

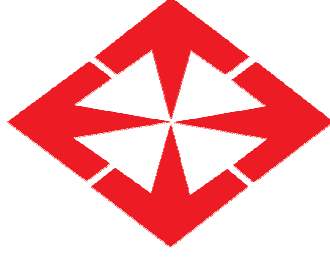
T.C.  
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI

**VASKÜLER RİSK FAKTÖRLERİ BULUNAN ASEMPTOMATİK  
VE SEMPTOMATİK HASTALARDA ASPİRİN DİRENCİ  
VE TROMBOSİT GLİKOPROTEİN IIIa GEN  
POLİMORFİZMİNİN ROLÜ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Eda DERLE ÇİFTÇİ**

**Ankara, 2007**



**T.C.  
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**VASKÜLER RİSK FAKTÖRLERİ BULUNAN ASEPTOMATİK  
VE SEMPTOMATİK HASTALARDA ASPİRİN DİRENCİ  
VE TROMBOSİT GLİKOPROTEİN IIIa GEN  
POLİMORFİZMİNİN ROLÜ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Eda DERLE ÇİFTÇİ**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ufuk CAN**

**Ankara,2007**

Bu tez çalışması KA 05/277 no'lu proje olarak Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir

## TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve sonsuz manevi desteklerini benden esirgemeyen, değerli hocalarım Başkent Üniversitesi Tıp Fakóltesi Nöroloji Anabilim Dalı BaŐkanı Sayın Prof Dr. Turgut ZİLELİ ve Prof. Dr. Sibel BENLİ'ye;

Çalışmanın planlanması, yürütölmesi ve yazılmasında sonsuz katkıları bulunan, danıŐman hocam Sayın Doç. Dr. Ufuk CAN'a;

Projenin tasarlanmasında ve yürütölmesindeki katkılarının yanısıra moleküler biyoloji ve laboratuvar çalıŐmaları konusunda beni aydınlatan, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Başkent Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Belgin ATAÇ'a;

Laboratuvar çalıŐmalarını titizlikle ve özveriyle yürüten Başkent Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında görevli Sayın Uzman Biyolog Hasibe VERDİ'ye;

Hastaların sečilmesinde ve çalıŐmanın yürütölmesinde yardımlarını esirgemeyen, her zaman desteklerini gördüğüm Sayın Yrd. Doç. Dr. Münire KILINÇ, Uz. Dr. Yıldız KAYA ve Nöroloji kliniğindeki tüm çalıŐma arkadaşlarıma;

Asistanlık döneminde her an yanımda olan, her türlü sıkıntı ve mutluluğu paylaŐtığım ve hayatımın her döneminde yanımda olacaklarına inandığım, arkadaşlığın ötesinde ailemin fertleri olarak gördüğüm canım dönem arkadaşlarım Dr. Seda KİBAROĞLU, Uzm. Dr. Ruhsen ÖCAL'a ve Uz. Dr. Gülay Çeliker'e;

Desteklerinden dolayı aileme ve eşime;

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla

**Dr. Eda DERLE ÇİFTÇİ**

## ÖZET

Vasküler hastalıklardan korunmada yaygın olarak kullanılan aspirin, her hastada istenen etkinliği gösterememekte ve aspirin tedavisi altında tekrarlayıcı iskemik olaylar görülebilmektedir. Gelişiminde birçok mekanizmanın öne sürüldüğü, “aspirin direnci” olarak tanımlanan bu durumun sıklığı, yüksek riskli hastalarda %5-45 olarak bildirilmektedir. Çalışmamız vasküler risk faktörleri bulunan hastalarda, aspirin direnci oranı ile aspirin dozu, preparat özelliği ve glikoprotein IIIa PIA1/A2 polimorfizmi arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla planlanmıştır.

Vasküler risk faktörü bulunan, birincil ya da ikincil korunma için aspirin kullanan 208 hasta çalışmaya alındı. Hastalar aspirin kullanımlarına ve kliniklerine göre gruplandırıldı. Akut iskemik inme kliniği ile başvuran 75 hasta semptomatik, inme dışı nedenlerle takip edilen 133 hasta ise asemptomatik kabul edildi. Semptomatik olan hastalar, inme sırasındaki aspirin kullanma durumlarına göre iki gruba ayrıldı. Hastalarda PFA-100 sistemi (Col/Epi kartuşu) ile aspirin direnci ölçüldü ve glikoprotein IIIa PIA1/A2 polimorfizmleri PCR tekniği ile belirlendi. Tüm gruplar bir arada değerlendirildiğinde aspirin direnci oranı %32,2 olarak saptandı. Direnç saptanan hastaların yaş ortalaması istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksekti ( $p=0,009$ ).

Asemptomatik grup ile “aspirin kullanırken semptomatik olan” grubun direnç oranları benzerdi. En yüksek direnç oranı (%39,3)100 mg enterik kaplı preparat kullanan hastalarda saptandı. Aspirin dozunun artırılması ve/veya enterik kaplı olmayan preparatlara geçilmesi %36 ile %60 arasında değişen oranlarda aspirine duyarlılık sağladı. Daha önce aspirine duyarlı olduğu gösterilen hastalarda tekrarlayan ölçümlerde zaman içinde %14 oranında aspirin direnci gelişimi olduğu gözlemlendi. GpIIIa PIA1/A2 polimorfizmi ile aspirin direnci ve aterotrombotik inme gelişimi arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Sonuç olarak aspirinin etkisinde doz ve preparat özelliğine bağlı olarak ve zaman içinde değişiklik görülebilmektedir. GpIIIa PIA1/A2 polimorfizmi ile aspirin direnci ve aterotrombotik inme gelişimi arasında ilişki gösterilememiştir.

**Anahtar Sözcükler:** inme, aspirin direnci, Gp IIIa PIA1/A2 polimorfizmi

## ABSTRACT

Aspirin, a widely used drug for prevention from vascular diseases, may not reveal the desired effect in all patients and recurrent ischemic events may occur despite aspirin therapy. Defined as “aspirin resistance”, this entity is reported in 5–45% of high risk patients and various mechanisms have been proposed for its development. This study is planned to determine whether there is a relationship between aspirin resistance and aspirin dosage, preparation type and glycoprotein IIIa P1A1/A2 polymorphism in patients with vascular risk factors.

208 patients with vascular risk factors, using aspirin for primary or secondary prevention were included in the study. Patients were classified according to their clinical presentations and aspirin usage. Seventy-five patients, with acute ischemic stroke presentation were grouped as symptomatic and the remaining 133 patients were grouped as asymptomatic. Symptomatic group was further classified into two groups, according to the aspirin usage status at the time of stroke. Aspirin resistance was measured by PFA-100 system (Col/Epi cartridge) and glycoprotein IIIa P1A1/A2 polymorphism were determined by PCR. The overall prevalence of aspirin resistance was 32,2%. The mean age of patients with aspirin resistance were significantly higher ( $p=0,009$ ).

The prevalence of aspirin resistance were similar for both “symptomatic under aspirin therapy” and asymptomatic groups. The resistance rate was found to be highest with 100 mg enteric coated preparation usage (39,3%). Increasing the aspirin dosage and/or shifting to non-enteric coated preparations revealed aspirin sensitivity change between 36% and 60%. Repeated measurements revealed aspirin resistance development in time course in 14% of patients shown to be aspirin sensitive before. No significant relationship between glycoprotein IIIa P1A1/A2 polymorphism and aspirin resistance and atherothrombotic stroke development is found.

In conclusion, the effect of aspirin can change by time, dosage and preparation type used. A relationship between glycoprotein IIIa P1A1/A2 polymorphism and aspirin resistance and atherothrombotic stroke development cannot be found.

**Key words:** stroke, aspirin resistance, Gp IIIa P1A1/A2 polymorphism

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No:

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ .....	viii
TABLolar VE ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Aspirin.....	3
2.1.1. Tarihçesi.....	3
2.1.2. Etki Mekanizması.....	4
2.2. Aspirin Direnci.....	5
2.2.1. Aspirin Direnci Mekanizmaları.....	6
2.2.2. Aspirin Direncinin Saptanmasında Kullanılan Laboratuvar Yöntemleri.....	12
2.3. Trombosit Fonksiyonlarında Glikoproteinlerin Rolü .....	15
2.4. Gp IIIa Polimorfizmi ve Vasküler Hastalıklardaki Rolü .....	15
2.5. İskemik Serebrovasküler Hastalıklarda Risk Faktörleri .....	17
3. HASTALAR VE YÖNTEM.....	23
3.1. Hasta Seçimi.....	23
3.2. Aspirin Direncinin Saptanması .....	25
3.3 Glikoprotein IIIa Polimorfizminin Saptanması.....	25
3.3.1. DNA İzolasyonu.....	26
3.3.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu .....	27
3.4. Aspirin Dozunun Belirlenmesi.....	28
3.5. İstatistik.....	28
4. BULGULAR.....	30

4.1. Hastaların Demografik Özellikleri ve Aspirin Direnci ile İlişkisi .....	30
4.2. Gp IIIa PlA1/A2 Polimorfizmi .....	35
4.3. Aspirin Etkinliğinde Zaman İçinde Değişim .....	37
5. TARTIŞMA .....	38
6. SONUÇ .....	43
7. KAYNAKLAR .....	44

## KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ADP	: Adenozin 5- difosfat
ARU	: Aspirin reaksiyon ünitesi
ASA	: Asetil salisilik asit
Bp	: Baz çifti
BT	: Bilgisayarlı tomografi
COX	: Siklooksijenaz
Col	: Kollajen
CRP	: C-reaktif protein
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EKG	: Elektrokardiyografi
Epi	: Epinefrin
Gp	: Glikoprotein
KZ	: Kapanma zamanı
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
PFA-100	: Trombosit fonksiyon belirleyici
PG	: Prostaglandin
PGI <sub>2</sub>	: Prostosiklin
RPFA	: Hızlı trombosit fonksiyon belirleyici
Tx	: Tromboksan
UV	: Ultraviyole



## ŞEKİL VE TABLOLAR DİZİNİ

### **Tablo no:**

### **Sayfa No:**

2.1. Çeşitli Çalışmalarda Aspirin Direnci Oranları.....	6
2.2. Aspirinin Antitrombotik Etkisinin Ölçümünde Kullanılan Testler.....	12
2.3. İskemik İnme Risk Faktörleri .....	18
4.1. Hastaların Demografik Özellikleri.....	30
4.2. PFA-100 sistemi ile aspirin direnci ve hastaların demografik özellikleri.....	31
4.3. PFA-100 ile Saptanan Aspirin Direnci ve Doz İlişkisi.....	32
4.4. Asemptomatik ve Aspirin Kullanırken Semptomatik Olan Hastaların Demografik Özellikleri .....	33
4.5. PFA-100 ile Saptanan Aspirin Direnci Oranlarının Doz ile İlişkisi.....	34
4.6. Semptomatik Grupta Aspirin Direnci ve Doz ilişkisi.....	34
4.7. Gp IIIa PIA1/A2 Polimorfizmi Dağılımı.....	35
4.8. PIA2 Allel Varlığının Aspirin Doz ve Direnci ile İlişkisi .....	36
4.9. PIA2 Allel Varlığının Klinik ile İlişkisi.....	37
4.10. Gruplar Arası Aspirin Direnci Prevelansı .....	37

### **Şekil No**

2.1. Araşidonik Asitten Prostaglandinlerin Sentezlenmesi.....	5
2.2. Tromboksan Sentez Yolları ve Aspirin Etki Mekanizmaları.....	10

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Ateroskleroz ve aterotromboz, inme, koroner arter hastalığı ve periferik arter hastalığını tetikleyen ana süreçtir. Bu durum aterosklerotik plağın rüptüre olması ve damar duvarında hasara yol açarak kollajen liflerinin ve subendotelyel matriksin ortaya çıkması ile gelişir. Bu süreç trombosit aracılı olaylar kaskadının tetiklenmesine, hasarlanan bölgede trombositten zengin trombüsün gelişimine neden olur (1). Aterotrombozda trombositlerin kritik bir rol oynamasından dolayı antiplatelet ilaçlar bu hastalıkların tedavisinde önemli bir yer tutmaktadır.

Aspirin tüm dünyada vasküler hastalıklarda ve vasküler hastalıklarla ilişkili aterotrombotik olay için risk faktörleri bulunanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Aspirinin düşük maliyeti ve güvenilirliğinin yüksek olması yaygın kullanımını sağlamaktadır. Yapılan meta analizlerde, aspirinin ölümcül olmayan miyokard infarktüsü riskini %34, ölümcül olmayan inme riskini %25 ve mortaliteyi %18 oranında azalttığı gösterilmiştir (2). Fakat aspirin her hastada aynı etkiyi sağlayamamaktadır. Birçok büyük çaplı klinik araştırmada iskemik serebrovasküler olay geçiren hastaların %30-40'ının o esnada aspirin kullandığı gösterilmiştir (3). Aspirinin her hastada aynı etkiyi sağlayamaması aspirin direnci kavramını ortaya çıkarmıştır. Aspirin direncinin tanımı klinik ve laboratuvar olarak aspirinin beklenen etkiyi gösterememesidir. Literatürde aspirin direnci prevalansı, yüksek riskli hastalarda %5-45 olarak bildirilmiştir (4). Aspirin direnci gelişiminde ilaç kullanımında uyumsuzluk, ilaç etkileşimleri, aspirinden bağımsız yollardan tromboksan A2 üretimi ve genetik farklılıklar gibi birçok mekanizma öne sürülmüştür (5). Aspirin direncine neden olabilecek olası mekanizmaların ortaya konulması tedavi stratejilerinin belirlenmesinde fayda sağlayacaktır.

