İçmiyor	36(%65.5)	19(%34.5)	0.125	0.723
	İçiyor	27(%60.0)	18(%40.0)		
^a Stent Türü	BMS	26(%56.5)	20(%43.5)	1.062	0.303
	DES	37(%68.5)	17(%31.5)		
^b Statin Kullanımı	Almıyor	6(%75)	2(%25)	0.123	0.707
	Alıyor	57(%62)	35(%38)		
^b PPI-H2 Blokeri	Pantoprazol	57(%61.3)	36(%38.7)	0.783	0.255
	Diğer PPI ve H2 reseptör blokeri	6(%85.7)	1(%14.3)		
^b PPI- H2 Blokeri	PPI	61(%62.2)	37(%37.8)	0.126	0.529
	Famotidin	2(%100)	0(%0.00)		
Leptin Düzeyi	Leptin <15	60(%67.4)	29(%32.6)	5.155	0.017*
	Leptin >15	3(%27.3)	8(%72.7)		
^a VKI	BMI <30	50(%71.4)	20(%28.6)	5.957	0.015*
	BMI >30	13(%43.3)	17(%56.7)		

^a χ^2 süreklilik düzeltmesi değeri, ^bFischer Exact χ^2 *p<0.05

Tablo 16 Klopidogrel Direnci Olan ve Olmayan Katılımcıların Kategorik Nitelikteki Sosyodemografik ve Klinik Özelliklerinin Karşılaştırılması

Çalışmaya katılanların bazı sosyodemografik ve klinik verilerine tek değişkenli lojistik regresyon analizi uygulanmıştır. Bu analizde p<0.10 düzeyinde anlamlılık gösteren değişkenler çok değişkenli regresyon analizine sokulmuştur. Bu değişkenlere ait veriler tablo 17'de verilmiştir.

Değişken	B	S.E	Wald	df	Sig	Exp(B)	Güven Aralığı
Sabit	-0.532	0.207	6.603	1	0.010	0.587	
Yaş	0.040	0.024	2.788	1	0.095	1.041	0.993-1.091
Hipertansiyon	0.940	0.556	2.859	1	0.091	2.560	0.861-7.611
BMI	0.100	0.068	2.183	1	0.140	1.105	0.968-1.261
Leptin	0.061	0.034	3.325	1	0.068	1.063	0.995-1.136
VKİ Kategorik	1.185	0.454	6.820	1	0.009	3.269	1.344-7.953
Leptin Kategorik	1.708	0.714	5.725	1	0.017	5.517	1.362-22.351
CYP2C19	1.354	0.741	3.337	1	0.068	3.871	0.906-16.538

Tablo 17 Klopidoğrel Direnci Üzerinde Etkisi Olduğu Düşünülen Değişkenlerin Tek Değişkenli Lojistik Regresyonu

Çoklu lojistik regresyon analizinde model ileriye doğru adımsal ekleme yöntemi kullanılarak elde edilmiştir. 2. adımda anlamlı değişikliğe neden olan tüm değişkenler modele girmiştir. Çoklu lojistik regresyon analizine göre BMI kategori ve Leptin Kategori değişkenleri nihai modele alınmıştır. Diğer değişkenler sabit kaldığında BMI'nin 30'dan büyük olması klopidoğrel direnci olması ihtimalini 2.875 kat, leptin düzeyinin 15'in üzerinde olması ise direnç ihtimalini 4.532 kat arttırmaktadır. Bu analize ilişkin bulgular tablo 18'de verilmiştir

	Değişken	B	S.E	Wald	df	Sig	Exp(B)	Güven Aralığı	
								Alt	Üst
Adım 1	Sabit	- 0.324	0.22 7	2.041	1	0.15 3	0.723		
	VKİ Kategori(1)	1.185	0.45 4	6.280	1	0.00 9	3.269	1.344	7.953
Adım 2	Sabit	0.240	0.37 1	0.417	1	0.51 8	1.271		
	VKİ Kategori(>30)	1.056	0.46 8	5.088	1	0.02 4	2.875	1.148	7.198
	Leptin Kategori(>15)	1.511	0.73 5	4.226	1	0.04 0	4.532	1.073	19.14 4

İleri Doğru Adımsal Ekleme (WALD) $p < 0.05$

Tablo 18 Klopidoğrel Direnci Üzerinde Etkisi Olduğu Düşünülen Değişkenlerin Çok Değişkenli Lojistik Regresyonu

Model İleriye doğru adımsal ekleme yöntemi kullanılarak elde edilen sınıflama tablosuna göre sınıflandırma başarı oranı %66 olarak bulunmuştur. Bu sınıflandırmaya ait veriler Tablo 19'da gösterildiği gibidir.

Adım 2		Klopidoğren Direnci(Tahmin edilen)		Doğru Sınıflandırma %
		Yok	Var	
Klopidoğrel Direnci (Gözlenen)	Yok	47	16	74,6
	Var	18	19	51.4
	Sınıflandırma Yüzdesi			66.0

Tablo 19. Klopidoğrel Direnci Üzerinde Etkisi Olduğu Düşünülen Değişkenlerin Çok Değişkenli Lojistik Regresyon Modelinden Elde Edilen Sınıflama Tablosu

8 . TARTIŞMA

Aspirin ve klopidogrel in perkutan koroner girişim uygulanmış hastalarda birlikte kullanımı, kısa veya uzun vadede major kardiyak olay riskini, özellikle stent trombozunu azaltması bakımından hayati öneme sahiptir.¹⁶⁴ Fakat geçmiş çalışmalar, klopidogrel etkinliğinin kişiler arası değişkenlik gösterdiğini, bununda rezidüel trombosit aktivitesinin yüksek olmasına neden olduğunu göstermiştir.¹⁶⁵ Klopidogrel sonrası yüksek trombosit aktivitesine sahip olanlar, klopidogrel e normal yanıt verenlere göre daha fazla iskemik olaya maruz kalmıştır.¹⁶⁶ Trombosit e klopidogrel yanıtı ; klinik, hücre sel ve genetik nedenlerle farklılık gösterebilir.¹⁶⁷

CYP2C19 gen polimorfizmi:

Genetik nedenler arasında başta CYP2C19 olmak üzere, CYP izoenzimlerini kodlayan genlerde, tek nukleotid polimorfizmleri gelişmiş olması önemli yer tutar. Çünkü, bunların klopidogrel in aktif metabolitinin üretimini ve farmakodinamik etkilerini azalttığı, koroner stent uygulanmış hastalarda iskemik olayların artmasına neden olduğu gösterilmiştir.¹⁶⁸⁻¹⁶⁹ Bu durum FDA(Food and Drug Administration)'in ve ACC/AHA'nın klinik uyarı yayınlamalarına neden olmuştur.¹⁷⁰⁻¹⁷¹ CYP2C19'u kodlayan gende en az 25 tek nukleotid polimorfizmi tanımlamıştır. Bunların içinde CYP2C19*2 alleli en çok çalışılmış olandır ve klopidogrel in aktif metabolitinin serum konsantrasyonunu, dolayısıyla trombosit agregasyonun inhibisyonunu azaltır.¹⁷² CYP2C19 geninde her iki allelde mutasyona uğradığında (m/m) zayıf metabolizasyon söz konusudur. Zayıf metabolizasyon olan bireylerin sıklığı toplumdan topluma değişmektedir. Beyaz Amerikalılarda % 2,5, Afro-Amerikalarda %2, beyaz Avrupalılarda %3,5 olup; Japonlarda %18-22,5, Çinlilerde %19,8 'e varan düzeydedir.¹⁷³ Bizim çalışmamızda zayıf metabolizasyon olan hasta oranı % 2 'dir. Her iki hastada CYP2C19*2 homozigot olup, CYP2C19*3 için homozigot birey izlenmemiştir.

Scott ve ark ve ark. *2 ve *3 allel sıklığını farklı etnik gruplarda belirtmiştir.(Tablo 20) ⁸⁴ Bizim çalışmamızda *2 alleli, heterozigot (bir normal, bir mutant allel) % 5, homozigot (her iki allelde mutant) % 2 olmak üzere toplam % 7'dir. CYP2C19*3 alleli içinse homozigot hasta izlenmemiş, 2 hastada (%2) heterozigot polimorfizm izlenmiştir. Ülkemizde, bilindiği kadarıyla kardiyoloji alanında bu gen polimorfizmi incelenmemiştir. Ancak, gastroenteroloji alanında dispepsi yakınması olan 100 hastada, Celebi ve ark. tarafından yapılan çalışmada bu oran CYP2C19*2 için % 13, CYP2C19*3 için %1 olarak saptanmıştır.¹⁷⁴ Bu çalışmada da, bizim çalışmamıza benzer biçimde CYP2C19*3 için homozigot polimorfizm saptanmamış, CYP2C19*2 homozigot ise % 1 saptanmıştır. Bu veriler ışığında, CYP2C19*2 polimorfizm

sıklığının asya toplumlarından ziyade, batı toplumuna daha yakın olduğu söylenebilir. Fakat, bizim bulgularımızda CYP2C19*2 sıklığı diğer çalışmalara göre daha azdı, CYP2C19*3 sıklığı ise asya toplumalarına daha yakın bir değerdedi.