Aspirin direnci ile ilgili çalışmalar sıklıkla kardiyovasküler hastalıklarda yapılmıştır. İnme ile ilgili çalışmalar sınırlı sayıdadır. Çalışmamız, vasküler risk faktörleri bulunan semptomatik veya asemptomatik hastalarda aspirin direnci oranı ile aspirin dozu, preparat özelliği ve glikoprotein IIIa (GpIIIa) P1A1/A2 polimorfizmi arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla planlanmıştır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Aspirin**

#### **2.1.1. Tarihçesi**

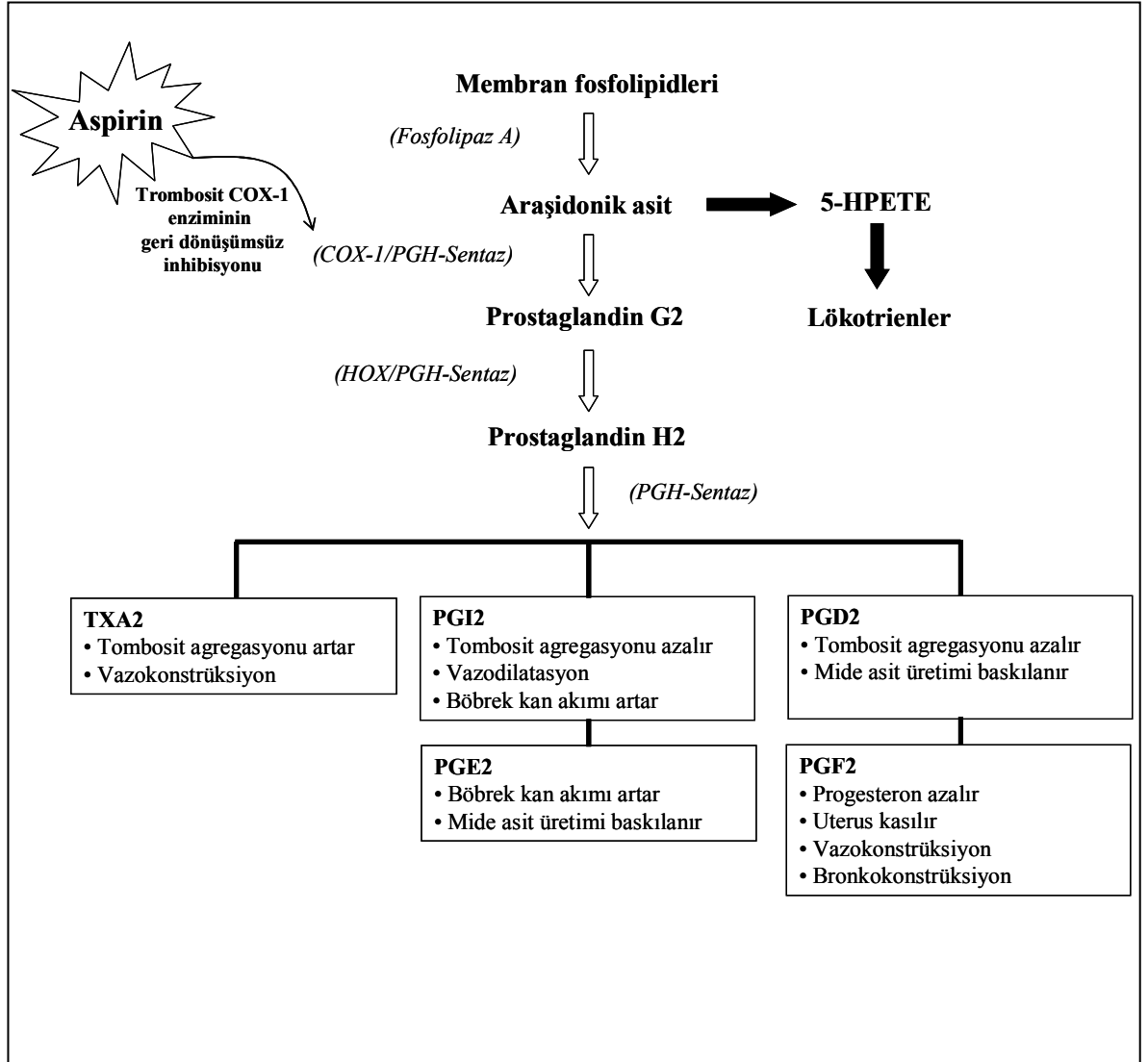
Asetilsalisilik asitin (ASA) milattan önce binbeşyüzlü yıllarda dahi kullanıldığı bilinmektedir. Söğüt ağacından elde edilen ASA, tarihte ağrı kesici olarak ve romatolojik hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. 19.yüzyılın başlarında Johann Andreas Buchner adlı bilim adamı söğüt ağacı kabuğu ekstresinden salisilin maddesini saflaştırmayı başarmıştır. Takip eden yıllarda kimyager Raffaele Piria, salisilinden aktif madde olan salisilik asiti elde etmiştir. 1853’de Charles Frederic Gerhardt asetil salisilik asiti pürifiye etmeyi başarmış ve bundan 6 yıl sonra Herman Kolbe tarafından ASA içeren ilk stabil preparat yapılmıştır. 1874 yılında ilk kez piyasaya sürülen ASA preparatları, bu dönemde, analjezik, antipiretik ve antiinflamatuvar olarak kullanılmıştır. İlk dönemde preparatın yeterince saflaştırılmamasından dolayı mide üzerine yan etkileri önemli düzeydedir. Bayer laboratuvarında 1897 yılında Felix Hoffman salisilik asidi sentetik olarak saf ve stabil formda elde etmiştir. 1899 yılında Almanya’da, 1900 yılında Amerika’da aspirin adı altında patent alınarak seri üretimine başlanmıştır. 1950’de Dr. Lawrence Craven kendi deneyimlerinden yola çıkarak aspirinin koroner tromboza karşı koruyucu olabileceğini öne sürmüştür. 1960’ların sonlarında Dr. Harvey J. Weiss aspirinin antitrombotik etkisinin trombositler üzerinden, geri dönüşümsüz olarak trombosit agregasyonunu inhibe ederek ortaya çıktığını ve bu etkinin trombositlerin yaşam süresi boyunca sürdüğünü ifade etmiştir. 1971 yılında Prof. John Vane aspirinin prostaglandinler üzerine etkisini göstermiş ve bu buluşuyla 1982 yılında Nobel ödülüne layık görülmüştür. 1980’lerin sonlarından itibaren yayınlanan randomize çalışmaların sonuçları doğrultusunda koroner arter hastalığı ve iskemik inmede akut dönemde ve ikincil korumada aspirinin vasküler mortaliteyi, ölümcül

olmayan tekrar infarktüs geçirme ve inme riskini anlamlı derecede azalttığı ortaya konulmuştur (6).

### **2.1.2. Etki Mekanizması**

Aspirin, membran fosfolipidlerinden derive olan araşidonik asitten prostaglandin sentezini, siklooksijenaz (COX) enzimini geri dönüşümsüz olarak bloke ederek engeller (Şekil 2.1). COX enziminin COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki izoformu vardır. COX-1 birçok hücrenin endoplazmik retikulumunda eksprese olur ve üretilen prostaglandinler normal hücre fonksiyonunun düzenlenmesinden sorumludur. Bu fonksiyonlar arasında mide mukozasının korunması, böbrek kan akımının idamesi, trombosit aktivasyonu ve agregasyonunun düzenlenmesi sayılabilir. COX-2 ise normal zamanda birçok hücrede bulunmazken, inflamatuvar uyarılar ve büyüme faktörlerine hızlı bir şekilde yanıt vererek inflamatuvar cevapta rol oynayan prostaglandinlerin sentezini sağlar. Aspirin moleküler düzeydeki etkisini stratejik lokalizasyondaki serin bölgesinde, COX-1’de serin 529’u, COX-2’de serin 516’yı asetilleyerek gösterir. Aspirinin COX-1’e affinitesi COX-2’ye göre yaklaşık 170 kat daha fazladır. Sonuç olarak tromboksan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>), prostosiklin (PGI<sub>2</sub>) ve diğer prostaglandinlerin biyosentezindeki azalma aspirinin antitrombotik etkisinden sorumludur. TxA<sub>2</sub> trombosit agregasyonunu artırır ve vazokonstriksiyona neden olurken, PGI<sub>2</sub> ise trombosit agregasyonunu azaltır ve vazodilatasyona yol açar. Verilerin sonucunda aspirin ile tetiklenen PGI<sub>2</sub>’nin protrombotik etkisinin baskılanmasının klinik olarak önem taşımadığı, TxA<sub>2</sub>’nin inhibisyonunun trombotik sürecin engellenmesinde daha etkili olduğu düşünülmektedir. Aspirin oral alındıktan sonra üst gastrointestinal sistemden çok hızlı bir şekilde emilir ve 60 dakika içinde trombositler üzerindeki inhibitör etkisini göstermeye başlar. Enterik kaplı preparatların emilim süresi daha uzundur. Aspirinin biyoyararlanımı %40-50’dir, bu oran enterik kaplı tabletlerde daha düşüktür. Aspirinin dolaşımdaki yarı ömrü 20 dakika gibi kısa bir süre olmasına rağmen trombositlerde yeni COX üretimi yapılamadığından etkisi trombositlerin yaşam süresi olan 10 güne kadar devam eder. Trombosit havuzundan periferik dolaşıma verilen yeni trombositler sayesinde COX

aktivitesinde günlük %10'luk bir düzelme sağlanabilirken, günlük alınan tek doz aspirin periferdeki trombositlerdeki bu aktiviteyi baskılamakta yeterlidir (7, 8).



**Şekil 2.1** Araşidonik asitten prostaglandinlerin sentezlenmesi

PG: Prostaglandin, COX-1: siklooksijenaz izoenzim 1, HOX: hidroperoksidaz, 5-HPETE: 5 hidroperoksieikosatetraenoik asit

## 2.2. Aspirin Direnci

Aspirin direnci, terapötik dozlarda aspirin kullanılmasına rağmen klinik olarak kişilerin miyokard infarktüsü, inme gibi trombotik komplikasyonlardan korunamaması, laboratuvar yöntemleri ile değerlendirilen kanama zamanında yeterli

uzamanın sağlanamaması, tromboksan biyosentezinin inhibe edilememesi ya da in vitro yapılan testlerde trombosit fonksiyonlarında öngörülen etkinin gösterilememesi olarak tanımlanmaktadır. Bazı hastaların aspirin tedavisi altında tekrarlayıcı vasküler olay yaşamasının aterosklerozun multifaktöriyel doğasından dolayı olduğu düşünülmektedir. Bu durumu aspirin direnci olarak değil, aspirinin yetersiz kalması şeklinde tanımlamak daha uygun olacaktır. Farklı laboratuvar yöntemleri kullanılarak yapılan çalışmalarda aspirin direnci %5-45 arasında değişen oranlarda tesbit edilmiştir (4, 9, 10) (Tablo 2.1).

**Tablo 2.1.** Çeşitli Çalışmalarda Aspirin Direnci Oranları

	Sayı	Hastalık	Doz (mg/g)	Yöntem	Aspirin direnci sıklığı (%)
Gum ve ark., 2001(11)	325	Stabil KAH	325	1. Optik agregometri 2. PFA-100	1. %5,5 2. %9,5
Macci ve ark., 2002(12)	72	Stabil KAH	160	PFA-100	29,2
Andersen ve ark., 2003(13)	129	Stabil KAH	1. Aspirin (160) 2. Aspirin (75) + Coumadin	PFA-100	1.35 2. 40
Helgeson ve ark., 1994(14)	306	İnme sonrası	325	Optik agregometri	25
Wang ve ark., 2003(15)	422	Stabil KAH	325	RPFA	23

### 2.2.1. Aspirin Direnci Mekanizmaları

Aspirin direncine neden olan mekanizmalar hala tam olarak ortaya konulamamış olmakla birlikte klinik, biyolojik ve genetik özelliklerin bir kombinasyonu olduğu düşünülmektedir (9). Bu mekanizmalar:

### 1- İlaç kullanımındaki uyumsuzluklar

Kardiyovasküler hastalığı olan hastalarda %40'a varan oranlarda ilaca uyumsuzluk bildirilmiştir. Bu durum klinik ve laboratuvar olarak aspirin yetersizliğinin bir nedeni olarak gösterilmektedir (16).

### 2- Aspirinin enteral emiliminde azalma

Aspirin oral uygulamadan sonra gastrik ve üst intestinal mukozadan emilir. Aspirinin etkisini, bir kısmının emilimi sırasında mukozal esterazlarla salisilik asite hidrolize edilmesi azaltabilir. Mide asit salgısının proton pompa inhibitörleri ile azaltılması aspirinin inaktif forma dönüşmesini arttırabilir ve etkisini azaltabilir. Gonzalez-Conejero ve arkadaşları sağlıklı kişilerde yaptıkları bir çalışmanın sonucunda aspirin etkinliğinin, biyoyararlanımdaki farklılıklar nedeniyle olabileceğini öne sürmüşlerdir. Alberts ve arkadaşlarının aspirin dozunun arttırılmasıyla etkinliğinin arttırılabileceğini ortaya koyan çalışması bu hipotezi destekler nitelikte bulunmuştur (3, 17).

### 3- İlaç etkileşimleri

Aspirinle birlikte nonsteroid antiinflamatuvar (NSAİ) ilaçların özellikle ibuprofenin birlikte alınması aspirinin COX-1 inhibisyonu etkisini azaltabilir (18). Kurth ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada özellikle NSAİ düzenli kullanımında aspirinin klinik etkisinin azalabileceği öne sürülmüştür (19).

### 4- Aspirinin uzun dönem kullanılması ile antiagregan etkisinde azalma (taşıflaksi)

Pulcinelli ve arkadaşları aterotrombotik olayı olan hastaların 2 yıllık takibinde aspirin direnci oranlarının zaman içinde arttığını ortaya koymuşlardır (20). Helgason ve arkadaşları ise önceden iskemik inme geçiren ve aspirin kullanmakta olan 306



hastada 6 aylık takip sonunda %32,7 hastada aspirine olan cevabın azaldığını göstermişlerdir(14).

#### 5- Aspirin dozunun yetersiz olması

Malhotra ve arkadaşları stabil koroner arter hastalığı olan kişilerde aspirin dozu ile trombosit agregasyonu oranının ilişkisine bakmışlar ve 50 mg ile 325 mg arasında aspirin kullanan hastalarda trombosit agregasyon inhibisyonunun dozla doğru orantılı olduğunu ortaya koymuşlardır. Özellikle 100 mg'ın altındaki aspirin dozlarının trombosit agregasyonunun inhibisyonunda yetersiz kaldığını ifade etmişlerdir (21). Alberts ve arkadaşlarının serebrovasküler olay geçiren hastalarda yaptığı bir çalışmada 81 mg aspirin kullanan hastalarda 325 mg aspirin kullanan hastalara göre aspirin direnci oranı anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (3).

#### 6- Artmış trombosit döngüsü

Özellikle stresle indüklenen katekolaminler trombosit döngüsünü arttırabilir (22). Hurlen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada miyokard infarktüsü geçiren ve aspirin kullanan hastalara egzersiz stres testi uygulamışlar, test öncesi ve sonrasında periferik kan örneklerinde trombosit sayılarına ve trombositlerin agregasyon düzeylerine bakmışlardır. Egzersiz sonrası trombosit sayılarında ve agregasyonunda artış olduğunu göstermişlerdir (23).

Christiaens ve arkadaşları stabil koroner arter hastalığı olan ve aspirin kullanan hastalarda yaptıkları çalışmada egzersiz stres test öncesi ve sonrasında PFA-100 sistemi ile aspirin duyarlılığını ölçmüşler, egzersiz testi öncesinde aspirine duyarlı olan 9 hastada (%22) egzersiz testi sonrasında aspirine direnç saptamışlardır (22).

## 7- Trombosit aktivitesini arttıran alternatif yollar

Yapılan çalışmalarda trombositlerin kollajen ve ADP'ye duyarlılığının arttığı gösterilmiştir (12, 24). Macchi ve arkadaşları stabil koroner arter hastalığı olan, düzenli 160 mg aspirin kullanan 72 hastada PFA-100 sistemi ile trombosit fonksiyonlarını ölçmüşlerdir. Monoklonal bir antikor olan PAC-1 kullanarak ADP ile aktive olan GpIIb/IIIa düzeyini saptamışlardır. Sonuç olarak aspirin direnci saptanan hastaların trombositlerinde ADP'ye olan duyarlılığın arttığını göstermişlerdir (12).

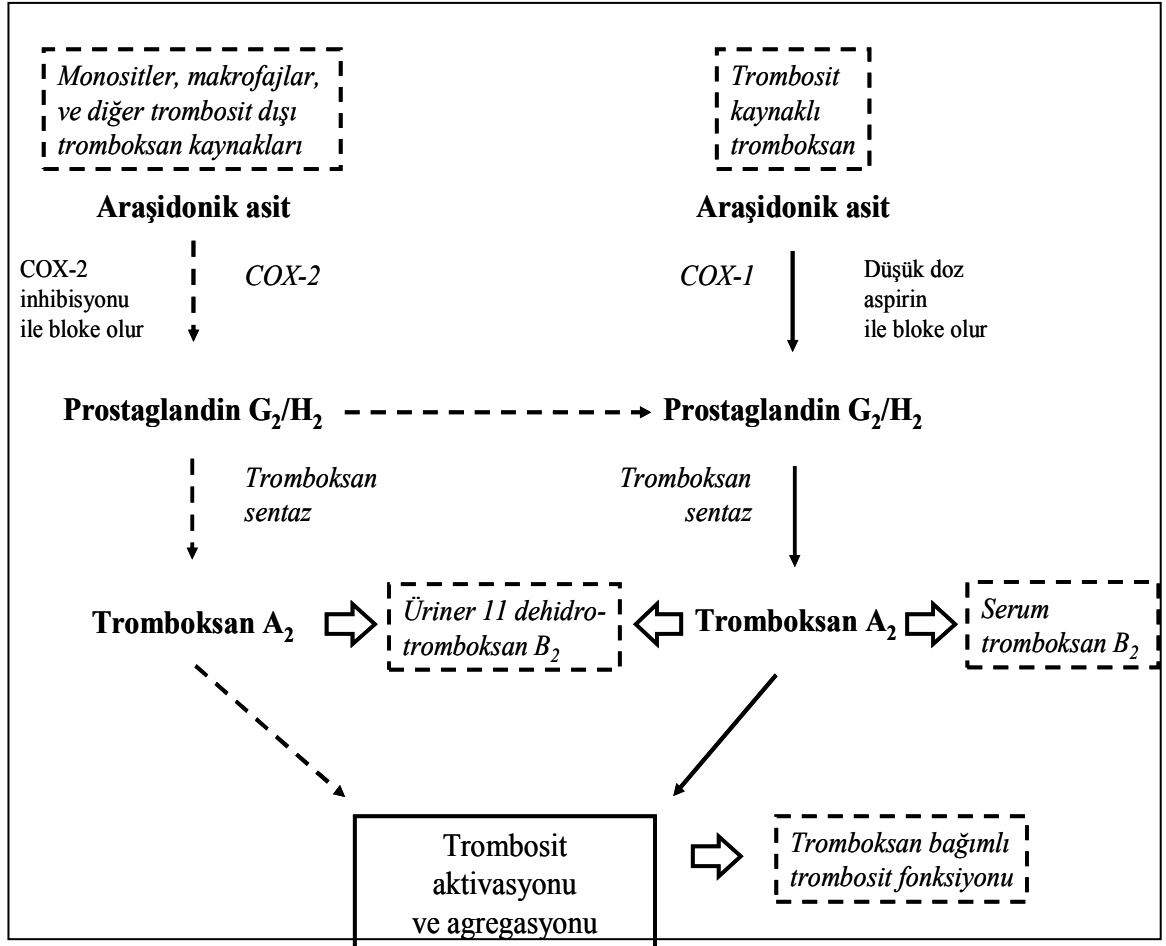
## 8- Aspirine duyarlı olmayan artmış TxA2 sentezi (Şekil 2.2)

TxA2, COX-2 aracılığı ile monosit, makrofaj ve damar endotelinde sentezlenebilir. TxA2 üretiminin göstergesi olarak stabil metaboliti olan TxB2'nin serumda ölçümü veya idrarda 11-dehidrotromboksan B2 düzeyi ölçümü kullanılabilir.

Eikelboom ve arkadaşları Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE) çalışmasında aspirin alan hastalarda idrarda tromboksan metaboliti olan 11-dehidrotromboksan B2 düzeyini ölçmüşlerdir. 5 yıllık takipte miyokard infarktüsü, inme veya kardiyovasküler ölüm gerçekleşen olgularla, vasküler olay yaşamayan olguları karşılaştırmışlardır. İdrar tromboksan düzeyi en yüksek olan grupta en düşük olan gruba göre miyokard infarktüsü ve kardiyovasküler ölüm oranları 2 kat fazladır. İnme ile anlamlı ilişki saptanmamıştır. Araştırmacılar aspirin direncinde öne sürülen mekanizmalardan biri olan tromboksan üretiminin yetersiz baskılanmasının, kardiyovasküler olaylar için risk faktörü olduğunu ve bu mekanizmayı baskılayabilecek daha etkin ajanların kullanılması gerekliliğini önermişlerdir (25).

Bruno ve arkadaşlarının iskemik inme sonrası 81mg, 325mg, 650mg ve 1300 mg aspirin kullanan hastalarda yaptıkları çalışmada tekrarlayan 11-dehidrotromboksan B2 düzeyi ölçümlerinde vasküler olay riski ile aspirin dozu ve bu metabolitin düzeyi arasında Eikelboom ve arkadaşlarının aksine ilişki saptanmamıştır (26).

Serbest radikallerin membran lipidlerini okside etmesi ile oluşan  $PGF2\alpha$  vazokonstriktör olarak görev yapmakta ve trombosit agregasyonunu arttırmakta , aynı zamanda aspirine duyarsız tromboksan sentezine neden olmaktadır (27).



**Şekil 2.2** Tromboksan Sentez Yolları ve Aspirin Etki Mekanizmaları

Kesik çizgilerle gösterilen yollar aspirin etkisinden bağımsızdır.

## 9- Endotel disfonksiyonu

Endotel disfonksiyonu aterosklerozun erken belirteci olarak kabul edilmektedir. Endotel trombosit agregasyonunu ve tromboz kontrolünü sağlayan birçok molekülün kaynağıdır. Cheng ve arkadaşları stabil koroner hastalığı olan 54 kişide endotel

disfonksiyonunu gösteren trombomodilin ve serbest doku faktörü inhibitörü ölçümleri ile aspirin cevabı arasında anlamlı bir ilişki bulmuşlardır (28).

#### 10- Tek nükleotid polimorfizmi

Aspirin direnci ile ilişkili olabilecek trombosit agregasyon yoluyla ilişkili genlerde tek nükleotid polimorfizmleri araştırılmıştır. Jefferson ve arkadaşları daha önce miyokard infarktüsü geçirmiş ve aspirin kullanan kişilerde adenosin 5- difosfat (ADP) reseptörü P2Y1 ile aspirin rezistansı arasında anlamlı bir ilişki saptamışlardır (29).

Araşidonik asitten TxA2 sentezlenmesinde ilk basamakta COX-1 enzimi görev yapar. Aspirin esas olarak COX-1'i geri dönüşümsüz olarak bloke ederek etkisini gösterir. COX-1 genindeki polimorfizm aspirin direnci için yapısal bir temel oluşturabilir. Özellikle COX-1 geninde Ser529'u etkileyen polimorfizm sonucu COX-1 enziminin %86 inhibe edilemediği gösterilmiştir (30).

COX2 m-RNA'sının trombosit ve endotel hücrelerde aşırı ekspresyonu öne sürülen bir diğer mekanizmadır. Normalde trombositlerde bulunmayan COX-2, ateroskleroz gibi inflamatuvar durumlarda endotel hücrelerinde aşırı eksprese olabilir ve TxA2 oluşumunu arttırarak aspirin direncinin oluşumunda rol alabilir (30).

Glikoprotein IIb/IIIa trombosit yüzeyinde bulunan fibrinojen için reseptör görevi yapan integrin ailesinin bir üyesidir. Özellikle GpIIIa genindeki tek nükleotid değişimi ile ortaya çıkan PIA2 polimorfizmi, arteriyel tromboz riskini arttırıcı bir faktör olarak öne sürülmüştür (31). Ayrıca PIA2 allelini taşıyan kişilerin aspirinin antitrombotik etkisine daha dirençli olduğu ifade edilmiştir (32, 33).

11. Sigara kullanımı, hiperkolesterolemi ve diyabet, trombosit agregasyonunu, TxA2 seviyelerini ve trombin üretimini arttırmaktadır (34-36). Bunun artmış oksidatif stres ve plazmadaki isoprostan seviyelerinin yükselmesi ile de ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

### 2.2.2. Aspirin Direncinin Saptanmasında Kullanılan Laboratuvar Yöntemleri

Aspirin direncinin saptanmasında trombositlerce üretilen TxA2 miktarına ya da TxA2'ye bağımlı trombosit fonksiyonlarına bakılabilir. Bu amaçla birçok yöntem kullanılmıştır (Tablo 2.2). Bu testler içinde yaygın olarak kullanılanları:

**Tablo 2.2.** Aspirinin Antitrombotik Etkisinin Ölçümünde Kullanılan Testler

Mekanizma	Test	Avantaj	Dezavantaj
İn vivo olarak kan akımının trombosit tıkaç ile durdurulması	Kanama Zamanı	İn vivo, fizyolojik	Sensitivite ve spesifitesi düşük, uygulayan kişiye göre sonuçlar arası değişkenlik yüksek, skar bırakabilir
İn vitro olarak yüksek hızlı kan akımının trombosit tıkaç tarafından durdurulması	PFA-100	Basit, hızlı, örnek hacmi küçük ve tam kan kullanılmakta	Hemotokrit ve vWf'e bağımlı Sensitivitesi bilinmiyor Spesifik değil
Trombosit agregasyonu	Optik agregometre  Tam kan agregometre  RPFA	Tarihsel altın standart, klinik olaylarla ilintili  Tam kanda çalışılmakta  Tam kan kullanılmakta	Tekrarlanabilirliği düşük, örnek hacmi büyük, zaman alıcı ve pahalı Sensitivitesi bilinmiyor Örnek hacmi büyük ve hazırlanması gerekmekte, zaman alıcı ve pahalı Sensitivitesi bilinmiyor Basit, hızlı, örnek hacmi küçük
Aktivasyona bağımlı trombosit yüzey değişimi	Akım sitometri	Örnek hacmi küçük ve tam kan kullanılmakta	Örneklerin hazırlanması gerekmekte, pahalı, nitelikli teknik personel gereksinimi
Trombositlerden aktivasyona bağlı salınan maddelerin ölçümü	TxB2'nin serumda ölçümü  İdrarda 11-dehidrotromboksan B2 düzeyi ölçümü	Direk olarak aspirinin hedefi olan COX-1'e bağımlı  Direk olarak aspirinin hedefi olan COX-1'e bağımlı	Trombositlere spesifik değil  Trombositlere spesifik değil, böbrek fonksiyonlarına bağımlı

Bu testler içinde yaygın olarak kullanılanları:

TxA2 üretimini saptamak için stabil metaboliti olan TxB2'nin serumda ölçümü ya da idrarda 11-dehidrotromboksan B2 düzeyi ölçümü kullanılabilir (25, 26). İdrar 11-dehidrotromboksan B2 düzeyi vücuttaki total TxA2 üretimini yansıtır. TxA2 esas olarak trombositlerce üretilse de, monosit, makrofaj gibi trombosit dışı kaynaklardan da üretilebilir. Bu yöntemin sensitivitesi düşüktür.