Allel	Afrika	Amerika	Avrupa	Doğu Asya	Orta ve Güney Asya	Bizim Çalışmamız
*2 (%)	15	12	15	29	35	7
*3 (%)	0.5	0.03	0.4	8.9	2.4	2

Tablo 20 CYP2C19*2 ve CYP2C19*3'in coğrafi lokalizasyona göre değişimi ve çalışmamız verileriyle karşılaştırması

Daha önceki çalışmalarda CYP2C19 mutant alleli taşıyıcılarının kardiyovasküler olay, stent trombozu ve ölüm için artmış riske sahip oldukları belirtilmiştir.^{83,84} Buna göre fonksiyon kaybı alleli taşıyanlarda, taşımayanlara göre kardiyovasküler olay veya ölüm riski 1,5 ila 2 kat daha fazladır. Ayrıca, CYP2C19'un en azından bir azalmış fonksiyon gösteren allelini taşıyan hastalarda stent trombozu riski, taşımaya göre 3-4 kat daha fazladır.¹⁷⁵⁻¹⁷⁶ CYP2C19*2 gen polimorfizmi ile ilgili yapılan bir metaanalizde, 8000'den fazla koroner arter hastalığı olan hasta 1 ay ile 8.3 yıl arası takip edilmiştir.¹⁷⁷ CYP2C19*2 gen polimorfizmi ile klopidogrel alan hastada kardiyovasküler olay riski incelenmiş ve kardiyovasküler olay riski ile ilişkili olduğu sonucuna varıldı. Bu konunun gelişimine bakarsak ilk olarak Giusti ve ark.⁸⁶, CYP2C19*2 gen polimorfizmi ile klopidogrel sonrası yüksek trombosit reaktivitesi arasında ilişkiyi ortaya koymuştur. Sonrasında bu bilginin klinik yansımaları üzerine Trenk ve ark. tarafından yapılan çalışmada, 1 yıl içerisinde tekrarlayan kardiyovasküler olay ile CYP2C19*2 gen polimorfizmi arasında ilişki kuramamıştır.¹⁷⁸ Fakat sonrasında çok sayıda çalışmada (Mega ve ark, Collet ve ark, Shuldiner ve ark.) CYP2C19*2 ile klinik sonuç arasında anlamlı ilişki olduğu yönündedir.^{89, 179,180} Son olarak Sibbing ve ark., CYP2C19*2 gen polimorfizmine sahip olanların artmış stent trombozu riski ile karşı karşıya olduğunu vurgulamıştır.⁹⁰ İlginç olarak metaanalize göre kısa takip süresi olan çalışmalarda kardiyovasküler olay, uzun vadeli çalışmalara göre daha fazladır. Bizim çalışmamızda CYP2C19*2 gen polimorfizminin ülkemizde koroner arter hastalığı olanlardaki yaygınlığını tespit etme yanında, bunun klopidogrel sonrası yüksek trombosit reaktivitesi ile ilişkisini saptamayı amaçlamıştır. Bulgularımıza göre mutant allel taşıyan 9 hastanın 6'sında klopidogrel direnci söz konusudur. Ancak PRU > 240 klopidogrel direnci olarak kabul

edildiğinde mutant allel taşıyıcılığı ile klopidogrel direnci arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı düzeye ulaşamamıştır. ($p= 0.073$). Analiz PRU değerine göre yapıldığında da CYP2C19 *11 alleli PRU 213.69 ± 70.99 , CYP2C19 * 12+13+22 allellerin PRU 260.88 ± 70.97 saptanmakta, fakat bu farklılık istatistiksel anlamlılığa ulaşamamaktadır. ($p =0.093$) CYP2C19*2 alleli için bakıldığında homozigot olan 2 hastanın 2'sinde de klopidogrel direnci varken, heterozigot allel taşıyan 5 hastanın 3'ünde vardır. Fakat bu verilerde klopidogrel direnci ile ilişki açısından istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Bu durum öncelikli olarak mutant allel saptanan hasta sayısının göreceli olarak daha düşük olmasına bağlanabilir. Özellikle heterozigot CYP2C19*2 allel taşıyan hasta sayısının diğer çalışmalara kıyasla daha az olması bu durumda dikkat çekici bir unsurdur. Çalışmamızda CYP2C19*2 gen polimorfizmi ile klinik sonuç arasındaki ilişkini saptanması amaçlanmamıştır. Ancak, çalışmamızda işlem sonrası stent trombozu gelişen bir hastada klopidogrel direnci izlenip, genetik analizde homozigot CYP2C19 *22 polimorfizmi saptanmıştır. CYP2C19*3 alleli ise 2 hastada saptanmış, bunlardan 1'inde direnç izlenmiştir. Bu sonuçla istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak, CYP2C19*2 gen polimorfizmi ile kıyaslandığında daha az görülen CYP2C19*3 gen polimorfizmi ile ilgili yorum yapabilmek için bu mutant gen saptanan hasta sayısının fazlalığına ihtiyaç vardır.

CYP2C19*2 veya *3 ile ilişkili klopidogrel yanıtızsızlığı durumunda alternatif antitrombotik ilaçlara geçmek uygun olabilir. Prasugrel ile ilgili Mega ve ark., Brandt ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda taşıyıcı olanlarda, olmayanlarla benzer düzeyde aktif metabolit düzeyi ve trombosit inhibisyonu gözlenmiştir. ^{181,182} Bir diğer P2Y12 inhibitörü olan tikagrelor ile yapılan çalışmalarda ^{183,184}, tikagrelorun bu gen polimorfizminin etkilerine duyarlı olmadığı saptanmıştır. CYP2C19*2 alleli taşıyan AKS nedeniyle PKG uygulanmış hastalarda prasugrel kullanımı durumunda ölüm, inme, MI, stent trombozu riskinde artış söz konusu değildir.

Bu sonuçlara rağmen, genetik analiz rutin klinik pratikte pahalı oluşu, teknik ekipman ve tecrübe gerektirishi nedeniyle sık kullanılmaz. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada CYP2C19*2 taşıyıcılığının yüksek residüel trombosit aktivitesi için en güçlü öngördücü olduğu, fakat bunun bütün klinik ve demografik veriler değerlendirildiğinde residüel trombosit aktivitesinin sadece % 11.5'ini açıkladığı vurgulanmıştır. ¹⁸⁵ Bu nedenle, perkütan koroner girişim uygulanmış bütün hastalara genetik analiz uygulanamayabilir.

DM ve İnsülin Direnci :

Tip 2 DM 'ye trombosit fonksiyon bozukluğunun eşlik etmesi, bununda aterosklerozu hızlandırıcı etkisi ve aterotrombotik olay riskini arttırdığı bilinen bir olgudur.¹⁸⁶⁻¹⁸⁷ Çok sayıda çalışmaya göre klopidogrelle yanıtı diabetik hastalarda, diabetik olmayanlara göre daha fazladır.¹¹⁹ Angiolillo ve ark. yaptığı çalışmada 300 mg yükleme dozu sonrası elektif PKG uygulanan tip 2 DM hastalarında 24 saatte klopidogrelle yanıtı hasta sayısının dört kat daha fazla olduğunu ve trombosit reaktivitesinin klopidogrelin idame döneminde de yüksek olduğunu belirtmiştir. Klopidogrel yanıtı diabetin ileri aşamasındaki insülin ihtiyacı olan hastalarda görüldüğünü vurgulanmıştır. Buna karşın Geisler ve ark. AKS nedeniyle yatan diabetik hastalarda, 600 mg yükleme sonrası klopidogrel yanıtının daha az olduğunu göstermiş; Angiolillo ve ark.'nın yaptığı çalışmaya atıfta bulunarak 600 mg klopidogrel yüklemenin de özellikle AKS 'li diabetik hastalarda yeterli yanıtı sağlamadığı belirtmişlerdir.¹⁸⁸ Bizim çalışmamızda hasta popülasyonunun % 36'sı diabetikti. DM hastalarının % 13.8'i AKS tanısı ile yatırılmıştı. DM hastalarının 14 'ünde (% 38,9) klopidogrel direnci izlendi, istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.(p = 0.93). Benzer biçimde hastaların insülin düzeyi, açlık kan şekeri ve HbA1c düzeyleri ile klopidogrel direnci arasında anlamlı ilişki izlenmemiştir.

Diabetik hasta grubunda klopidogrel yanıtı durumunda ne yapılabileceği birkaç çalışmada araştırılmıştır. OPTIMUS (Optimizing anti-Platelet Therapy In diabetes Mellitus) çalışmasında klopidogrel daimi tedavisi altında tip 2 DM 'si olan yüksek trombosit reaktivitesi olan hastalar alınmıştır.¹⁸⁹ Bu çalışmaya göre 150 mg klopidogrel kullanımı, 75 mg klopidogrel kullanımına göre önemli düzeyde daha fazla trombosit inhibisyonu sağlamaktadır. Fakat, anlamlı sayıda hastada trombosit reaktivitesi, tedavi eşiğinin üzerinde kalmıştır. Tip 2 DM 'li hastalarda P2Y12 inhibisyonunu arttırmanın diğer bir yolu klopidogrelle silostazol eklemektir. OPTIMUS-2 çalışması trombosit içi cAMP seviyesini silostazol ile arttırarak, klopidogrel inhibitör etkinliğinin yükseltildiğini göstermiştir.¹⁹⁰ Bu da üçlü antitrombosit tedavi (aspirin, klopidogrel ve silostazol) alanlarda klinik sonuçların özellikle diabetik hasta grubunda neden daha iyi olduğunu gösterebilir.¹⁹¹

Glikoprotein IIb/IIIa inhibitörlerinin diabetik hastalarda, özellikle AKS ile başvurdıklarında faydalı olduğu gösterilmiştir.¹⁹² Fakat, bu ilaçlar intravenöz olarak uygulandığından, klopidogrelle yetersiz yanıt durumunda idame dönemde kullanılamaz. Bu nedenle yeni P2Y12 antagonistleri kullanılabilir. TRITON (Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition) TIMI 38 çalışmasında AKS ile başvuran PKG uygulanmış

13608 hastada prasugrel ve klopidogrel karşılaştırılmıştır. ¹⁹³ Hastalar 60 mg prasugrel yükleme ve 10 mg /gün idame veya 300 mg klopidogrel ve 75 mg/gün idame olacak şekilde randomize edilmiştir. Primer son nokta olan kardiovasküler ölüm, ölümlerle sonuçlanmayan ölüm veya inme, prasugrel grubunda anlamlı olarak daha azdır. (%12.1 vs %9.9, p<0.001). Burada dikkate değer bir noktada, prasugrel tedavisinden en fazla fayda gören grubun diyabetik hastalar olmasıdır. ¹⁹⁴ Diyabetik olan 3146 hastada, primer son nokta prasugrel grubunda anlamlı olarak daha azdır. (%12.2 vs %17.0, p<0.001) Yeni antitrombotik ajanların çıkması ile diyabetik hastalarda tedavi stratejisi güncellenip, bireyselleştirilebilir.