TxA2 bağımlı trombosit fonksiyonu ölçümünde çeşitli yöntemler kullanılmıştır.

Kanama zamanı ölçümü in vivo trombosit aktivitesini gösterir. İntra kapiller basıncı sabit tutmak amacıyla ön kola 40mmHg basınç uygulanır. Antekübital bölgeye yakın ön kol iç yüzünde 5 mm uzunluk ve 1 mm derinlikte bir kesi yapılır. Kesi yapılmasını takip eden her 30 saniyede bir kurutma kağıdı ile kan temizlenir, bu işlem kanama durana kadar tekrarlanır ve geçen süre ölçülür (5). İşlem yapan kişiye bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir ve tekrarlanabilirliği düşüktür.

Optik agregometri, trombositlerden zengin plazma örneklerinin inkübasyonu ve agregasyonu uyaran maddelerin eklenmesi sonrasında spektrofotometre ile değerlendirilmesi esasına dayanır. Agregasyon testleri trombositlerden zengin plazma içine 10µM adenzin 5-difosfat ve 0,5 mg/ml araşidonik asit eklenerek yapılır. Sonuçta aspirine rağmen 10µM adenzin 5-difosfat ile  $\geq\%70$ , 0,5 mg/ml araşidonik asit ile  $\geq\%20$  agregasyon saptanması aspirin direnci olarak kabul edilir (11). Optik agregometri ile yapılan ölçümlerde, örneklerin hazırlanması ve testin uygulaması büyük ölçüde testi yapan kişiye bağımlıdır ve zaman alıcıdır. Teknik elemanın yüksek düzeyde eğitim alması gerekmektedir ve teknikteki değişiklikler nedeniyle farklı laboratuvarlarda yapılan sonuçlar birbiriyle karşılaştırılamamaktadır. Total standart deviasyon %3.6-7.7 arasındadır. Aynı kişi tarafından aynı agregometre ile bir gün içinde yapılan testlerde %1.7 ile %4.6 arasında değişkenlik vardır. Total standart deviasyondaki değişiklikler %42.3-63 günden güne değişkenlik, %1-33'ü operatör değişkenliği ve %22-36'sı operatörün belirli örnekte aynı gün içinde yaptığı ölçümlerde oluşan değişkenlikten oluşmaktadır. Bu nedenle yaygın kullanılamamaktadır (37).

PFA-100, in-vitro kanama zamanını ölçen bir cihazdır. Bu cihazda 147 µm çapındaki bir açıklıktan sodyum sitrat ile antikoagüle edilen 900 µl tam kan, yüksek akım hızı ile kollajen ile kaplı bir membrana doğru aspire edilir. Membran ile etkileşen trombositler yüzeye yapışır ve agrege olur. Agrege olan trombositler bu açıklıktan kanın akışını engelleyecek şekilde bir tıkaç oluştururlar. Bu tıkaçın oluşması için geçen süre ölçülür. Kapanma zamanı (KZ) olarak tanımlanan bu süre in vitro trombosit fonksiyonunu gösterir. Cihazda iki tip kartuş kullanılır. Bu kartuşlardan biri kollajen ve ADP (Col/ADP), diğeri kollajen ve epinefrin (Col/Epi) içerir. Aspirin kullanımı Col/Epi ölçümünü etkilemektedir. Normal referans aralığı Col/Epi için 98-185 saniye, Col/ADP için 81-113 saniye olarak kabul edilmektedir. Aspirin kullanan hastada Col/Epi kartuşu ile yapılan ölçümlerde kapanma zamanının 185 saniyenin altında olması aspirin direnci olarak tanımlanır (11). Bu yöntemin kullanımı günlük pratikte kolay ve hızlıdır. Ölçümlerin gün içi ve günden güne değişim oranı %10'u geçmemektedir.

Hızlı trombosit işlev inceleyicisi (RPFA) kullanılan diğeri bir yöntemdir. Bu yöntemde, trombosit fonksiyonları otomatize turbidimetrik bir sistem kullanılarak değerlendirilir. Tam kandaki aktive trombositlerin fibrinojene bağlanma becerisini ölçmeye dayanır. Sonuçlar aspirin reaksiyon ünitesi (ARU) olarak ifade edilir. Belirlenen limit değer 550 ARU'dur. Sonuçta elde edilen değer >550 ARU ise aspirine dirençli, <550 ARU ise aspirine duyarlı olarak yorumlanır. Cihaz tasarımı yatak başı ölçüm yapılabilecek şekildedir, uygulaması hızlı ve kolaydır (37)

Yaygın olarak kullanılan testlerden hangisinin aspirin direncini saptamada daha duyarlı olduğu tartışmalıdır. Lordkipanidze ve arkadaşları yaygın olarak kullanılmakta olan altı testi karşılaştırdıkları çalışmada testler arası korelasyonun çok zayıf olduğunu göstermişlerdir (38). Halen optik agregometri altın standart olarak kabul edilmektedir.

### **2.3. Trombosit Fonksiyonlarında Glikoproteinlerin Rolü**

Trombositler tıkkayıcı arter hastalıklarının patogeneğinde önemli rol oynarlar. Damar duvarının, aterosklerotik plak rüptüründe olduğu gibi, intima tabakasının hasarlanması sonucu von Willebrand faktör (vWF) ve subendotelyal kollajen periferik kana salınır. Kandaki trombositler GpIa/IIa ve GpIb/IX reseptörleri aracılığı ile subendotelyal kollajen ve vWF'e yapışırlar. Bu etkileşim sonucunda trombosit aktivasyonu uyarılır. Bu uyarılma sonucu trombositlerde şekil değişikliği olur ve içlerinde bağlı olarak bulunan kalsiyum serbestleşir. Trombositin içinde serbest iyonize kalsiyum miktarındaki artış, ilk önce, yüzeyinde bulunan GpIIb/IIIa reseptörünün yapısal değişimini uyarır ve bunun sonucunda trombosit dolaşımında bulunan fibrinojen gibi adeziv proteinleri bağlayabilir hale gelir. Kalsiyum miktarındaki artış, aynı zamanda trombosit granülleri içinden agregasyonu aktive eden moleküllerin salınımını uyarır. Fosfolipaz A2 enzim aktivitesini, araşidonik asit üretimini arttıracak şekilde stimüle eder. Araşidonik asitten COX-1 enziminin katalizlediği reaksiyon sonucunda TxA2 sentezlenir. TxA2 trombosit yüzeyinde fibrinojen reseptörü sunumunu arttırır. Dolaşıma salınan TxA2 diğer trombositlerin aktivasyonunu tetikler.

GpIIb/IIIa integrin ailesinin bir üyesidir. Fibrinojen için reseptör görevi görür, aynı zamanda vWF, fibronektin ve trombospondini bağlayabilme özelliği taşır. GpIIb/IIIa kompleksi özellikle en çok periferik kandaki trombositlerde ve megakaryositlerde eksprese olur, aynı zamanda trombosit yüzeyinde en bol bulunan glikoproteindir. GpIIb/IIIa'nın aktif formuna fibrinojenin bağlanması trombosit agregasyonu ve trombüs oluşumunda agonistlerden bağımsız olan son basamaktır (32).

### **2.4. Glikoprotein IIIa Polimorfizmi ve Vasküler Hastalıklardaki Rolü**

Normal trombosit agregasyonu sağlam bir fibrinojen reseptörüne ihtiyaç duyar. Bu reseptörün GpIIb ve GpIIIa olmak üzere iki alt birimi bulunmaktadır. GpIIb/IIIa reseptör antagonistlerinin özellikle perkutanöz koroner re-vaskülarizasyon yapılan



akut koroner sendromlu hastalarda morbidite ve mortaliteyi azalttığıının gösterilmesi ile GpIIb/IIIa'nın aterotrombotik olaylardaki önemi artmıştır (39).

GpIIIa alt birimini kodlayan gen kromozom 17q21 lokalizasyonunda bulunmaktadır. GpIIIa alt biriminin en bilinen iki izoformu, PLA1 ve PLA2'dir. PLA1/A2 dimorfizminde T1565C nükleotid yer değişimi sonucunda Leu33 aminoasiti yerine Pro33 aminoasiti gelir. GlikoproteinIII Pro33 (PLA2) allel frekansı beyaz ırkta %15, siyah ırkta %8 iken sarı ırkta nadirdir. Gp IIIa alt birimindeki amino asit yer değişimi sonucu, GpIIb/IIIa reseptöründe çeşitli şekil değişiklikleri meydana gelir. Bu yapısal değişimler aktive GpIIb/IIIa reseptörüne ligandların bağlanmasını veya postreseptör sinyalizasyonu değiştirebilir (39).

İlk kez Weiss ve arkadaşları akut koroner sendrom tablosu ile gelen hastalarda PLA2 alleli taşıyıcılığının kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu ifade etmişlerdir (31). Walter ve arkadaşları PLA2 alleli taşıyıcılarında PLA1 homozigot kişilere göre koroner stent restenozu riskinin daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır (40). Birçok çalışmada ise PLA2 alleli ile koroner arter hastalığı riski arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (41, 42). Feng ve arkadaşları Framingham Offspring çalışmasındaki hastalarda yaptıkları genetik analizler sonucunda PLA2 allelinin koroner arter hastalığı riskini arttırdığını göstermişler ve fonksiyonel olarak PLA2 alleleline sahip kişilerde epinefrinle uyarılan trombosit agregasyonunda artış olduğunu saptamışlardır (43). GpIIIa polimorfizminin fonksiyonel etkisini araştıran birçok çalışma sonucunda, PLA2 taşıyan trombositlerde, aktivasyon,  $\alpha$  granül boşalımı, GpIIb/IIIa aktivasyonu ve fibrinojenin bağlanması için gereken eşik değerin daha düşük olduğu gösterilmiştir. Trombositlerdeki artmış reaktivite, PLA2 taşıyan trombositlerde, PLA1 taşıyan trombositlere göre tromboza eğilimin daha fazla olduğunu düşündürmektedir (44). Pamukçu ve arkadaşları koroner stent restenozu olan hastalarda aspirin rezistansı prevalansının arttığını, bu artışın GpIIIa polimorfizminden bağımsız olduğunu ifade etmişlerdir (45).

Yapılan çalışmalarda GpIIIa PLA1/A2 polimorfizmi ile inme arasındaki ilişki tartışmalıdır. Szolnoki ve arkadaşları inme alt tiplerinde PLA2 alleli dağılımını incelemişlerdir. PLA2 alleli frekansının büyük damar patolojisi olan kişilerde iki kat

daha fazla olduğunu göstermişlerdir. PLA2 alleli varlığı ile laküner ve mikst vasküler inme arasında böyle bir ilişki yoktur (46). Chen ve arkadaşları genç inme ile GpIIIa polimorfizmi arasında ilişki saptamamışlardır, fakat beyaz ırkın aksine Asya ırkında PLA2 alleli varlığı nadiren saptanmaktadır (47). Undas ve arkadaşları PLA2 taşıyıcılığının artmış trombin formasyonuna ve aspirinin antitrombotik etkisinde azalmaya neden olduğunu ortaya koymuşlardır (33). Meiklejohn ve arkadaşları GpIIIa polimorfizminin, aterotrombotik inme için risk faktörü olmadığını ifade etmişlerdir (48). Lanni ve arkadaşları yüksek riskli hipertansif popülasyonda PLA2 polimorfizminin iskemik inme riskini arttırdığını göstermişlerdir (49). Oksala ve arkadaşları PLA2 taşıyıcılarında sigara kullanımının laküner inme için risk faktörü olduğunu ortaya koymuşlardır. PLA2 alleli ile sigara kullanımının ortaya çıkardığı sinerjinin, PLA2 varlığında modifiye olan fibrinojen reseptörünün affinitesinin, fibrinojen seviyeleri ve trombosit agregabilitesi arasındaki etkileşim sonucu ortaya çıktığını ileri sürmüşlerdir (50).

## **2.5. İskemik Serebrovasküler Hastalıklarda Risk Faktörleri**

Vasküler hatalıklar tüm dünyada mortalite ve morbiditeye yol açan hastalık gruplarından en yaygın olanıdır. Aterotromboz, vasküler hastalıkların oluşum sürecinde altta yatan mekanizmalardan biridir. Aterotromboz sistemik bir hastalıktır. Klinik, kardiyovasküler hastalık, periferik arter hastalığı, iskemik inme veya geçici iskemik atak olarak ortaya çıkabilir. Ness ve arkadaşları geriatric hasta grubunda yaptıkları prevalans çalışmasında, iskemik inme geçiren hastalarda, %56 oranında koroner arter hastalığı, %28 oranında periferik arter hastalığı birlikteliği olduğunu göstermişlerdir (51).

İskemik inme risk faktörlerinin ortaya konulması, birincil ve ikincil korumada, tedavi stratejilerinin belirlenmesi açısından gereklidir (Tablo 2.3). Yaş, cinsiyet, ırk, genetik yatkınlık değiştirilemeyen risk faktörleridir. Tedavi stratejileri belirlenirken özellikle değiştirilebilir risk faktörleri üzerinde durulmuştur.

**Tablo 2.3.** İskemik İnme Risk Faktörleri

İskemik inme risk faktörleri
Değiştirilemeyen risk faktörleri <b>Yaş</b> <b>Cinsiyet</b> <b>İrk</b> <b>Aile öyküsü ve heredite</b>
Değiştirilebilir risk faktörleri Kesinleşmiş faktörler <b>Hipertansiyon</b> <b>Kalp hastalıkları</b> <b>Hiperlipidemi</b> <b>Diyabet</b> <b>Sigara kullanımı</b> <b>Asemptomatik karotis stenozu</b> <b>Geçirilmiş inme veya geçici iskemik atak öyküsü</b>
Kesinleşmemiş faktörler <b>Ağır alkol kullanımı</b> <b>Obezite</b> <b>Hiperhomosisteinemi</b> <b>Hiperkoagülabilité</b> <b>Beslenme alışkanlıkları</b> <b>Azalmış fizik aktivite</b> <b>Hormon replasman tedavisi</b> <b>Migren</b> <b>Enfeksiyonlar</b> <b>İnflamasyon</b>

Değiştirilemeyen risk faktörleri:

Yaş ilerledikçe iskemik inme riskinin arttığı bilinmektedir. 55 yaşından sonra geçen her dekatta inme riski katlanarak artmaktadır (52).