Daha önce yapılan çalışmalarda VKİ yüksek olan bireylerde de trombosit reaktivitesi artmıştır. Bu hastalardaki trombositler insülinin inhibitör etkisine zayıflamış yanıt verirler. Angiolillo ve ark. 300 mg klopidogrel yüklemesi sonrası yüksek VKİ olanlarda suboptimal trombosit yanıtı görüldüğünü belirtmiştir. ¹⁹⁵ Bizim çalışmamızda hastaların VKİ klopidogrel direnci olan grupta 28.38 ± 3.45 ; klopidogrel yanıtı olan grupta ise 27.42 ± 2.91 saptanmış, istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir. (p =0.139) Ancak sadece VKİ'ye göre obez olarak tanımlanabilecek, VKİ > 30 hastalar alındığında bu hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı derece daha fazla hastada direnç izlenmiştir.(p=0.015) Diğer değişkenler sabit kaldığında BMI'm 30'dan büyük olması klopidogrel direnci olması ihtimalini 2.875 kat arttırmaktadır. Bel çevresi dikkate alındığında ise klopidogrel direnci ile bu parametre arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. (p =0.848)

İlaç kullanımı :

Klopidogrel direnci ile ilişkili önemli noktalardan biride klopidogrelle beraber kullanılan ilaçlar arasındaki etkileşimdir. Proton pompa inhibitörleri, klopidogrel metabolizmasını etkilediği bilinen bir ilaç grubu olarak incelenmiştir. Klopidogrelin CYP2C19 enzimi üzerinde PPI ile yarışmalı etkisi bu durumu açıklayabilir. PPI'lar içerisinde omeprazolün klopidogrel etkinliğini azaltıcı etkisi varken; pantoprazol ve esomeprazolün bu tür bir etkisi gösterilememiştir. ¹⁹⁶ Bu nedenle önce Mayıs 2009'da European Medicines Agency, ardından Kasım 2009'da US FDA klopidogrel ile omeprazol arasındaki negatif etkileşimi vurgulayıp, uyarıda bulunmuştur. Bizim çalışmamızda hastaların hepsi PPI veya H2 reseptör blokörü kullanmaktaydı. 93 hasta pantoprazol, 4 hasta esomeprazol, 1 hasta lansoprazol, 2 hasta famotidin kullanmaktaydı. Hiçbir hastada omeprazol kullanılmamıştır. PPI kullanımı ile H2 reseptör kullanımı arasında klopidogrel direnci açısından anlamlı fark izlenmedi. (p = 0.529) Sadece pantoprazol ile diğer ilaçlar karşılaştırıldığında da anlamlı fark saptanmadı. (p= 0.255)

Erken dönem çalışmaları statin kullanımının klopidogrel etkinliği üzerinde, CYP3A4 enzim yolunu paylaşması nedeniyle olumsuz etkisi olabileceğini belirtse; yeni çalışmalar statin ile klopidogrel arasında anlamlı bir ilişki olmadığını, ikisinin birlikte kullanımının güvenli olduğunu göstermiştir. ^{197,198,199} Bizim çalışmamızda hastaların % 92'si statin kullanmaktaydı. Statin kullanan hastalarda % 38 oranında direnç izlenirken, istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi. (p =0.707)

Obezite ve Leptin Düzeyi:

Obezite; ateroskleroz, tromboz, inme ve Mİ için bağımsız bir risk faktörüdür ve bu nedenle özellikle gelişmiş ülkelerde ciddi bir sağlık sorunudur. ²⁰⁰ Yakın zamanda yapılan çalışmalar metabolik düzensizlikler, koagülasyon sistemindeki değişiklikler yanında, artmış leptin düzeyinde kardiyovasküler hastalık için risk oluşturarak bu duruma etki ettiğini göstermiştir. ¹²⁶

Obezite geninin ürünü olarak öncelikle adipositlerden üretilen leptinin, klopidogrel ile ilişkisini araştırılmasının çıkış noktası trombositler üzerinde leptin reseptörünün bulunmasıdır. ¹⁴¹ Bir sonraki aşama ise obez farelerde ADP'ye trombosit agregasyonu yanıtında artış olduğunu saptanmasıdır. ¹⁴² Çoğu obez hastada leptin düzeyi yüksek olup, bu durum leptin direnci nedeniyle gerçekleşmektedir. Bu noktada sorulmasını gereken temel soru şu olmalıdır: Acaba trombositler, leptin direncinin gerçekleştiği yerlerden biri midir? Dellas ve ark, obez hastalarda trombositlerin leptinin ADP aracılı agregasyonu uyarmasına karşı dirençli olmadığını göstermiştir. ¹⁴⁷ Bu durum daha önce Corsonello ve ark. tarafından yapılan, trombositin leptin direnci görülen yerlerden biri olabileceği öne süren çalışmasına karşıttır.

Klopidogrel, ADP reseptör etkinliğini inhibe ederek trombosit agregasyonunu azaltan bir ilaç olarak, leptin düzeyinden etkilenip etkilenmediği çalışmamızın araştırma konularından biridir. Çalışmamızda klopidogrel direnci olan olgularda serum leptin düzeyi 8.03 ± 7.27 ; klopidogrel yanıtı olan hastalarda ise 5.48 ± 5.82 izlenmiştir. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır. (P= 0.116) Hiperleptinemi olarak kabul edilen leptin düzeyinin 15 ng/ml baz alındığında ise bu seviyenin üstünde olan hastalarda klopidogrel direnci anlamlı olarak daha fazladır. (p= 0.017) Leptin düzeyi > 15 hastalarda PRU değeri 292.18 ± 70.11 iken, leptin düzeyi < 15 ng/ml olan hastalarda PRU değeri 208.76 ± 66.98 saptanmıştır. Leptin düzeyi >15 olan grubun klopidogrel PRU düzeyleri, leptin <15 grubundan istatistiksel olarak

anlamli derecede yuksektir. ($p= 0.001$) Diğer değişkenler sabit kaldığında, leptin düzeyinin 15'in uzerinde olması ise direnç ihtimalini 4.532 kat arttırmaktadır. Benzer biçimde leptin düzeyi ile klopidogrel direnci arasındaki ilişkiyi araştıran Gatto ve ark tarafından yapılan çalışmada, 153 PKG uygulanmış hasta alınmış, PRU >240 olanlar veya bazal seviyeye göre trombosit agregasyonunda % 30 azalma olanlar klopidogrel yanıtızsız olarak değerlendirilmiştir. Buna göre klopidogrel yanıtızsız grupta leptin düzeyi 11.4 ± 15.7 iken, klopidogrel yanıt veren grupta 7.32 ± 6.48 ng/ml olmuştur. ($p=0.035$). Leptin seviyesi < 15 ng/ml olan hastalarda PRU (219.69 ± 81.29 vs 262.63 ± 66.78 ; $P=0.006$) saptanmıştır. Leptin düzeyi > 15 ng/ml olan hastalarda trombosit reaktivitesinin daha yuksek olduğu ve bu hasta grubunda daha agresif bir antitrombosit tedavi gerekebileceği vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda Gatto ve ark. yaptığı çalışmadan farklı olarak sadece hiperleptinemi olan hastalarda anlamlı olarak klopidogrel direnci daha fazla izlenmiştir. Ayrıca residüel trombosit reaktivitesi bu grupta daha yuksektir. Bu nedenle bu hasta grubunda klopidogrel tedavisi daha yuksek dozda düzenlenerek, hasta tedavisi bireyselleştirilebilir.

9 ÇALIŞMANIN KISITLILIKLARI

Çalışmanın kısıtlılıklarından biri klopidogrel tedavisi öncesi bazal PRU değerinin olmayışıdır. Fakat, bütün hastalara yükleme dozu ve idame dozu sonrası ya da 5 günlük idame doz sonrası, PKG uygulaması ardından 1. günde VerifyNow ile PRU değeri bakılmıştır, eşik değeri olarakta çoğu yayında kritik bir düzey olarak kabul edilen 240 alınmıştır. Bu da kısıtlılığı bir ölçüde aşmayı sağlamaktadır. Bir diğer kısıtlılık, çalışmanın klinik sonlanım noktalarını amaçlamamasıdır. Ancak, takip boyunca sadece 2 hastada stent trombozu gelişmiş, ölüm izlenmemiştir. Bir diğer kısıtlılık ise CYP2C19 gen polimorfizminde CYP2C19*2 alleleline sahip hasta sayısının beklenenin altında kalması ve bu nedenle klopidogrel direnci daha fazla görölmesine rağmen istatistiksel anlamlılığa ulaşılamamasıdır.