Cinsiyet; erkeklerde inme riski kadınlara oranla yüksektir. İstisna olarak 30-44 yaşları arası ve 85 yaşından sonra, kadınlarda yaş ile ilişkili inme riskinde ılımlı bir

artış gösterilmiştir. Gebelik ve oral kontraseptif kullanımının, genç kadınlarda inme riskindeki ılımlı artışın nedeni olabileceği düşünülmektedir. Erkeklerde daha genç yaşlarda kardiyovasküler nedenli ölüm görülme olasılığının fazla olması yaşlı kadınlardaki inme riskindeki hafif artışı açıklayabilir.

İrk; siyah ırkta inme insidansı beyaz ırka göre yüksektir. Siyah ırktaki yüksek insidansın olası nedeni olarak, hipertansiyon, obezite ve diyabet prevalansının daha yüksek olması öne sürülmüştür (53).

Genetik faktörler; anne ve babasında inme geçirme hikayesi bulunan kişilerde inme riskinde artış mevcuttur (54). Bu artış, inme için risk faktörü olan diğer hastalıklara genetik yatkınlık, aynı çevresel faktörlere maruz kalma ve yaşam biçimlerindeki benzerlik ile ilişkili olabilir. İkiz çalışmalarından, inme riskinde ailesel yatkınlığı destekleyen güçlü veriler elde edilmiştir. Yapılan çalışmalarda inme prevalansının monozigotik ikizlerde dizigotik ikizlere oranla 5 kat fazla olduğu gösterilmiştir (55).

Değiştirilebilir risk faktörleri:

Hipertansiyon en önemli değiştirilebilir risk faktörüdür. Kan basıncının 140/90mmHg'nın altında tutulması önerilmektedir. Yapılan çalışmalarda antihipertansif tedavinin %35-44 oranında inme insidansında azalma sağladığı gösterilmiştir (56). İzole sistolik kan basıncı yüksekliğinin kontrolü inme insidansında %36 lık bir düşüş sağlamıştır (57).

Dislipidemi, özellikle yüksek trigliserid ve düşük HDL seviyeleri, iskemik inme için risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Lipid modifiye edici ajanların kullanımı, özellikle koroner arter hastalığı olan kişilerde inme riskini azaltmaktadır (58).

Asemptomatik karotid arter darlığı olan kişilerde yıllık inme insidansı yaklaşık %2'dir. Yapılan çalışmalarda, darlık derecesi % 75'in üstünde olan kişilerde, hızlı ilerleme gösteren darlıklarda, beraberinde kalp hastalığı olanlarda inme veya geçici iskemik olay görülme sıklığının arttığı ifade edilmiştir (58).

Diyabet ateroskleroz gelişimini arttırmakla birlikte, bu hastalarda diğer aterotrombotik risk faktörleri prevalansı da artmıştır. Yapılan vaka kontrol

çalışmalarında iskemik inme riskinde iki ile altı kat arasında değişen oranlarda artış bildirilmiştir. Hipertansiyon ve hiperglisemi birlikteliği inme dahil diyabetik komplikasyon riskini arttırmaktadır. Kan şekeri ve kan basıncının sıkı kontrolü inme riskinde %44'e varan bir azalma sağlamaktadır.

Sigara kullanımı, hem iskemik hem hemorajik inme riskini arttırmaktadır. Sigaranın aktif kullanımı kadar pasif maruziyet te inme riskini arttırmaktadır. Sigara içiminin kesilmesi ile birlikte inme riskinde azalma görülmektedir (58).

Artmış alkol kullanımı, inme dahil birçok tıbbi komplikasyona neden olmaktadır. Hafif alkol alımı, HDL kolesterol seviyesinde artış, trombosit agregasyonunda azalma ve plazma fibrinojen konsantrasyonunda azalmaya neden olarak iskemik olaylara karşı koruyucu etki göstermektedir. Günlük 12 gramın altında alkol tüketimi vasküler hastalık riskini azaltırken, 60 gramın üstünde alkol kullanımı inme riskini %69 oranında arttırmaktadır.

Obezite, inme için risk faktörüdür. Sıklıkla kilo kontrolünün yanısıra hipertansiyon, diyabet, lipid düzeyi gibi diğer vasküler risk faktörlerinin de kontrolü inme riskini azaltmaktadır.

Azalmış fiziksel aktivite kardiyovasküler hastalıklar ve inme için risk faktörüdür. Günlük yapılan, yürüyüş gibi, hafif dereceli egzersizlerin inme riskini azalttığı düşünülmektedir.

Geçirilmiş serebral vasküler olay hikayesi olanlarda; özellikle inme sonrası ilk 30 gün içinde tekrarlama riski yüksektir. Erken ve geç tekrarlama riski aterosklerotik inmelerde en yüksek, laküner inmelerde en düşüktür. Bir yıl sonunda inmenin tekrarlama riski, inme alt tipine ve komorbid hastalıklara bağlı olarak %5-25 arasında değişen oranlarda gözlenir (59).

İnme geçiren hastaların çoğunda kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı ya da atrial fibrilasyon gibi kardiyak hastalıklarla birliktelik saptanmıştır. Özellikle yaşlı hastalarda atrial fibrilasyon inme için potent bir risk faktörüdür. Koroner arter by-

pass cerrahisi sırasında hastalarda inme gelişme riski %1-7 arasında değişen oranlarda bildirilmiştir (60).

Oral kontraseptif kullanımı özellikle trombotik olay hikayesi olan kişilerde risk artışına neden olabilir.

Obstrüktif uyku apne sendromunda inme riskinin arttığı ifade edilmiştir. Bu artışa kan basıncı regülasyonunda bozulma, serebral kan akımında azalma ve kardiyak aritmilerin tetiklenmesi gibi nedenlerin yol açtığı düşünülmektedir.

Beslenme alışkanlıkları; artmış sodyum alımı inme riskini arttırırken, meyve ve sebze ağırlıklı beslenme inme riskini azaltmaktadır.

Hiperhomosisteinemi, tedavi edilebilir, bağımsız bir risk faktörüdür. Homosistein seviyesinin  $\geq 15\mu\text{mol/L}$  olması inme riskini arttırmaktadır. Folik asit, vitamin B12 ve vitamin B6 tedavisi ile serum homosistein seviyelerinde düşüş sağlanabilir (61).

Migrenin, özellikle auralı migrenin genç erişkinlerde inme riski ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Öne sürülen mekanizmalar arasında arka sistem dolaşımı başta olmak üzere kan akımında ve hacminde azalma ve oligemi sayılabilir. Diğer bir mekanizma ise patent foramen ovale varlığında ortaya çıkan paradoksal embolilerdir. Migren hastalarında aynı zamanda trombosit aktivasyonu ve trombosit-lökosit agregasyonunda da artış olmaktadır, bu mekanizma trombüs oluşumunu tetikleyerek inme riskini arttırabilir (62).

Birçok herediter ve kazanılmış hiperkoagülabiliteye neden olabilecek hastalığın venöz trombozla ilişkisi bilinmektedir. Antifosfolipid antikor sendromunun, özellikle genç kadınlarda arteriyel trombozla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Diğer herediter, hiperkoagülabiliteye neden olan hastalıklarla inme arasında ilişki gösterilememiştir (58).

İnflamasyon, aterosklerotik vasküler hastalıkların patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda, CRP gibi inflamatuvar belirteçlerin kandaki seviyesinin inme riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur (63).

Birçok enfeksiyöz patojenin aterosklerotik vasküler hastalıkların gelişimi ile ilişkili olabileceğini gösteren veriler vardır. Klamidya pnömoni, aterosklerotik plaklarda tesbit edilmiştir (64). Klamidya pnömoni'ye karşı oluşan immünglobulin A titresi ile iskemik inme riski arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (65). Periodontal hastalıkların karotid arter aterosklerozunu ve inme riskini arttırdığına dair veriler bulunmaktadır. Helikobakter pilori aterosklerotik plaklarda saptanan bir diğer mikroorganizmadır (58).

Özellikle değiştirilebilir risk faktörlerinin kontrolü vasküler olayların engellenmesinde ve tedavi stratejilerinin belirlenmesinde önemlidir.

### **3. HASTALAR VE YÖNTEM**

Başkent Üniversitesi Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji polikliniğinde veya servisinde takip edilen vasküler risk faktörü bulunan 208 hasta çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan hastaların hepsinde en az bir kere PFA-100 yöntemi ile KZ ölçüldü. Tüm hastalardan genetik analiz için kan örnekleri alınarak GpIIIa polimorfizmi çalışıldı.

#### **3.1. Hasta Seçimi**

Nöroloji polikliniğinde veya servisinde takip edilen, birincil veya ikincil koruma için aspirin kullanan, vasküler risk faktörü bulunan ve bilgilendirilmiş onam formunu okuyarak çalışmaya katılmayı kabul eden 208 hasta çalışmaya dahil edildi.

Hastalar başvuru şikayetlerine ve aspirin kullanım öykülerine göre temel olarak 3 gruba ayrıldı. Bu gruplar:

1. Aspirin tedavisi altında asemptomatik olan grup
2. Aspirin kullanılmakta semptomatik olan grup
3. Herhangi bir antiagregan ya da antikoagülan kullanımı olmadan semptomatik olan grup

Aspirin tedavisi altında asemptomatik olan grup; vasküler risk faktörü bulunan, birincil koruma amacıyla aspirin başlanan ya da özgeçmişinde miyokard infarktüsü, geçici iskemik atak veya iskemik inme öyküsü bulunan, ikincil koruma için aspirin kullanan ve aspirin tedavisi altında en az 12 aydır vasküler olay yaşamayan hastalardan oluşturuldu.



Aspirin kullanmaktayken semptomatik olan grup; vasküler risk faktörü bulunan, birincil koruma amacıyla aspirin başlanan ya da özgeçmişinde miyokard infarktüsü, geçici iskemik atak veya iskemik inme öyküsü bulunan, ikincil koruma için aspirin kullanan ve akut iskemik inme veya geçici iskemik atak nedeniyle başvuran hastalardan oluşturuldu.

Herhangi bir antiagregan ya da antikoagülan kullanımı olmadan semptomatik olan grup; vasküler risk faktörü bulunan, akut iskemik inme veya geçici iskemik atak nedeniyle başvuran ve ikincil koruma amacıyla yeni aspirin başlanan hastalardan oluşturuldu.

Akut iskemik inme ya da geçici iskemik inme nedeniyle başvuran hastalarda etyolojik faktörlerin saptanması ve uygun tedavinin düzenlenmesi amacıyla Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG)/Bilgisayarlı Tomografi (BT), elektrokardiyografi (EKG), karotis dopler ultrasonografi, transtorasik ekokardiyografi, açlık kan şekeri, lipid profili, tam kan sayımı, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri yapıldı. Tetkik sonuçlarında etyolojik faktör olarak aterotromboz düşünülenler çalışmaya alındı.

Hastaların hikayeleri, özgeçmişleri, vasküler risk faktörleri ve kullanmakta oldukları ilaçları sorgulandı. Hastaların aspirin kullanım süreleri, doz ve preparat özellikleri, düzenli kullanıp kullanmadıkları kendilerinden, yakınları ya da hasta bakıcılarından ayrıntılı olarak öğrenildi.

Çalışmaya hematolojik hastalık hikayesi, diyaliz ihtiyacı olan kronik böbrek yetmezliği, akut veya kronik karaciğer yetmezliği, malignite, kardiyoembolik inme için kaynak olabilecek atriyal fibrilasyon, kardiyak trombus veya kalp kapak replasmanı, trombositopeni ( $<100\ 000/\text{mm}^3$ ), trombositoz ( $>450\ 000/\text{mm}^3$ ), anemi (hemoglobin  $< 10\ \text{g/dl}$ ), polistemi (hematokrit  $>50\%$ ), son 1 ay içinde major cerrahi girişim hikayesi ve aspirine ek olarak başka antiagregan veya antikoagülan ilaç kullanımı olan hastalar alınmadı.

Tüm olgularda trombosit fonksiyon testleri yapılmadan önce en az 10 gün süreyle düzenli 100-300 mg/gün dozunda, enterik kaplı veya enterik kaplı olmayan aspirin preparatlarından kullanıldı.

### **3.2. Aspirin Direncinin Saptanması**

Aspirinin etkinliğini saptamada PFA-100<sup>®</sup> (Dade Behring, Mannheim, Germany) sistemi kullanıldı. Hastalardan antekübital bölgeden trombosit fonksiyonlarını ölçmek amacıyla %3,8 sodyum sitrat içeren tüplere 8 ml venöz kan örnekleri alındı. Col/Epi içeren kartuşlar kullanılarak KZ ölçüldü. Laboratuvarımızın Col/Epi kartuşları ile ölçülen KZ normal değer aralığı 85 ile 165 saniye olup, sistem maksimum ölçüm değeri 300 saniye idi ve bu değer üstündeki KZ değerleri 300 saniye olarak kabul edildi. Çalışmamızda düzenli aspirin kullanımına rağmen Col/Epi kartuşu ile yapılan ölçümlerde KZ'nın 165 saniyenin altında olması aspirin direnci olarak tanımlandı.

### **3.3. Gp IIIa Polimorfizminin Saptanması**

Hastalardan DNA izolasyonu için 0,5 EDTA'lı tüplere 10 ml venöz kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden yüksek tuz konsantrasyonu yöntemi ile genomik DNA izolasyonunu takiben Gp IIIa P1A1/A2 genotipleme yapıldı. Genotipin aterotrombotik inme ile ilişkisini saptamak amacıyla semptomatik hastalarla asemptomatik hasta grubunda vasküler hikayesi bulunmayan hastalar karşılaştırıldı. Genotipin aspirin direnci ile ilişkisinin gösterilmesi amacıyla aspirine dirençli olan kişilerle aspirine duyarlı olan kişilerin özellikleri karşılaştırıldı.

### 3.3.1. DNA İzolasyonu

1. EDTA'lı tüpe alınmış 10 ml kan 50 ml'lik tüpe alındı. Üzerine 40 ml soğuk su eklendi.
2. 2000 devirde 10 dakika santrifüj yapıldı.
3. Santrifüj sonrası üst faz atıldı ve pellet üzerine sırasıyla 150 µl (10 mg/ml) proteinaz K (Sigma, ABD), 200 µl %10'luk sodyum dodesil sülfat (SDS) (Sigma, ABD), 3 ml çekirdek eritici tampon (nuclei lysis buffer): 10 mM Tris (Sigma, ABD), 400 mM NaCl (Sigma, ABD), 2 mM EDTA (Sigma, ABD) eklendi.
4. 37°C'de 1 gece inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyon sonrasında 3 ml 10 M amonyum asetat (Sigma, ABD) eklendi.
6. 8000 devirde 20 dakika santrifüj yapıldı.
7. Üst faz temiz bir tüpe (Greiner, Almanya) alındı. Üzerinde 25 ml %100'lük etil alkol (EtOH) (Merck, Almanya) eklendi.
8. 2 saat-20°C'de DNA'nın toplanması beklendi.
9. Toplanan DNA 1,5 ml'lik tüpe alındı, üzerine %75'lik EtOH'dan 1 ml eklendi.
10. 13000 devirde 15 dakika santrifüj (Heraeus, Almanya) yapıldı.
11. Üst faz atıldı ve pellet kurumaya bırakıldı.
12. Kuruyan pellete 100 µl H<sub>2</sub>O eklendi. 37°C'de 2 saat bekletildi
13. Ayırıştırılan DNA örnekleri +4°C'de saklandı.

### 3.3.2. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)

Genotipleme için daha önce literatürde belirtilen (5-GCT CCA ATG TAC GGG GTA AAC ve 5-GGG GAC TGA CTT GAG TGA CCT) primer dizileri kullanılarak gerçekleştirilen PCR'nu takiben amplifikasyon ürünleri %2 agaroz jel elektroforezi ile kontrol edildi (33). PCR ürünleri MspI ile kesim işlemini takiben %12'lik poliakrilamid jel elektroforezinde yürütüldükten sonra UV'de incelenmiştir.

PCR karışımı her bir hasta için: 10 µl 10x standart PCR tamponu, 10 pmol/µl primer 1, 10 pmol/µl primer 2, herbiri 200 mM olacak şekilde hazırlanan dNTP karışımı, 1.25 U Taq polimeraz, 110 ngr DNA eklendi ve steril dH<sub>2</sub>O ile 50 µl son hacime tamamlandı. PCR sonucu oluşan ürün %2'lük agaroz jel elektroforezinde analiz edildi.

Agaroz jel elektroforez: Agaroz (Sigma, ABD) istenen yüzdede (PCR için %2, restriksiyon endonükleaz kesimi için %3) olacak şekilde tartıldı. Üzerine 1x TBE solüsyonu kondu. 5x TBE solüsyonundan 1x TBE solüsyonunun hazırlanışı aşağıdaki gibidir:

Tris base (Sigma, ABD) 54 gr

Borik asit (Merck, Germany) 27.5 gr

0,5 M EDTA (Sigma, ABD) 20 ml

olarak dH<sub>2</sub>O ile 1 litreye tamamlandı. Mikrodalga fırında (Arçelik,Türkiye), karıştırılarak homojen bir hal alması sağlandı. Agaroz üzerine 0.5 µg/ml ethidium bromide (Sigma, ABD) eklendi. Agaroz elektroforez tepsisine (Biorad, ABD) döküldü ve donması için 30-40 dk beklendi. Daha sonra her PCR ürününden 10 µl alınarak jele yüklendi ve jel 45 dk yürütüldü. Edas 290 (Kodak, Almanya) görüntüleme sisteminde görüntülendi.

RFLP sonucu oluşan 282 bp'lik tek bant PlA1/A1, 125/157 bp'lik ise PlA2/A2 genotipi olarak tanımlanmıştır.

### **3.4. Aspirin Dozunun Belirlenmesi**

Aseptomatik grupta hastalarda PFA-100 sistemi ile yapılan ölçüm sonrasında direnç saptanması durumunda aspirin dozu ve/veya preparat şekli değiştirildi. Bu değişim maksimum 300 mg olacak şekilde dozu arttırmak ve/veya enterik kaplı tablet kullanan hastalarda enterik kaplı olmayan preparatlara veya farklı grup antiagregan ilaçlara geçerek yapıldı. Değişim yapılan hastalar en az 10 gün süre ile yeni aspirin preparatını kullandıktan sonra PFA-100 sistemi ile test tekrarlandı. Farklı grup antiagregan ilaç başlanan hastalarda trombosit fonksiyon testleri tekrar edilmedi.

Aspirin kullanmakta iken aterotrombotik inme ya da geçici iskemik atak geçiren hastalarda akut dönemde bir kez KZ ölçüldü. Bu hastalarda KZ değerine bakılmaksızın klinik olarak aspirin yetersizliği olduğu düşünülerek ya aspirine farklı grup bir antiagregan ilaç eklendi veya tedavilerine başka bir antiagregan veya antikoagülan ilaçla devam edildi ve takiplerinde test tekrarı yapılmadı.

Aspirin yeni başladığımız olgularda ise aseptomatik olgularda olduğu gibi en az 10 gün süre ile düzenli aspirin kullandıktan sonra KZ sonuçlarına göre doz ve preparat şekli belirlendi. Bu grupta ilk başlanan aspirin dozu ve preparat şekli rastgele belirlendi.

KZ sonuçlarına göre aspirine duyarlı olduğu saptanan olgularda doz değişimi yapılmaksızın kullanmakta oldukları preparata aynı şekilde devam edildi. Tüm gruplarda kontrole gelen hastalarda iki ölçüm arasında en az bir ay olmak üzere KZ ölçümleri tekrarlandı ve zaman içinde aspirinin etkinliğinde değişim olup olmadığı gözlemlendi.

### **3.5. İstatistik**

Çalışmanın verileri bilgisayar ortamında SPSS 11.0 paket programına aktarılmış olup veri kontrolü ve analizler bu programda yapılmıştır. Kategorik değişimler, frekanslar ve yüzdeler biçiminde ifade edilmiştir. Kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında

$\chi^2$  (ki kare) testi kullanılmıştır. Devamlı değişkenler için ortalama değerler ve standart sapmalar hesaplanmıştır. Devamlı değişkenlerin karşılaştırılmasında ‘Mann Witney U’ testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı p değeri  $\leq 0,05$  olarak kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Hastaların Demografik Özellikleri ve Aspirin Direnci ile İlişkisi

Çalışmaya alınan tüm hastalar birlikte değerlendirildiğinde yaş ortalamaları  $68\pm 11,3$  yıldır. Hastaların demografik özellikleri Tablo 4.1’de özetlenmiştir. Asemptomatik grupta 133, aspirin kullanırken semptomatik olan grupta 42, semptomatik olduktan sonra aspirin başlanan grupta 33 hasta bulunmaktaydı. Tüm çalışma grubunda hastaların %42,8’i (n=89) 100 mg enterik kaplı, %48,6’sı (n=101) 300 mg enterik kaplı, %8,7’si (n=18) 300 mg enterik kaplı olmayan aspirin preparatlarından kullanmaktaydı. Hastaların ortalama aspirin kullanım süresi  $34,6\pm 47,5$  aydır.

**Tablo 4.1.** Hastaların Demografik Özellikleri

Demografik özellikler	Hasta sayısı
Kadın	116 (%55,8)
Erkek	92 (%44,2)
Sigara kullanımı	37 (%17,8)
Alkol kullanımı	4 (%1,9)
Hipertansiyon	169 (% 81,3)
Diyabet	47 (%22,6)
Koroner Arter Hastalığı	57 (%27,4)
Hiperlipidemi	99 (%47,6)
Geçirilmiş vasküler olay hikayesi	41 (%19,8)

Çalışma grubumuzdaki hastaların tamamında aspirin dozu, preparat şekli ve kliniğini değerlendirmeden aspirin direnci oranı %32,2 olarak saptandı. Aspirine duyarlı grup ile aspirine dirençli grup arasında yaş hariç demografik özellikler açısından

istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.2). Aspirin direnci saptanan hastalarda yaş ortalaması  $72 \pm 9,7$  yıl, aspirin direnci olmayan hastalarda ise  $67 \pm 11,8$  yıl olarak saptandı. İki grup karşılaştırıldığında aspirin direnci olan hastaların yaş ortalamasının aspirin direnci olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu gözlemlendi ( $p=0,009$ ).

**Tablo 4.2** PFA-100 sistemi ile aspirin direnci ve hastaların demografik özellikleri

Demografik özellikler	Aspirin Dirençli*	Aspirin Duyarlı	p
	n=67	n=141	
Yaş (yıl)	72±9,7	67±11,8	0,009
Kadın	34 (%50,7)	82 (%58,2)	0,315
Sigara kullanımı	14 (%20,9)	23 (%16,3)	0,419
Alkol kullanımı	2 (%3)	2 (%1,4)	-
Hipertansiyon	55 (%82,1)	114 (%80,9)	0,831
Diyabet	15 (%22,4)	32 (%22,7)	0,961
Koroner Arter Hastalığı	18 (%26,9)	39 (%27,7)	0,905
Hiperlipidemi	28 (%41,8)	71 (%50,4)	0,248
Geçirilmiş vasküler olay hikayesi	11 (%16,5)	30 (%21,3)	0,410
Aspirin kullanım süresi (ay)	18±45,9	13±48,3	0,199

Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma (SD) veya n (%) olarak verilmiştir. \* Col/Epi KZ <165 saniye

Çalışma grubundaki hastalarda aspirinin doz ve preparat özelliğine göre bakıldığında 100 mg enterik kaplı tablet kullananların %39,3'ünde (n=35), 300 mg enterik kaplı tablet kullananların % 25,7'sinde (n=26), 300 mg enterik kaplı olmayan tablet kullananların %33,6'sında (n=6) aspirin direnci saptandı. Gruplar arasında doz ve preparat özelliğinin aspirin direnci üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı



bulunmadı (p=0,135). Enterik kaplı olmayan preparat kullanan hastaların sayısı diğer gruplara göre belirgin oranda düşüktü. Bu nedenle dozlar arası istatistiksel değerlendirme alt gruplara bölünerek tekrarlandı. Gruplar ayrı ayrı karşılaştırıldığında 100 ve 300 mg enterik kaplı preparatlar arasında aspirin direnci oranlarında istatistiksel olarak anlamlı (p=0,045) farklılık saptandı. Bu fark 300 mg enterik kaplı olmayan preparat kullananlar ile 100 mg (p=0,633) veya 300 mg (p=0,503) enterik kaplı preparat kullananlar arasında saptanmadı (Tablo 4.3).

**Tablo 4.3.** PFA-100 ile Saptanan Aspirin Direnci ve Doz İlişkisi

<b>Aspirin Dozu</b>	<b>Aspirine dirençli*</b>	<b>p</b>
Enterik 100 mg (n=89)	<b>%39,3 (n=35)</b>	<b>0,135</b>
Enterik 300 mg (n=101)	<b>%25,7 (n=26)</b>	
Non-enterik 300 mg (n=18)	<b>%33,6 (n=6)</b>	
Enterik 100 mg (n=89)	<b>%39,3 (n=35)</b>	<b>0,045</b>
Enterik 300 mg (n=101)	<b>%25,7 (n=26)</b>	
Enterik 100 mg (n=89)	<b>%39,3 (n=35)</b>	<b>0,633</b>
Non-enterik 300 mg (n=18)	<b>%33,6 (n=6)</b>	
Enterik 300 mg (n=101)	<b>%25,7 (n=26)</b>	<b>0,503</b>
Non-enterik 300 mg (n=18)	<b>%33,6 (n=6)</b>	

\* Col/Epi KZ <165 saniye

İlk başvuruları sırasında aspirin kullanmakta olan asemptomatik 133 hasta ile 42 semptomatik hasta karşılaştırıldı. Asemptomatik gruptaki hastaların yaş ortalaması 67,1±11,4 yıl iken, semptomatik grupta 68,4±9,8 yıldır. Semptomatik grupta koroner arter hastalığı varlığı (p=0,003) ve vasküler olay hikayesi (p=0,002) asemptomatik gruba göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksekti, diğer demografik veriler arasında fark saptanmadı (Tablo 4.4).

**Tablo 4.4.** Asemptomatik ve Aspirin Kullanırken Semptomatik Olan Hastaların Demografik Özellikleri

Demografik Özellikler	Asemptomatik n=133	Semptomatik n=42	p
<b>Yaş (yıl)</b>	<b>67,1±11,4</b>	<b>68,4±9,8</b>	0,677
<b>Kadın</b>	<b>81 (%60,9)</b>	<b>19 (%45,2)</b>	0,07
<b>Sigara kullanımı</b>	<b>18 (%13,5)</b>	<b>11 (%26,2)</b>	0,054
<b>Alkol kullanımı</b>	<b>1 (%0,8)</b>	<b>2 (%4,8)</b>	-
<b>Hipertansiyon</b>	<b>107 (%80,5)</b>	<b>35 (%83,3)</b>	0,677
<b>Diyabet</b>	<b>33 (%24,8)</b>	<b>11 (%26,2)</b>	0,858
<b>Koroner Arter Hastalığı</b>	<b>34 (%25,6)</b>	<b>21 (%50)</b>	0,003
<b>Hiperlipidemi</b>	<b>64 (%48,1)</b>	<b>25 (%59,5)</b>	0,197
<b>Geçirilmiş vasküler olay hikayesi</b>	<b>21 (%15,8)</b>	<b>16 (%38,1)</b>	0,002

Değerler ortalama ± standart sapma (SD) veya n (%) olarak verilmiştir.