10 SONUÇ

Bu çalışma, perkutan koroner girişim uygulanmış, klopidogrel kullanan hastalarda klopidogrel direncinin, obezite ve hiperleptinemi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Klopidogrel direnci, olumsuz kardiyovasküler olay ile bağlantılı olduğundan özellikle bu hasta grubunda dikkatli olunmalı, gerekirse klopidogrel dozu arttırılmalıdır. Çalışmamızda, CYP2C19*2 alleli, Batı toplumlarına daha yakın düzeyde, hatta göreceli olarak daha az saptanmıştır. Mevcut literatür ışığında CYP2C19*2 alleli klopidogrel direnci ile ilişkili

olmasına rağmen, mutant allel saptanan hasta sayısının azlığı nedeniyle bu allelle klopidogrel direnci arasındaki ilişki istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Bu nedenle toplumumuzda klopidogrel direnci ile CYP2C19*2 alleli arasında ilişkinin ortaya konması için daha fazla mutant allel taşıyan hasta sayısına ihtiyaç vardır. CYP2C19*3 ise CYP2C19*2 'ye göre daha az saptanmasına rağmen veriler genel popülasyona yakındır. Bu grupta da klopidogrel direnci ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Obez, leptin yüksekliği olan hastalarda, CYP2C19 gen polimorfizmi varlığında klopidogrel yanıtının nasıl olduğu konusunda ise geniş çaplı araştırmalara gereksinim vardır.

11. KAYNAKLAR

1. Steinhubl, S., & Moliterno, D. J. The role of the platelet in the pathogenesis of atherothrombosis. *Am J Cardiovasc Drugs* 2005; 5(6): 399–408.
2. Savi, P., Beauverger, P., Labouret, C., Delfaud, M., Salel, V., Kaghad, M., et al. Role of P2Y1 purinoceptor in ADP-induced platelet activation. *FEBS Lett* 1998; 422(3): 291–5.
3. Herbert, J. M., & Savi, P. P2Y12, a new platelet ADP receptor, target of clopidogrel. *Semin Vasc Med* 2003; 3(2), 113–22.
4. King, S. B., Smith, S. C., Hirshfeld, J. W., Jacobs, A. K., Morrison, D. A., Williams, D. O., et al. Focused update of the ACC/AHA/SCAI 2005 guideline update for percutaneous coronary intervention: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: 2007 Writing Group to Review New Evidence and Update the ACC/AHA/SCAI 2005 Guideline Update for Percutaneous Coronary Intervention. *Circulation* 117(2), 261–95 [Erratum, *Circulation* 2008; 117(6): e161].
5. Bhatt DL, Bertrand ME, Berger PB, et al. Meta-analysis of randomized and registry comparisons of ticlopidine with clopidogrel after stenting. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 9–14.
6. Gurbel, P. A., Bliden, K. P., Hiatt, B. L., & O'Connor, C. M. Clopidogrel for coronary stenting: Response variability, drug resistance and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation* 2003; 107(23): 2908–13.
7. Angiolillo, D. J., Fernandez-Ortiz, A., Bernardo, E., Alfonso, F., Macaya, C., Bass, T. A., et al. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: Clinical implications, management and future perspectives. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49(14): 1505–16.
8. Matetzky, S., Shenkman, B., Guetta, V., Shechter, M., Bienart, R., Goldenberg, I., et al. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2004; 109(25): 3171–5.
9. Hochholzer, W., Trenk, D., Bestehorn, P., Fischer, B., Valina, C. M., Ferenc, M., et al. Impact of the degree of peri-interventional platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective coronary stent placement. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48(9): 1742–50.
10. Gurbel PA, Antonino MJ, Tantry US. Recent developments in clopidogrel pharmacology and their relation to clinical outcomes. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2009; 5: 989-1004.
11. Gurbel PA, Tantry US, Shuldiner AR, Kereiakes DJ. Genotyping: one piece of the puzzle to personalize antiplatelet therapy. *J Am Coll Cardiol* 2010; 56: 112-6.
12. Jennigs LK. Role of platelets in atherothrombosis. *Am J Cardiol* 2009; 103[suppl]: 4A–10A
13. Farndale RW, Sixma JJ, Barnes MJ, de Groot PG. The role of collagen in thrombosis and hemostasis. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 561–73.

-
14. Kaplan ZS, Jackson SP. Role of platelets in atherothrombosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Prog* 2011; 2011: 51-61.
 15. Varga-Szabo D, Pleines I, Nieswandt B. Cell adhesion mechanisms in platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 403– 12.
 16. Du X. Signaling and regulation of the platelet glycoprotein Ib-IX-V complex. *Curr Opin Hematol* 2007; 14: 262–9.
 17. Shattil SJ, Newman PJ. Integrins: dynamic scaffolds for adhesion and signaling in platelets. *Blood* 2004; 104: 1606 –15.
 18. Simon DI, Chen Z, Xu H, Li CQ, Dong J, McIntire LV, Ballantyne CM, Zhang L, Furman MI, Berndt MC, Lopez JA. Platelet glycoprotein Iba is a counterreceptor for the leukocyte integrin Mac-1 (CD11b/CD18). *J Exp Med* 2000; 192: 193–204.
 19. Jennings LK, Saucedo JF. Antiplatelet and anticoagulant agents: key differences in mechanisms of action, clinical application, and therapeutic benefit in patients with non-ST-segment-elevation acute coronary syndromes. *Curr Opin Cardiol* 2008; 23: 302–8.
 20. Turitto VT, Weiss HJ, Zimmerman TS, Sussman II. Factor VIII/von Willebrand factor in subendothelium mediates platelet adhesion. *Blood* 1985; 65: 823– 31.
 21. Watson SP, Gibbins J. Collagen receptor signalling in platelets: extending the role of the ITAM. *Immunol Today* 1998; 19: 260-4.
 22. Brisson C, Azorsa DO, Jennings LK, Moog S, Cazenave JP, Lanza F. Co-localization of CD9 and GPIIb-IIIa (α IIb β 3 integrin) on activated platelet pseudopods and alpha granule membranes. *Histochem J* 1997; 29: 153-65.
 23. Reilly M, Fitzgerald GA. Cellular activation by thromboxane A2 and other eicosanoids. *Eur Heart J* 1993;14(suppl K): 88-93.
 24. Dormann D, Clemetson KJ, Kehrel BE. The GPIb thrombin-binding site is essential for thrombin-induced platelet procoagulant activity. *Blood* 2000; 96: 2469-78.
 25. Michelson AD. Antiplatelet therapies for the treatment of cardiovascular disease. *Nat Rev Drug Discov.* 2010; 9(2): 154-69.
 26. Jin J, Kunapuli SP. Coactivation of two different G protein-coupled receptors is essential for ADP-induced platelet aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 8070–4.
 27. Vorchheimer DA, Becker R. Platelets in atherothrombosis. *Mayo Clin Proc* 2006; 81: 59–68.
 28. Li G, Sanders JM, Phan ET, Ley K, Sarembock IJ. Arterial macrophages and regenerating endothelial cells express P-selectin in atherosclerosis-prone apolipoprotein E-deficient mice. *Am J Pathol* 2005; 167: 1511–8.

-
29. Henn V, Slupsky JR, Grafe M, Anagnostopoulos I, Forster R, Muller-Berghaus G, Kroczeck RA. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature* 1998; 391: 591–4.
 30. Gawaz M, Langer H, May H. Platelets in inflammation and atherogenesis. *J. Clin. Invest* 2005; 115: 3378-84.
 31. Savi, P., Nurden, P., Nurden, A. T., Levy-Toledano, S., & Herbert, J. M. Clopidogrel: A review of its mechanism of action. *Platelets* 1998; 9(3-4): 251-5.
 32. Marteau, F., Le Poul, E., Communi, D., Communi, D., Labouret, C., Savi, P., et al. Pharmacological characterization of the human P2Y₁₂ receptor. *Mol Pharmacol* 2003; 64(1): 104-12.
 33. Kunapuli SP, Dorsam RT, Kim S, Quinton TM. Platelet purinergic receptors. *Curr Opin Pharmacol* 2003; 3: 175- 80.
 34. Geiger J, Brich J, Honig-Liedl P, et al. Specific impairment of human platelet P2Y₁₂(AC) ADP receptor-mediated signaling by the antiplatelet drug clopidogrel. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2007-11.
 35. Nguyen, T. A., Diodati, J. G., & Pharand, C. Resistance to clopidogrel: A review of the evidence. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45(8): 1157–64.
 36. Pereillo JM, Maftouh M, Andrieu A, et al. Structure and stereochemistry of the active metabolite of clopidogrel. *Drug Metab Dispos* 2002; 30: 1288 –95.
 37. Müller, I., Seyfarth, M., Rüdiger, S., Wolf, B., Pogatsa-Murray, G., Schömig, A., et al . Effect of a high loading dose of clopidogrel on platelet function in patients undergoing coronary stent placement. *Heart* 2001; 85(1): 92–93.
 38. Von Beckerath, N., Taubert, D., Pogatsa-Murray, G., Schömig, E., Kastrati, A., & Schömig, A. Absorption, metabolization, and antiplatelet effects of 300-, 600-, and 900-mg loading doses of clopidogrel: Results of the ISAR-CHOICE (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose Between 3 High Oral Doses for Immediate Clopidogrel Effect) Trial. *Circulation* 2005; 112(19): 2946–50.
 39. Quinn MJ, Bhatt DL, Zidar F, et al. Effect of clopidogrel pretreatment on inflammatory marker expression in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2004; 93: 679–84.
 40. Xiao Z, Theroux P. Clopidogrel inhibits platelet-leukocyte interactions and thrombin receptor agonist peptide-induced platelet activation in patients with an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1982– 8.
 41. 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: observations from

the Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events (CURE) study. *Circulation* 2003; 108: 1682–7.

42. Hirsh J, Bhatt DL. Comparative benefits of clopidogrel and aspirin in high-risk patient populations: lessons from the CAPRIE and CURE studies. *Arch Intern Med* 2004; 164: 2106–10.

43. Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, et al. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *Lancet* 2001; 358: 527–33.

44. Selcuk H, Selcuk MT, Erdogan İ. Akut koroner sendromda klopidogrel kullanımı. *Türk Kardiyol Dern Ars* 2007; 35(2): 110-17.

45. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology. Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, Bax J, Boersma E, Bueno H, Caso P, Dudek D, Gielen S, Huber K, Ohman M, Petrie MC, Sonntag F, Uva MS, Storey RF, Wijns W, Zahger D; ESC Committee for Practice Guidelines, Bax JJ, Auricchio A, Baumgartner H, Ceconi C, Dean V, Deaton C, Fagard R, Funck-Brentano C, Hasdai D, Hoes A, Knuuti J, Kolh P, McDonagh T, Moulin C, Poldermans D, Popescu BA, Reiner Z, Sechtem U, Sirnes PA, Torbicki A, Vahanian A, Windecker S; Document Reviewers, Windecker S, Achenbach S, Badimon L, Bertrand M, Bøtker HE, Collet JP, Crea F, Danchin N, Falk E, Goudevenos J, Gulba D, Hambrecht R, Herrmann J, Kastrati A, Kjeldsen K, Kristensen SD, Lancellotti P, Mehilli J, Merkely B, Montalescot G, Neumann FJ, Neyses L, Perk J, Roffi M, Romeo F, Ruda M, Swahn E, Valgimigli M, Vrints CJ, Widimsky P. *Eur Heart J*. 2011 Dec; 32(23): 2999-3054. doi: 10.1093/eurheartj/ehr236. Epub 2011 Aug 26.

46. Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, et al. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2005; 352: 1179–89.

47. Chen ZM, Jiang LX, Chen YP, et al. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2005; 366: 1607–21.

48. Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, Lopez-Sendon JL, Montalescot G, Theroux P, et al. Effect of clopidogrel pretreatment before percutaneous coronary intervention in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with fibrinolytics: the PCI-CLARITY study. Clopidogrel as Adjunctive Reperfusion Therapy (CLARITY)-Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 28 Investigators. *JAMA* 2005; 294: 1224-32.

49. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology (ESC). Authors/Task Force Members, Steg PG, James SK, Atar D, Badano LP, Lundqvist CB, Borger MA, Di Mario C, Dickstein K, Ducrocq G, Fernandez-Aviles F, Gershlick AH,

Giannuzzi P, Halvorsen S, Huber K, Juni P, Kastrati A, Knuuti J, Lenzen MJ, Mahaffey KW, Valgimigli M, Van't Hof A, Widimsky P, Zahger D; ESC Committee for Practice Guidelines (CPG), Bax JJ, Baumgartner H, Ceconi C, Dean V, Deaton C, Fagard R, Funck-Brentano C, Hasdai D, Hoes A, Kirchhof P, Knuuti J, Kolh P, McDonagh T, Moulin C, Popescu BA, Reiner Z, Sechtem U, Sirnes PA, Tendera M, Torbicki A, Vahanian A, Windecker S; Document Reviewers, Hasdai D, Astin F, Aström-Olsson K, Budaj A, Clemmensen P, Collet JP, Fox KA, Fuat A, Gustiene O, Hamm CW, Kala P, Lancellotti P, Maggioni AP, Merkely B, Neumann FJ, Piepoli MF, Van de Werf F, Verheugt F, Wallentin L. *Eur Heart J*. 2012 Sep 11.

50. Steinhubl SR, Berger PB, Mann JT, et al. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. CREDO Investigators. *JAMA* 2002; 288: 2411–20.

51. Pfisterer M, Brunner-La Rocca HP, Buser PT, Rickenbacher P, Hunziker P, Mueller C, Jeger R, Bader F, Osswald S, Kaiser C, for the BASKET-LATE Investigators. Late clinical events after clopidogrel discontinuation may limit the benefit of drug-eluting stents: an observational study of drug-eluting versus bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol*. 2006; 48: 2584–91.

52. Guidelines on myocardial revascularization The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). Authors/Task Force Members: William Wijns (Chairperson) (Belgium), Philippe Kolh (Chairperson) (Belgium), Nicolas Danchin (France), Carlo Di Mario (UK), Volkmar Falk (Switzerland), Thierry Folliguet (France), Scot Garg (The Netherlands), Kurt Huber (Austria), Stefan James (Sweden), Juhani Knuuti (Finland), Jose Lopez-Sendon (Spain), Jean Marco (France), Lorenzo Menicanti (Italy) Miodrag Ostojic (Serbia), Massimo F. Piepoli (Italy), Charles Pirlet (Belgium), Jose L. Pomar (Spain), Nicolaus Reifart (Germany), Flavio L. Ribichini (Italy), Martin J. Schalij (The Netherlands), Paul Sergeant (Belgium), Patrick W. Serruys (The Netherlands), Sigmund Silber (Germany), Miguel Sousa Uva (Portugal), David Taggart (UK). *Eur Heart J*. 2010 Oct; 31(20):2501-55. Epub 2010 Aug 29.

53. Kushner FG, Hand M, Smith SC, Jr., et al. 2009 Focused Updates: ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients With ST-Elevation Myocardial Infarction (updating the 2004 Guideline and 2007 Focused Update) and ACC/ AHA/SCAI Guidelines on Percutaneous Coronary Intervention (updating the 2005 Guideline and 2007 Focused Update): a report of the American College of Cardiology Foundation/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2009; 120: 2271-2306.

54. Silber S, Albertsson P, Avilés FF, et al. Guidelines for percutaneous coronary interventions. The Task Force for Percutaneous Coronary Interventions of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2005; 26: 804-47.

55. Pyrgakis VN, Goudevenos JA. Clopidogrel and cardiovascular diseases: recommendations for its correct use. *Hellenic J Cardiol*. 2010; 51: 83-6.

56. Gurbel PA, Tantry US. Clopidogrel resistance? *Thromb Res*. 2007; 120: 311-21.

-
57. Ben-Dor I, Kleiman NS, Lev E. Assessment, mechanisms and clinical implication of variability in platelet response to aspirin and clopidogrel therapy. *Am J Cardiol.* 2009; 104: 227-33.
58. Dupont AG, Gabriel DA, Cohen MG. Antiplatelet therapies and the role of antiplatelet resistance in acute coronary syndrome. *Thromb Res.* 2009; 124: 6-13.
59. Aradi D, Vorobcsuk A, Lenkey Z, Horváth IG, Komócsi A. Low platelet disaggregation predicts poor response to 150 mg clopidogrel in patients with elevated platelet reactivity. *Platelets.* 2010; 21: 1-10.
60. Jeong YH, Kim IS, Choi BR, Kwak CH, Hwang JY. The optimal threshold of high post-treatment platelet reactivity could be defined by a point-of-care VerifyNow P2Y12 assay. *Eur Heart J.* 2008; 29: 2186-7.
61. Vlachojannis GJ, Dimitropoulos G, Alexopoulos D. Clopidogrel Resistance: Current Aspects and Future Directions. *Hellenic J Cardiol* 2011; 52: 236-45.
62. Gremmel T, Steiner S, Seidinger D, Koppensteiner R, Panzer S, Kopp CW. Comparison of methods to evaluate clopidogrel-mediated platelet inhibition after percutaneous intervention with stent implantation. *Thromb Haemost.* 2009; 101: 333-9.
63. Van Werkum JW, van der Stelt CA, Seesing TH, Hackeng CM, ten Berg JM. A head-to-head comparison between the VerifyNow P2Y12 assay and light transmittance aggregometry for monitoring the individual platelet response to clopidogrel in patients undergoing elective percutaneous coronary intervention. *J Thromb Haemost* 2006 Nov; (11): 2516-8. Epub 2006 Aug 28.
64. Breet NJ, van Werkum JW, Bouman HJ, et al. Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation. *JAMA.* 2010; 303: 754-62.
65. Bouman H, Parlak E, van Werkum J, et al. Which platelet function test is suitable to monitor clopidogrel responsiveness? A pharmacokinetic analysis on the active metabolite of clopidogrel. *J Thromb Haemost.* 2010; 8: 482-8.
66. Gachet C, Aleil B. Testing antiplatelet therapy. *Eur Heart J Suppl* 2008; 10 (suppl A): A28-A34.
67. Michelson A. Methods for the Measurement of Platelet Function. *Am J Cardiol* 2009; 103[suppl]: 20A–26A.
68. Harrison P, Keeling D. Clinical tests of platelet function. In: Michelson AD, ed. *Platelets.* 2nd ed. San Diego: Elsevier/Academic Press, 2007: 445– 74.
69. Harrison P, Mackie I, Mumford A, Briggs C, Liesner R, Winter M, Machin S. Guidelines for the laboratory investigation of heritable disorders of platelet function. *Br J Haematol.* 2011 Oct; 155(1): 30-44.