Asemptomatik grupta aspirin direnci oranı %33,8 iken semptomatik grupta %35,7 idi. İki grup arasında aspirin direnci oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Gruplarda aspirin dozları ile aspirin direnci oranları incelendi (Tablo 4.5). Gruplardaki hasta sayılarının yetersiz olması nedeniyle p değeri hesaplanamadı, sonuçlar yüzdelerle ifade edildi. Asemptomatik grupta aspirin kullanım süresi 31,6±39 ay, semptomatik grupta 71,5±64,5 aydı. Gruplar arasında aspirin kullanım süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark (p=0,000) bulunmakta iken, bu farkın aspirin direnci üzerine etkisi olmadığı (p=0,743) görüldü.

**Tablo 4.5.** PFA-100 ile Saptanan Aspirin Direnci Oranlarının Doz ile İlişkisi

Grup	Aspirin dozu	Aspirine dirençli*	Aspirine duyarlı
Asemptomatik	Enterik 100 mg	<b>27 (%43,5)</b>	35 (%56,5)
	Enterik 300 mg	<b>17 (%27)</b>	46 (%73)
	Non- enterik 300 mg	<b>1 (%12,5)</b>	7 (%87,5)
Semptomatik	Enterik 100 mg	<b>4 (%25)</b>	12(%75)
	Enterik 300 mg	<b>6 (%31,6)</b>	13 (%68,4)
	Non- enterik 300 mg	<b>5 (%71,4)</b>	2 (%28,6)

\* Col/Epi KZ <165 saniye

Semptomatik olduktan sonra ikincil koruma için aspirin başladığımız 33 hastanın yaş ortalaması 63,15±12,3 yılı. Hastalardan 11'ine 100 mg enterik kaplı, 19'una 300 mg enterik kaplı, 3'üne 300 mg enterik kaplı olmayan tabletlerden başlandı. En az 10 gün düzenli aspirin kullanımından sonra yapılan KZ ölçümlerinde aspirin direnci oranı %21,2 olarak saptandı. Dozlar arasında 100 mg enterik kaplı tablet kullananlarda aspirin direnci oranı en yüksekti (Tablo 4.6).

**Tablo 4.6.** Semptomatik Grupta Aspirin Direnci ve Doz ilişkisi

Aspirin dozu	Aspirine dirençli*	Aspirine duyarlı
<b>Enterik 100 mg</b>	<b>4 (%36,4)</b>	7 (%63,6)
<b>Enterik 300 mg</b>	<b>3 (%15,8)</b>	16 (%84,2)
<b>Non-enterik 300 mg</b>	<b>0</b>	3 (%100)

\*Col/Epi KZ <165 saniye

Aspirin direnci saptanan hastalarda doz ve/veya preparat özelliği değiştirilerek etkinlikte değişim sağlanıp sağlanamayacağı incelendi. İlk ölçümlerde 100 mg enterik kaplı preparat kullanan ve aspirin direnci saptanan 33 hastanın 23'ünde 300 mg enterik kaplı, 10'unda 300 mg enterik kaplı olmayan tabletlere geçildi. 300 mg enterik kaplı tablete geçilen 1 hasta takipten çıkması nedeniyle kontrol KZ ölçümü yapılamadı, kalan 22 hastanın 8'inde (%36,4) kontrol de aspirine duyarlılık sağlandığı gözlemlendi. 300 mg enterik kaplı olmayan preparat kullanılan 10 hastanın 6'sında (%60) KZ ölçümünde aspirine duyarlılık saptandı. 300 mg enterik kaplı tabletlerden kullanırken direnç saptanan 19 hastada 300 mg enterik kaplı olmayan preparatlara geçildikten sonra kontrol KZ ölçümü yapılan 17 hastanın 8'inde (%47,1) aspirine duyarlılık sağlandı.

#### 4.2. Gp IIIa PIA1/A2 polimorfizmi

Hastaların genetik analizleri sonucu 168 hastada (%80,76) PIA1/A1, 39 hastada (%18,75) PIA1/A2 alleli, 1 hastada (%0,5) PIA2/A2 alleli saptandı (Tablo 4.7). PIA2 allel varlığı aspirin direnci olan grupta %14,9 (n=10), aspirine duyarlı olan grupta %21,3 (n=30) olarak saptandı ve gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,277).

**Tablo 4.7.** Gp IIIa PIA1/A2 Polimorfizmi Dağılımı

Grup	PI <sup>A1A1</sup>	PI <sup>A1A2</sup>	PI <sup>A2A2</sup>
	n (%)	n (%)	n (%)
Çalışma grubu (n=208)	168 (%80,8)	39 (%18,8)	1 (%0,5)
Aspirine Dirençli (n=67)	57 (%85,1)	10 (%14,9)	0
Aspirine Duyarlı (n=141)	111 (%78,7)	29 (%20,6)	1 (%0,7)

Dozlar arası aspirin direnci oranları ile PlA2 allel varlığı incelendiğinde de anlamlı fark gözlenmedi ( $p=0,985$ ) (Tablo 4.8). Doz artırımı ile aspirin duyarlılığındaki değişimin incelendiği 32 hastada doza bağlı etki ile genotip-fenotip ilişkisine bakıldı. Doz artımına rağmen aspirin direnci ( $n=18$ ) olan hastalarda %94,4 ( $n=17$ ) oranında homozigot PlA1A1 genotipi saptanırken bu oran duyarlılık sağlanan ( $n=14$ ) hastalarda %78,6 ( $n=11$ ) idi.

**Tablo 4.8.** PlA2 Allel Varlığının Aspirin Doz ve Direnci ile İlişkisi

Aspirinin etkinliği	Doz	PlA2 allel varlığı n=40	p
Aspirine dirençli* (n=67)		%14,9 (n=10)	0,277
Aspirine duyarlı (n=141)		%21,3 (n=30)	
Aspirine dirençli*	100 mg (n=35)	%14,3 (n=5)	0,878
	300 mg (n=32)	%15,6 (n=5)	
Aspirine duyarlı	100 mg (n=54)	%22,2 (n=12)	0,829
	300 mg (n=87)	%20,7 (n=18)	

\* Col/Epi KZ <165 saniye

PlA2 allel varlığının aterotrombotik inme ile ilişkisi incelendi. Vasküler olay hikayesi olmayan asemptomatik hasta grubunda %17,1 ( $n=19$ ) semptomatik hasta grubunda %25,4 ( $n=17$ ) oranında PlA2 allel varlığı tesbit edildi. İki grup arasında PlA2 varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,184$ ) (Tablo4.9).

**Tablo 4.9.** PIA2 Allel Varlığının Klinik ile İlişkisi

Grup	PIA2 allel varlığı	p
<b>Aseptomatik (n=111)</b>	%17,1 (n=19)	0,184
<b>Semptomatik (n=67)</b>	%25,4 (n=17)	

### 4.3. Aspirin Etkinliğinde Zaman İçinde Değişim

Aspirin etkinliğinin zaman içinde değişimini görmek amacıyla takipte tekrarlayan KZ ölçümleri yapıldı. İlk kontrolde aspirine duyarlı olan 70 hastada ikinci kez yapılan kontrolde 8 (%11,4) hastada aspirin direnci geliştiği saptandı. İki kontrol arasındaki zaman  $10 \pm 6,8$  aydı. Her iki kontrolde aspirine duyarlı olduğu saptanan 26 hastada ortalama  $8 \pm 4,6$  ay sonra yapılan üçüncü ölçümde 2'sinde (%7,7) daha direnç geliştiği gözlemlendi. Her üç kontrolde de aspirine duyarlı kalan hastaların 4'ünde de ortalama  $8 \pm 2,2$  ay sonrasında yapılan son ölçümde etkinliğin devam ettiği gözlemlendi.

Zaman içinde aspirin duyarlı durumdan aspirine dirençli duruma geçiş olabildiği için çalışmamızda aspirin kullanımına yeni başladığımız hastalarla zaten kullanmakta olan hastalar karşılaştırıldı. Aspirin kullanırken semptomatik olan ve asemptomatik hasta gruplarında direnç oranı aspirin yeni başlanan gruba göre yüksek olmakla birlikte bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 4.10).

**Tablo 4.10.** Gruplar Arası Aspirin Direnci Prevelansı

Grup	Aspirin Direnci	p
<b>Aseptomatik (n=133)</b>	<b>%33,8 (n=45)</b>	0,184
<b>Semptomatik ASA (+) (n=42)</b>	<b>%37,7 (n=15)</b>	
<b>Semptomatik ASA(-) (n=33)</b>	<b>%21,2 (n=7)</b>	

Semptomatik ASA (+): Aspirin kullanırken iskemik inme geçiren hastalar

Semptomatik ASA (-): İskemik inme sonrası aspirin başlanan hastalar

\* Col/Epi KZ <165 saniye

## 5. TARTIŞMA

Aspirin yaygın olarak kullanılmakla beraber tüm hastalarda aynı koruyucu etkiyi gösterememesi nedeniyle istenen etkiyi sağlayamamaktadır. Aspirinin yetersiz kaldığı bu durumlarda aspirine direnç kavramından söz edilmektedir. Aspirin direnci klinik sonuçları olan bir durumdur (25, 66). Bu durum yaygın olarak görülen kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıkların birincil ve ikincil korumasında kullanılacak tedavi yöntemlerini etkilemektedir. Hastalarda uygun doz ve preparatın belirlenmesinde aspirin direncinin taranması uygun tedavilerin planlanmasına katkı sağlayabilir. Aspirin direncinin saptanmasında farklı yöntemler kullanılmıştır. Bizim de çalışmamızda kullandığımız yöntem olan PFA-100 sisteminin kullanımı kolay ve duyarlılığı yüksektir.

Aspirin direncine neden olabilecek birçok mekanizma öne sürülmekle beraber halen tam olarak açıklığa kavuşmamıştır (3, 12, 14, 16-36). Çalışmamızda bu mekanizmalar arasında gösterilen doz ve preparat özelliğinin aspirin direnci üzerine etkisi, zaman içinde etkinliğin değişimi ve GpIIIa polimorfizminin rolü incelenmiştir. Çalışmamızda ayrıca aterotrombotik inme geçiren hastalarda aspirin direncinin sıklığı, demografik özelliklerle olan ilişkisi ve trombosit agregasyonunda önemli rolü olan GpIIIa polimorfizminin bu grup hastada risk artışına neden olup olmadığı saptanmaya çalışılmıştır.

Genel çalışma popülasyonumuzda aspirin direnci oranı %32,2 olarak saptandı. Aspirin direnci ile demografik özellikler karşılaştırıldığında aspirin duyarlı kişilere göre aspirin direnci saptanan hastaların yaş ortalamalarının daha yüksek olduğu görüldü ( $p=0,009$ ). Bu bulgular literatür ile örtüşmekteydi (3, 11). Çalışmamızda destekler bulgu olmamakla beraber literatürde kadınlarda ve sigara kullananlarda aspirin direnci oranlarının yüksek olduğu gösterilmiştir (12, 67).

Aspirinin farmakolojik etkisinin doz ve preparat özelliği ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Enterik kaplı olmayan tabletlerin emiliminin daha iyi olduğu ifade

edilmektedir. Yetersiz doz kullanımı ve kişiler arası biyoyararlanımdaki farklılıklar aspirin direnci gelişiminde öne sürülen mekanizmalardandır. Bu nedenlerle aspirin direnci geliştiği düşünülen hastalarda aspirin dozu ve/veya preparatı değiştirilerek duyarlılık sağlanabileceği öne sürülmektedir (3, 14). Alberts ve arkadaşları iskemik inme hikayesi bulunan ve ikincil koruma amacıyla aspirin kullanan hastalarda yaptıkları çalışmada düşük doz ve enterik kaplı preparat kullanan hastalarda aspirin direnci oranlarının anlamlı düzeyde yüksek olduğunu ve doz arttırmak ve enterik kaplı olmayan tabletlere geçerek aspirine duyarlılığın sağlanabileceğini ortaya koymuşlardır (3). Malhotra ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada aspirinin trombosit agregasyonunu azaltıcı etkisinin 100 mg altındaki dozlarda 100 mg üstündeki dozlar kadar etkili olmadığı gösterilmiştir (21). Çalışmamızda aspirin direncinin aspirin dozu ve preparat özelliği ile ilişkisine baktığımızda özellikle 100 mg enterik kaplı tablet kullanan kişilerde 300 mg enterik kaplı tablet kullananlara göre daha yüksek oranda olduğunu gözlemledik. Dozlar arası aspirin direnci oranlarını karşılaştırdığımızda, enterik kaplı olmayan preparatlarda diğer gruplara göre bir üstünlük gösterilememekle birlikte, bu gruptaki hasta sayısının diğer gruplara göre düşük olması bu farkın ortaya konulamamasının nedeni olabilir. Hastalarımızda doz artışı ve/veya enterik kaplı olmayan preparatlara geçiş yapılarak %36-%60 arasında değişen oranlarda aspirine duyarlılık sağlandığını saptadık. Bu bulgular doğrultusunda hastalarda uygun doz ve preparatın belirlenmesinde trombosit fonksiyon testlerinin kullanımının fayda sağlayabileceği, farmakolojik olarak etkin olduğu gösterilen preparatın kullanımı ile hastaların aspirinin antitrombotik etkisinden fayda görme şansını arttırabileceğimizi düşünmekteyiz.