-
70. Michelson AD, Linden MD, Barnard MR, Furman MI, Frelinger AL III. Flow cytometry. In: Michelson AD, ed. *Platelets*. 2nd ed. San Diego: Elsevier/Academic Press, 2007: 545–64.
71. Cattaneo M. The platelet P2 receptors. In: Michelson AD, ed. *Platelets*. 2nd ed. San Diego: Elsevier/Academic Press, 2007: 201–20.
72. Wiviott SD, Trenk D, Frelinger AL, O'Donoghue M, Neumann FJ, Michelson AD, Angiolillo DJ, Hod H, Montalescot G, Miller DL, et al, on behalf of the PRINCIPLE-TIMI 44 Investigators. Prasugrel compared with high loading- and maintenance-dose clopidogrel in patients with planned percutaneous coronary intervention: the Prasugrel in Comparison to Clopidogrel for Inhibition of Platelet Activation and Aggregation-Thrombolysis in Myocardial Infarction 44 trial. *Circulation* 2007; 116: 2923–32.
73. Nebert, D. W., & Russell, D. W. Clinical importance of the cytochromes P450. *Lancet* 2002; 360(9340): 1155–62.
74. Angiolillo, D. J., Fernandez-Ortiz, A., Bernardo, E., Ramirez, C., Cavallari, U., Trabetti, E., et al. Lack of association between the P2Y12 receptor gene polymorphism and platelet response to clopidogrel in patients with coronary artery disease. *Thromb Haemost* 2005; 116(60): 491–7.
75. Clarke, T. A., & Waskell, L. A. The metabolism of clopidogrel is catalyzed by human cytochrome P450 3A and is inhibited by atorvastatin. *Drug Metab Dispos* 2003; 31(1): 53–59.
76. Evans, W. E., & McLeod, H. L. Pharmacogenomics: Drug disposition, drug targets and side effects. *N Engl J Med* 2003; 348(6): 538–49.
77. Lau, W. C., Waskell, L. A., Watkins, P. B., Neer, C. J., Horowitz, K., & Hopp, A. S. Atorvastatin reduces the ability of clopidogrel to inhibit platelet aggregation: A new drug–drug interaction. *Circulation* 2003; 107(1): 32–37.
78. Farid, N. A., Payne, C. D., Small, D. S., Winters, K. J., Ernest, C. S., II, Brandt, J. T., et al. Cytochrome P450 3A inhibition by ketoconazole affects prasugrel and clopidogrel pharmacokinetics and pharmacodynamics differently. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 81(5): 735–41.
79. Angiolillo, D. J., Fernandez-Ortiz, A., Bernardo, E., Ramirez, C., Cavallari, U., Trabetti, E., et al. Contribution of gene sequence variations of the hepatic cytochrome P450 3A4 enzyme to variability in individual responsiveness to clopidogrel. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26(8): 1895–1900.
80. Smith, S.M., Judge, H.M., Peters, G., Armstrong, M., Fontana, P., Gaussem, P., et al. Common sequence variations in the P2Y12 and CYP3A5 genes do not explain the variability in the inhibitory effects of clopidogrel therapy. *Platelets* 2006; 17(4): 250–8.
81. Suh, J. W., Koo, B. K., Zhang, S. Y., Park, K. W., Cho, J. Y., Jang, I. J., et al. Increased risk of atherothrombotic events associated with cytochrome P450 3A5 polymorphism in patients taking clopidogrel. *CMAJ* 2006; 174(12): 1715–22.

-
82. Hulot, J. S., Bura, A., Villard, E., Azizi, M., Remones, V., Goyenvalle, C., et al. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects. *Blood* 2006; 108(7): 2244–7.
83. Desta Z, Zhao X, Shin J-G, Flockhart DA. Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet.* 2002; 41: 913-58.
84. Scott SA, Sangkuhl K, Gardner EE, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450-2C19 (CYP2C19) genotype and clopidogrel therapy. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 90(2): 328-32.
85. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med.*2009; 360: 354-62.
86. Giusti, B., Gori, A. M., Marcucci, R., Saracini, C., Sestini, I., Paniccchia, R., et al. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism, but not CYP3A4 IVS10 + 12G/A and P2Y12 T744C polymorphisms is associated with response variability to dual antiplatelet treatment in high-risk vascular patients. *Pharmacogenet Genomics* 2007; 17(12): 1057–64.
87. Frere, C., Cuisset, T., Morange, P. E., Quilici, J., Camoin-Jau, L., Saut, N., et al. Effect of cytochrome P450 polymorphisms on platelet reactivity after treatment with clopidogrel in acute coronary syndrome. *Am J Cardiol* 2008; 101(8): 1088–93.
88. Trenk, D., Hochholzer, W., Fromm, M. F., Chialda, L. E., Pahl, A., Valina, C. M., et al. Cytochrome P450 2C19 681GNA polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51(20): 1925–34.
89. Collet, J. P., Hulot, J. S., Pena, A., Villard, E., Esteve, J. B., Silvain, J., et al. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: A cohort study. *Lancet* 2009; 373(9660), 309–17.
90. Sibbing, D., Stegherr, J., Latz, W., Koch, W., Mehilli, J., Dörrler, K., et al. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J* 2009; 30(8): 916–22.
91. Giusti, B., Gori, A. M., Marcucci, R., Saracini, C., Sestini, I., Paniccchia, R., et al. Relation of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism to occurrence of drug-eluting coronary stent thrombosis. *Am J Cardiol* 2009; 103(6): 806–11.
92. Lee JM, Park S, Shin D-J, et al. Relation of genetic polymorphisms in the cytochrome P450 gene with clopidogrel resistance after drug-eluting stent implantation in Koreans. *Am J Cardiol.* 2009; 104: 46-51.
93. Ishizaki, T., & Horai, Y. . Review article: cytochrome P450 and the metabolism of proton pump inhibitors — Emphasis on rabeprazole. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13(3): 27–36.

-
94. Horn, J. Review article: Relationship between the metabolism and efficacy of proton pump inhibitors- Focus on rabeprazole. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 (Suppl 6): 11–19.
95. Gilard, M., Arnaud, B., Le Gal, G., Abgrall, J. F., & Boschat, J. Influence of omeprazole on the antiplatelet action of clopidogrel associated to aspirin. *J Thromb Haemost* 2006; 4(11): 2508–09.
96. Cuisset T, Frere C, Quilici J, et al. Comparison of omeprazole and pantoprazole influence on a high 150-mg clopidogrel maintenance dose the PACA (Proton Pump Inhibitors And Clopidogrel Association) prospective randomized study. *J Am Coll Cardiol*. 2009; 54: 1149-53.
97. Lim, M. J., Spencer, F. A., Gore, J. M., Dabbous, O. H., Agnelli, G., Kline-Rogers, E. M., et al. Impact of combined pharmacologic treatment with clopidogrel and a statin on outcomes of patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: Perspectives from a large multinational registry. *Eur Heart J* 2005; 26(11): 1063–9.
98. Wienbergen, H., Gitt, A. K., Schiele, R., Juenger, C., Heer, T., Meisenzahl, C., et al. Comparison of clinical benefits of clopidogrel therapy in patients with acute coronary syndromes taking atorvastatin. *Am J Cardiol* 2003; 92(3): 285–8.
99. Cannon, C. P., Braunwald, E., McCabe, C. H., Rader, D. J., Rouleau, J. L., Belder, R., et al. PROVE-IT-TIMI 22 Investigators Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 2004; 350(15): 1495–1504.
100. Saw, J., Brennan, D. M., Steinhubl, S. R., Bhatt, D. L., Mak, K. H., Fox, K., et al. Lack of evidence of a clopidogrel–statin interaction in the CHARISMA trial. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50(4): 291–5.
101. Luscher TF, Creager MA, Beckman JA, Cosentino F: Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences and medical therapy. *Circulation* 2003;108:1655–61.
102. Beckman JA, Creager M, Libby P: Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA* 2002; 287: 2570 –81.
103. Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M: Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998; 339: 229 –234.
104. Barsness GW, Peterson ED, Ohman EM, Nelson CL, DeLong ER, Reves JG, Smith PK, Anderson RD, Jones RH, Mark DB, Califf RM: Relationship between diabetes mellitus and long-term survival after coronary bypass and angioplasty. *Circulation* 1997; 96: 2551–6.
105. Vinik AI, Erbas T, Park TS, Nolan R, Pittenger GL: Platelet dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 1476 –85.
106. Bridges JM, Dalby AM, Millar JHD, Weaver JA. An effect of D-glucose on platelet stickiness. *Lancet* 1965; 1: 75–7.

-
107. Davi G, Rini GB, Averna M, Novo S, Di Fede G, Pinto A, Notarbartolo A, Strano A. Thromboxane B2 formation and platelet sensitivity to prostacyclin in insulin-dependent and insulin-independent diabetics. *Thromb Res* 1982; 26: 359–70.
108. Ferroni P, Basili S, Falco A, Davi G. Platelet activation in type 2 diabetes mellitus. *J Thromb Haemost* 2004; 2: 1282–91.
109. Falcon C, Pfliegler G, Deckmyn H, Vermynen J. The platelet insulin receptor: detection, partial characterization, and search for a function. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 157: 1190–6.
110. Abrahm DR, Hollingsworth PJ, Smith CB, Jim L, Zucker LB, Sobotka PA, Vinik AI. Decreased alpha 2-adrenergic receptors on platelet membranes from diabetic patients with autonomic neuropathy and orthostatic hypotension. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 63: 906–12.
111. Udvardy M, Pfliegler G, Rak K. Platelet insulin receptor determination in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Experientia* 1985; 41: 422–3.
112. Trovati M, Anfossi G. Influence of insulin and of insulin resistance on platelet and vascular smooth muscle cell function. *J Diabetes Complications* 2002; 16: 35–40.
113. Watala C, Golanski J, Pluta J, Boncler M, Rozalski M, Luzak B, Kropiwnicka A, Drzewoski J: Reduced sensitivity of platelets from type 2 diabetic patients to acetylsalicylic acid (aspirin): its relation to metabolic control. *Thromb Res* 2004; 113:101–13.
114. Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S: Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation* 2002; 105:1650–5.
115. Valles J, Santos MT, Aznar J, Osa A, Lago A, Cosin J, Sanchez E, Broekman MJ, Marcus AJ: Erythrocyte promotion of platelet reactivity decreases the effectiveness of aspirin as an antithrombotic therapeutic modality: the effect of low-dose aspirin is less than optimal in patients with vascular disease due to prothrombotic effects of erythrocytes on platelet reactivity. *Circulation* 1998; 97: 350–5.
116. Ziegler O, Guerci B, Muller S, Candiloros H, Mejean L, Donner M, Stoltz JF, Drouin P: Increased erythrocyte aggregation in insulin-dependent diabetes mellitus and its relationship to plasma factors: a multivariate analysis. *Metabolism* 1994; 43: 1182–6.
117. Bhatt DL, Marso SP, Hirsch AT, Ringleb PA, Hacke W, Topol EJ: Amplified benefit of clopidogrel versus aspirin in patients with diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2002; 90: 625–8.
118. Anon. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet* 1996; 348: 1329–39.
119. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Sabate M, Jimenez-Quevedo P, et al. Platelet function profiles in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease on combined aspirin and clopidogrel treatment. *Diabetes* 2005; 54: 2430–5.

-
120. Angiolillo DJ, Bernardo E, Ramirez C et al. Insulin therapy is associated with platelet dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus on dual oral antiplatelet treatment. *Journal of the American College of Cardiology* 2006; 48: 298–304.
121. Iakovou I, Schmidt T, Bonizzi E et al. Incidence, predictors, and outcome of thrombosis after successful implantation of drug-eluting stents. *JAMA* 2005; 293: 2126–30.
122. Daemen J, Wenaweser P, Tsuchida K et al. Early and late coronary stent thrombosis of sirolimus-eluting and paclitaxel eluting stents in routine clinical practice: data from a large two-institutional cohort study. *Lancet* 2007; 369: 667–8.
123. Ferreira IA, Mocking AI, Feijge MA et al. Platelet inhibition by insulin is absent in type 2 diabetes mellitus. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2006; 26: 417–22.
124. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998; 395: 763–70.
125. Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. Obese, a new mutation in the house mouse. *J Hered* 1950; 41: 317–8.
126. Coleman DL. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. *Diabetologia* 1973; 9: 294–8.
127. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425–32.
128. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, et al. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995; 269: 540–3.
129. Kennedy A, Gettys TW, Watson P, et al. The metabolic significance of leptin in humans: gender-based differences in relationship to adiposity, insulin sensitivity, and energy expenditure. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1293–300.
130. Lord, G.M., et al. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature* 1998; 394: 897–901.
131. Sierra-Honigmann, M.R., et al. Biological activation of leptin as an angiogenic factor. *Science* 1998; 281:1683–86.
132. Ducy, P., et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell*. 2000; 100:197–207.
133. Chehab, F.F., Lim, M.E., and Lu, R. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. *Nat. Genet.* 1996 ; 12: 318–20.
134. Tilg H, Moschen AR. Adipocytokines: mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 2006; 6: 772– 83.

-
135. Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26: 1407–33.
136. Konstantinides S, Schafer K, Neels JG, Dellas C, Loskutoff DJ. Inhibition of endogenous leptin protects mice from arterial and venous thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24: 2196–201.
137. Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, Sivitz WI, Mark AL. Cardiovascular consequences of obesity: role of leptin. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1998; 25: 65–9.
138. Wallace AM, McMahon AD, Packard CJ, Kelly A, Shepherd J, Gaw A, Sattar N. Plasma leptin and the risk of cardiovascular disease in the west of Scotland coronary prevention study (WOSCOPS). *Circulation* 2001; 104: 3052–6.
139. Bjorbaek C, El-Haschimi K, Frantz JD, Flier JS. The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance. *J Biol Chem* 1999; 274: 30059–65.
140. Schwartz MW, Prigeon RL, Kahn SE, et al. Evidence that plasma leptin and insulin levels are associated with body adiposity via different mechanisms. *Diabetes Care* 1997; 20: 1476–81.
141. Nakata M, Yada T, Soejima N, Maruyama I. Leptin promotes aggregation of human platelets via the long form of its receptor. *Diabetes* 1999; 48: 426–9.
142. Konstantinides S, Schafer K, Koschnick S, Loskutoff DJ. Leptin dependent platelet aggregation and arterial thrombosis suggests a mechanism for atherothrombotic disease in obesity. *J Clin Invest* 2001; 108: 1533–40.
143. Corsonello A, Malara A, Ientile R, Corica F. Leptin enhances adenosine diphosphate-induced platelet aggregation in healthy subjects. *Obes Res* 2002; 10: 306.
144. Ozata M, Avcu F, Durmus O, Yilmaz I, Ozdemir IC, Yalcin A. Leptin does not play a major role in platelet aggregation in obesity and leptin deficiency. *Obes Res* 2001; 9: 627–30.
145. Martin S, Qasim A, Reilly M. Leptin resistance. *J Am Coll Cardiol* 2008; 52: 1201–10.
146. Corsonello A, Perticone F, Malara A, Domenico D, Loddo S, Buemi M, Ientile R, Corica F. Leptin-dependent platelet aggregation in healthy, overweight and obese subjects. *International Journal of Obesity* 2003; 27: 566–73.
147. Dellas C, Schafer K, Rohm I, et al. Absence of leptin resistance in platelets from morbidly obese individuals may contribute to the increased thrombosis risk in obesity. *Thromb Haemost* 2008; 100: 1123-9.
148. Gatto L, Nusca A, Contuzzi R, Giovanni GD, Ricottini E, Patti G, D'ambrosio A, Di Sciascio G. *European Heart Journal* 2010; 31 (Abstract Supplement): 157.

-
149. CURRENT-OASIS 7 Investigators, Mehta SR, Bassand JP, Chrolavicius S, et al. Dose comparisons of clopidogrel and aspirin in acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2010; 363: 930-42.
150. Price MJ, Berger PB, Teirstein PS, et al. Standard- vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: the GRAVITAS randomized trial. *JAMA.* 2011; 305: 1097-1105.
151. Bonello L, Camoin-Jau L, Arques S, et al. Adjusted clopidogrel loading doses according to vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation index decrease rate of major adverse cardiovascular events in patients with clopidogrel resistance: a multicenter randomized prospective study. *J Am Coll Cardiol.* 2008; 51: 1404-11
152. Ochiai M, Eto K, Takeshita S, et al. Impact of cilostazol on clinical and angiographic outcome after primary stenting for acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 1999; 84: 1074-6, A6, A9.
153. Jeong Y-H, Lee S-W, Choi B-R, et al. Randomized comparison of adjunctive cilostazol versus high maintenance dose clopidogrel in patients with high post-treatment platelet reactivity: results of the ACCEL-RESISTANCE (Adjunctive Cilostazol Versus High Maintenance Dose Clopidogrel in Patients With Clopidogrel Resistance) randomized study. *J Am Coll Cardiol.* 2009; 53: 1101-09.
154. Varenhorst C, James S, Erlinge D, et al. Genetic variation of CYP2C19 affects both pharmacokinetic and pharmacodynamic responses to clopidogrel but not prasugrel in aspirin-treated patients with coronary artery disease. *Eur Heart J.* 2009; 30: 1744-52.
155. Wiviott SD, Trenk D, Frelinger AL, et al. Prasugrel compared with high loading- and maintenance-dose clopidogrel in patients with planned percutaneous coronary intervention: the Prasugrel in Comparison to Clopidogrel for Inhibition of Platelet Activation and Aggregation-Thrombolysis in Myocardial Infarction 44 trial. *Circulation.* 2007; 116: 2923-32.
156. Roe MT, Armstrong PW, Fox KA, White HD, Prabhakaran D, Goodman SG, Cornel JH, Bhatt DL, Clemmensen P, Martinez F, Ardissino D, Nicolau JC, Boden WE, Gurbel PA, Ruzyllo W, Dalby AJ, McGuire DK, Leiva-Pons JL, Parkhomenko A, Gottlieb S, Topacio GO, Hamm C, Pavlides G, Goudev AR, Oto A, Tseng CD, Merkely B, Gasparovic V, Corbalan R, Cinteza M, McLendon RC, Winters KJ, Brown EB, Lokhnygina Y, Aylward PE, Huber K, Hochman JS, Ohman EM; TRILOGY ACS Investigators. Prasugrel versus clopidogrel for acute coronary syndromes without revascularization. *N Engl J Med.* 2012 Oct 4; 367(14):1297-309. doi: 10.1056/NEJMoa1205512. Epub 2012 Aug 25.
157. Alexopoulos D, Dimitropoulos G, Davlouros P, et al. Prasugrel overcomes high on-clopidogrel platelet reactivity post stenting more effectively than high dose (150 mg) clopidogrel: The importance of CYP2C19*2 genotyping. *JACC Cardiovasc Interv.* 2011; 4: 403-10.
158. Husted S, Emanuelsson H, Heptinstall S, Sandset PM, Wickens M, Peters G. Pharmacodynamics, pharmacokinetics, and safety of the oral reversible P2Y12 antagonist

AZD6140 with aspirin in patients with atherosclerosis: a double-blind comparison to clopidogrel with aspirin. *Eur Heart J*. 2006; 27: 1038-47.

159. Wallentin L, Becker RC, Budaj A, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2009; 361: 1045-57

160. Gurbel PA, Bliden KP, Butler K, et al. Response to ticagrelor in clopidogrel nonresponders and responders and effect of switching therapies: the RESPOND study. *Circulation*. 2010; 121: 1188-99.

161. Bhatt DL, Lincoff AM, Gibson CM, et al. Intravenous platelet blockade with cangrelor during PCI. *N Engl J Med*. 2009; 361: 2330-41

162. Harrington RA, Stone GW, McNulty S, et al. Platelet inhibition with cangrelor in patients undergoing PCI. *N Engl J Med*. 2009; 361: 2318-29.

163. Bouman HJ, van Werkum JW, Hackeng CM, Clappers N, Ten Berg JM. Cangrelor increases the magnitude of platelet inhibition and reduces interindividual variability in clopidogrel-pretreated subjects. *Neth Heart J*. 2009; 17: 195-8.

164. Smith SC Jr, Feldman TE, Hirshfeld JW Jr, Jacobs AK, Kern MJ, King SB 3rd, Morrison DA, O'Neil WW, Schaff HV, Whitlow PL, Williams DO, Antman EM, Adams CD, Anderson JL, Faxon DP, Fuster V, Halperin JL, Hiratzka LF, Hunt SA, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Riegel B. ACC/AHA/SCAI 2005 guideline update for percutaneous coronary intervention: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/SCAI Writing Committee to Update 2001 Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention). *Circulation* 2006; 113:e166–e286.

165. Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB, Malinin AI, Bhatt DL, Topol EJ. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45: 246–51

166. Geisler T, Langer H, Wydymus M, Gohring K, Zurn C, Bigalke B, et al. Low response to clopidogrel is associated with cardiovascular outcome after coronary stent implantation. *Eur Heart J* 2006; 27: 2420–5.

167. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Alfonso F, Macaya C, Bass TA, Costa MA. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49: 1505–1516.

168. Bonello L, Tantry US, Marcucci R, Blindt R, Angiolillo DJ, Becker R, Bhatt DL, Cattaneo M, Collet JP, Cuisset T, Gachet C, Montalescot G, Jennings LK, Kereiakes D, Sibbing D, Trenk D, Van Werkum JW, Paganelli F, Price MJ, Waksman R, Gurbel PA; Working Group on High On-Treatment Platelet Reactivity. Consensus and future directions on the definition of high on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate. *J Am Coll Cardiol*. 2010; 56: 919–33.

169. Brandt JT, Close SL, Iturria SJ, Payne CD, Farid NA, Ernest CS II, Lachno DR, Salazar D, Winters KJ. Common polymorphisms of CYP2C19 and CYP2C9 affect the

pharmacokinetic and pharmacodynamic response to clopidogrel but not prasugrel. *J Thromb Haemost.* 2007; 5: 2429–36.

170. FDA Drug Safety Communication. Reduced effectiveness of Plavix (clopidogrel) in patients who are poor metabolizers of the drug.

<http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/PostmarketDrugSafetyInformationforPatientsandProviders/ucm203888.htm>. Accessed August 15, 2010.

171. Holmes DR Jr, Dehmer GJ, Kaul S, Leifer D, O’Gara PT, Stein CM. ACCF/AHA clopidogrel clinical alert: approaches to the FDA “boxed warning”: a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on clinical expert consensus documents and the American Heart Association endorsed by the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions and the Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol.* 2010; 56: 321–41.

172. Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, Quteineh L, Drouet E, Meneveau N, Steg PG, Ferrieres J, Danchin N, Becquemont L: Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med* 2009, 360: 363-75.

173. Furata T, Shirai N, Sugimoto M, Nakamura A, Hishida A, Ishizaki T. Influence of CYP2C19 pharmacogenetic polymorphism on proton pump inhibitor-based therapies. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2005; 20(3):153-67.

174. Celebi A, Kocaman O, Savlı H, Aygün C, Konduk BT, Senturk O, Hülagu S. *Turk J gastroenterol* Eyl 2009; 20(3): 161-4.

175. Montalescot G, Hulot JS, Collet JP. Stent thrombosis: who’s guilty? *Eur Heart J* 2009; 30: 2685-8.

176. Hulot J-S, Collet J-P, Silvain J, Pena A, Bellemain-Appaix A, Barthelemy O, et al. Cardiovascular risk in clopidogrel-treated patients according to cytochrome P450 2C19*2 loss-of-function allele or proton pump inhibitor coadministration: a systematic meta-analysis. *J Am Coll Cardiol* 2010; 56: 134-43.

177. Sofi F, Giusti B, Marcucci R, Gori AM, Abbate R, Gensini GF. Cytochrome P450 2C19(*)2 polymorphism and cardiovascular recurrences in patients taking clopidogrel: a meta-analysis. *Pharmacogenomics J* 2011; 11: 199-206.

178. Trenk D, Hochholzer W, Fromm MF, Chialda LE, Pahl A, Valina CM et al. Cytochrome P450 2C19 681G4A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51: 1925–34.

179. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT et al. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med* 2009; 360: 354–62.

180. Shuldiner AR, O’Connell JR, Bliden KP, Gandhi A, Ryan K, Horenstein RB et al. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy. *JAMA* 2009; 302: 849–58.

-
181. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT. Cytochrome P450 genetic polymorphisms and the response to prasugrel: relationship to pharmacokinetic, pharmacodynamic, and clinical outcomes. *Circulation*. May 19 2009; 119(19): 2553-60.
182. Brandt JT, Close SL, Iturria SJ, Payne CD, Farid NA, Ernest CS 2nd, et al. Common polymorphisms of CYP2C19 and CYP2C9 affect the pharmacokinetic and pharmacodynamic response to clopidogrel but not prasugrel. *J Thromb Haemost*. Dec 2007; 5(12): 2429-36.
183. Tantry US, Bliden KP, Wei C, et al. First analysis of the relation between CYP2C19 genotype and pharmacodynamics in patients treated with ticagrelor versus clopidogrel: the ONSET/OFFSET and RESPOND genotype studies. *Circ Cardiovasc Genet*. Dec 2010; 3(6): 556-66.
184. Wallentin L, James S, Storey RF, et al. Effect of CYP2C19 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on outcomes of treatment with ticagrelor versus clopidogrel for acute coronary syndromes: a genetic substudy of the PLATO trial. *Lancet*. Oct 16 2010; 376(9749): 1320-8.
185. Hochholzer W, Trenk D, Fromm MF, Valina CM, Stratz C, Bestehorn HP, et al. Impact of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and of major demographic characteristics on residual platelet function after loading and maintenance treatment with clopidogrel in patients undergoing elective coronary stent placement. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55: 2427-34.
186. Vericel E, Januel C, Carreras M, Moulin P, Lagarde M: Diabetic patients without vascular complications display enhanced basal platelet activation and decreased antioxidant status. *Diabetes* 53: 1046-51, 2004.
187. Colwell JA, Nesto RW: The platelet in diabetes: focus on prevention of ischemic events. *Diabetes Care* 2003; 26: 2181-8.
188. Geisler T, Anders N, Paterok M et al. Platelet response to clopidogrel is attenuated in diabetic patients undergoing coronary stent implantation. *Diabetes Care* 2007; 30: 372-4.
189. Angiolillo DJ, Shoemaker SB, Desai B et al. A randomized comparison of a high clopidogrel maintenance dose in patients with diabetes mellitus and coronary artery disease: results of the OPTIMUS (Optimizing anti-Platelet Therapy In diabetes Mellitus) study. *Circulation* 2007; 115: 708-16.
190. Angiolillo DJ, Capranzano P, Goto S et al. A randomized study assessing the impact of cilostazol on platelet function profiles in patients with diabetes mellitus and coronary artery disease on dual antiplatelet therapy: results of the OPTIMUS-2 study. *European Heart Journal* 2008; 29: 2202-11.
191. Lee SW, Park SW, Kim YH et al. Drug-eluting stenting followed by cilostazol treatment reduces late restenosis in patients with diabetes mellitus the DECLARE-DIABETES Trial (A Randomized Comparison of Triple Antiplatelet Therapy with Dual Antiplatelet Therapy After Drug-Eluting Stent Implantation in Diabetic Patients). *Journal of the American College of Cardiology* 2008; 51: 1181-7.

-
192. Roffi M, Chew DP, Mukherjee D et al. Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors reduce mortality in diabetic patients with non-ST-segment-elevation acute coronary syndromes. *Circulation* 2001; 104: 2767–71.
193. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, et al, TRITON-TIMI 38 Investigators. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *The New England Journal of Medicine* 2007; 357: 2001–15.
194. Wiviott SD, Braunwald E, Angiolillo DJ, et al, TRITON-TIMI 38 Investigators. Greater clinical benefit of more intensive oral antiplatelet therapy with prasugrel in patients with diabetes mellitus in the trial to assess improvement in therapeutic outcomes by optimizing platelet inhibition with prasugrel-Thrombolysis in Myocardial Infarction 38. *Circulation* 2008; 118: 1626–36.
195. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Sabate M, Hernandez-Antolin R, et al. Is a 300 mg clopidogrel loading dose sufficient to inhibit platelet function early after coronary stenting? A platelet function profile study. *J Invasive Cardiol* 2004; 16: 325–9.
196. Siller-Matula JM, Spiel AO, Lang IM, Kreiner G, Christ G, Jilma B. Effects of pantoprazole and esomeprazole on platelet inhibition by clopidogrel. *Am Heart J.* 2009; 157: 148 e1-5.
197. Clarke TA, Waskell LA. The metabolism of clopidogrel is catalyzed by human cytochrome P450 3A and is inhibited by atorvastatin. *Drug Metab Dispos.* 2003; 31: 53-9.
198. Mitsios JV, Papathanasiou AI, Rodis FI, Elisaf M, Goudevenos JA, Tselepis AD. Atorvastatin does not affect the antiplatelet potency of clopidogrel when it is administered concomitantly for 5 weeks in patients with acute coronary syndromes. *Circulation.* 2004; 109: 1335-8.
199. Riondino S, Petrini N, Donato L, et al. Effects of rosuvastatin on platelet inhibition by clopidogrel in cardiovascular patients. *J Thromb Thrombolysis.* 2009; 28: 151-5.
200. Eckel RH, Krauss RM. American Heart Association call to action: obesity as a major risk factor for coronary heart disease. AHA Nutrition Committee. *Circulation* 1998; 97: 2099–100.