Aspirinin etkinliğinin zaman içinde değişim gösterebileceği düşünülmektedir (14, 20). Bu durum hastalarda bu değişimi saptamak ve tedavilerini planlamak için aspirin etkisini monitörize etmek gerekli mi sorusunu akla getirmektedir. Hastalarda zaman içinde aspirin direnci gelişebildiği gibi oluşan bu durumun kalıcı olmadığını ifade eden, zaman içinde aspirin direnci saptanan hastaların aspirine duyarlı konuma geçebildikleri, özellikle akut dönemde artmış katekolamin seviyeleri, trombosit döngüsü ve dolaşıma salınan trombosit agregasyonunu arttırabilecek moleküllerin bu durumu etkileyebileceği ifade edilmektedir. Geçici olabilecek aspirin direnci durumunun klinik üzerine etkileri kesin olarak ortaya konulmamıştır. Poulsen ve



arkadaşları akut miyokard infarktüsü geçiren hastalarda yaptıkları çalışmada aspirin direnci saptanan hastalarda bir yıl sonra yapılan trombosit fonksiyon testlerinde bir grup hastanın aspirine duyarlı duruma geçtikleri, bir yıllık klinik izlemde vasküler olay ve sağ kalım açısından gruplar arası istatistiksel anlamlı fark olmadığını ifade etmişlerdir (68). Aspirine direncin, akut dönemin etkisi ile ortaya çıkan geçici bir süreç mi olduğu, yoksa aspirin direncinin mi akut vasküler olay yaşanmasına neden olduğu tartışılması gereken bir başka konudur. Vasküler olaylarda akut dönemin etkisini gözlemek amacıyla asemptomatik hastalarla, aspirin kullanırken semptomatik olan hastaları karşılaştığımızda aspirin direnci oranları arasında fark saptamadık. Ayrıca aspirin kullanırken semptomatik olan hastalarda farklı grup antiagregan ya da antikoagülan ilaçlarla tedaviye devam edilmesi nedeniyle bu durumun geçici olup olmadığını değerlendirme şansımız olmadı. Bizim sonuçlarımızın aksine Grundmann ve arkadaşları tekrarlayan iskemik inme olgularında asemptomatik bireylere göre aspirin direnci oranlarında anlamlı yükseklik saptamışlar ve mekanizmalar arasında, bu farklılığın akut dönem etkisi ile ortaya çıkabileceğini öne sürmüşlerdir (69). Bu sonuçlar doğrultusunda akut inmenin aspirin direnci gelişimi üzerinde etkisinin tartışmalı olduğu ve bu ilişkiyi ve altta yatan mekanizmaların ortaya konulmasında daha geniş hasta popülasyonlarında yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu söylenebilir.

Çalışmamızda ayrıca aspirine duyarlı olduğu saptanan hastalarda KZ takibi yapılarak zaman içindeki değişim gözlemlendi ve hastaların %14'ünün aspirine duyarlı durumdan aspirine dirençli duruma geçtiği saptandı. Literatürde de zaman içinde trombositlerde ilaca karşı duyarlılığın azalabileceği ifade edilmektedir (20).

Aspirinin etkisinin kişiler arası değişkenlik gösterdiğinin saptanması sonrasında üzerinde durulan bir diğer konu ise genetik farklılıklardır. Trombosit agregasyonunda önemli rol oynayan glikoproteinlerdeki genotipik farklılıklar ve bu farklılıkların aspirin direnci ve vasküler olay gelişimi üzerine etkileri araştırılmaktadır. En çok üstünde durulan polimorfizmlerden biri Gp IIb/IIIa reseptörünün IIIa alt birimindeki P1A1/A2 polimorfizmidir. GpIIb/IIIa reseptörü fibrinojen ve vWf için bağlantı bölgesi olarak görev yapmakta ve trombosit agregasyonunun son basamağında görev almaktadır. P1A2 allel taşıyıcılığının akut

koroner sendrom için risk faktörü olduğunu gösteren çalışmalar bulunmakla birlikte Ridker ve arkadaşlarının yaptığı geniş alan çalışmasında ise PIA2 allel taşıyıcılığının sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında miyokard infarktüsü, inme ve venöz tromboz için risk artışına neden olmadığı gösterilmiştir (31, 41, 70). Carter ve arkadaşları PIA2 varlığının kadınlarda genç iskemik inme riskini arttırdığını göstermişler, Wagner ve arkadaşları ise benzer ilişkiyi genç iskemik inme geçiren kadınlarda gösterememekle birlikte alt grup karşılaştırmalarında beyaz ırktaki kadınlarda ilişki olduğunu göstermişlerdir. (71, 72). Szolnoki ve arkadaşları ise inme alt tiplerinde yaptıkları çalışmada büyük damar patolojisi ile ilişkili inme hastalarında kontrol grubuna göre PIA2 allel frekansının iki kat fazla olduğunu göstermişlerdir (46). Oksala ve arkadaşları yakın zamanda yaptıkları bir çalışmada özellikle sigara kullanan kişilerde PIA2 allel varlığının laküner inme için bir risk faktörü olduğunu göstermişlerdir (50). Slowik ve arkadaşları inme alt tiplerini karşılaştırdıkları çalışmada özellikle büyük arter aterosklerozuna bağlı inme geçiren erkek hastalarda PIA2 allel taşıyıcılığının bağımsız bir risk faktörü olduğunu saptamışlardır (73). van Goor ve arkadaşları kriptojenik inme geçiren genç hastalarda PIA1A2 polimorfizmi ile ilişki gösterememişlerdir (74). Bizim çalışmamızda aterotrombotik inme geçiren 67 semptomatik hasta ile asemptomatik hasta grubundan vasküler olay hikayesi bulunmayan 111 kişide PIA2 allel taşıyıcılığı arasındaki ilişki incelendiğinde ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla %25,4-%17,1) ( $p=0,184$ ). Tartışmalı sonuçlar olmakla beraber saptanan artmış tromboz riskinin hangi mekanizmalar aracılığı ile olduğu kesin olarak ortaya konulamamıştır. Undas ve arkadaşları sağlıklı gönüllülerde yaptıkları çalışmada PIA2 allel varlığında trombin üretiminin arttığını ve bu durumun protrombotik bir süreç olduğunu göstermişler, aynı zamanda PIA2 allel varlığında aspirinin trombin üretimindeki azaltıcı etkisinin görülmediğini ifade etmişlerdir (33). Dropinski ve arkadaşlarının yakın dönemde yaptıkları çalışmada bu görüşü destekler bulgular saptanmıştır (75).Feng ve arkadaşları PIA2 allel varlığının epinefrin ve ADP ile uyarılan trombosit agregasyonunu arttırdığını göstermiştir (43). Çalışmaların çoğunda PIA2 allel varlığının etkisi vurgulanmakla beraber Macchi ve arkadaşları aspirin direnci saptanan hastalarda homozigot PIA1 genotipinin daha sık olduğunu ve bu genotipe sahip bireylerde düşük doz aspirinin inhibitör etkisine daha az duyarlılık

olduğu ifade edilmiştir (76). Gonzalez-Conejero ve arkadaşları sağlıklı bireylerde Gp IIIa PIA1A2 genotipi ile aspirin etkisi arasında anlamlı bir ilişki saptamamışlardır (17). Çalışmamızda popülasyonunun geneli ele alındığında aspirin direnci ile PIA2 allel taşıyıcılığı arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Aspirine direnç saptanan grupta %14,9, aspirine duyarlı grupta %21,3 oranında PIA2 allel varlığı gösterildi. Çalışmamızda ayrıca dozlara göre aspirin direnci oranları ile PIA2 allel varlığı arasındaki ilişki incelendi. 100 mg aspirin kullanan hastalarla 300 mg aspirin kullanan hastalar karşılaştırıldığında aspirin direnci oranları ile PIA2 allel taşıyıcılığı arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $p=0,878$ ). Bizim çalışmamızda da Macchi ve arkadaşlarının sonuçları ile uyumlu olarak doz artırımına rağmen aspirin direnci devam eden olgularda homozigot PIA1A1 genotipi daha yüksek oranlarda saptanmıştır.

Aspirin direncinin klinik sonuçları halen kesin olarak ortaya konulmamıştır. Hastalarda aspirin direnci saptanması halinde nasıl bir yol izleneceği tartışılmaktadır. Çalışmalar aspirin etkisinde kişiler arası değişkenlik olmakla birlikte doza bağlı olarak değişebileceğini işaret etmektedir. Bu durumda kişilerde aspirin etkinliği ölçülerek uygun dozun belirlenmesi ilacın antiagregan etkisinden daha fazla faydalanarak olası risklerin azaltılmasını sağlayabilir. Aspirin direncine neden olan mekanizmalar halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu mekanizmaların daha net olarak ortaya konması tedavi stratejilerinin belirlenmesinde yol gösterici olacaktır. Etkinlikte zaman içinde değişim olabilmektedir, bu nedenle hastaların aspirine direnç gelişimi açısından takip edilmesi gerekebilir. Bu değişimin klinik sonuçları ve aspirin etkisinin monitörizasyon gerekliliği bilinmemektedir. Aynı zamanda yapılan çalışmalarda aspirin etkisini belirlemede farklı yöntemler kullanılmış, bu yöntemlerin karşılaştırıldığı çalışmalarda ise aralarındaki korelasyonun zayıf olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar bu yöntemlerin geliştirilmesi ve standardize edilmesi gerekliliğini düşündürmektedir. Sonuç olarak aspirin direncinin saptanmasında kullanılacak yöntemler, bu durumun yaratacağı klinik sonuçlar ve altta yatan mekanizmaların kesin olarak ortaya konulması için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## 6. SONUÇLAR

Bizim çalışmamızda düşük dozlarda aspirin direnci oranlarının daha yüksek olduğu saptandı, aspirinin doza ve preparat özelliğine bağlı olarak etkinliğinin değişebileceği gösterildi. Hastalarda uygun doz ve preparatın belirlenmesinde trombosit fonksiyon testlerinin kullanımının fayda sağlayabileceği, farmakolojik olarak etkin olduğu gösterilen preparatın kullanımı ile hastaların aspirinin antitrombotik etkisinden fayda görme şansını arttırabileceğimizi düşünmekteyiz.

Aspirin etkisi hep aynı kalmamakta, zaman içinde değişim gösterebilmektedir. Bu durumun klinik sonuçları olabileceği öne sürülmektedir. Bizim çalışmamızda hastalarda aspirine duyarlı durumdan aspirine dirençli duruma geçiş olabildiği saptandı fakat çalışmamızın tasarımı nedeniyle saptanan bu durumun klinik sonuçlarını ortaya koymamız mümkün olmadı.

Çalışma olgularımızda Gp IIIa PLA1/A2 polimorfizmi ile aspirin direnci ve aterotrombotik inme riski arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır.

Sonuç olarak aspirin direncinin saptanmasında kullanılacak yöntemler, bu durumun yaratacağı klinik sonuçlar ve altta yatan mekanizmaların kesin olarak ortaya konulması için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Fitzgerald DJ. Vascular biology of thrombosis: the role of platelet-vessel wall adhesion. *Neurology*; 57: S1-4, 2001.
2. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*; 324: 71-86, 2002.
3. Alberts MJ, Bergman DL, Molner E, Jovanovic BD, Ushiwata I, Teruya J. Antiplatelet effect of aspirin in patients with cerebrovascular disease. *Stroke*; 35: 175-178, 2004.
4. Patrono C. Aspirin resistance: definition, mechanisms and clinical read-outs. *J Thromb Haemost*; 1: 1710-1713, 2003.
5. Pamukcu B. A review of aspirin resistance; definition, possible mechanisms, detection with platelet function tests, and its clinical outcomes. *J Thromb Thrombolysis*; 23: 213-222, 2007.
6. Miner J, Hoffhines A. The discovery of aspirin's antithrombotic effects. *Tex Heart Inst J*; 34: 179-186, 2007.
7. Awtry EH, Loscalzo J. Aspirin. *Circulation*; 101: 1206-1218, 2000.
8. Patrono C, Collier B, Dalen JE, FitzGerald GA, Fuster V, Gent M, Hirsh J, Roth G. Platelet-active drugs : the relationships among dose, effectiveness, and side effects. *Chest*; 119: 39S-63S, 2001.
9. Mason PJ, Freedman JE, Jacobs AK. Aspirin resistance: current concepts. *Rev Cardiovasc Med*; 5: 156-163, 2004.

10. Tran HA, Anand SS, Hankey GJ, Eikelboom JW. Aspirin resistance. *Thromb Res*; 120: 337-346, 2007.
11. Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, Gurm H, Welsh PA, Brooks L, Sapp SK, Topol EJ. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. *Am J Cardiol*; 88: 230-235, 2001.
12. Macchi L, Christiaens L, Brabant S, Sorel N, Allal J, Mauco G, Brizard A. Resistance to aspirin in vitro is associated with increased platelet sensitivity to adenosine diphosphate. *Thromb Res*; 107: 45-49, 2002.
13. Andersen K, Hurlen M, Arnesen H, Seljeflot I. Aspirin non-responsiveness as measured by PFA-100 in patients with coronary artery disease. *Thromb Res*; 108: 37-42, 2002.
14. Helgason CM, Bolin KM, Hoff JA, Winkler SR, Mangat A, Tortorice KL, Brace LD. Development of aspirin resistance in persons with previous ischemic stroke. *Stroke*; 25: 2331-2336, 1994.
15. Wang JC, Aucoin-Barry D, Manuelian D, Monbouquette R, Reisman M, Gray W, Block PC, Block EH, Ladenheim M, Simon DI. Incidence of aspirin nonresponsiveness using the Ultegra Rapid Platelet Function Assay-ASA. *Am J Cardiol*; 92: 1492-1494, 2003.
16. Schwartz KA, Schwartz DE, Ghosheh K, Reeves MJ, Barber K, DeFranco A. Compliance as a critical consideration in patients who appear to be resistant to aspirin after healing of myocardial infarction. *Am J Cardiol*; 95: 973-975, 2005.
17. Gonzalez-Conejero R, Rivera J, Corral J, Acuna C, Guerrero JA, Vicente V. Biological assessment of aspirin efficacy on healthy individuals: heterogeneous response or aspirin failure? *Stroke*; 36: 276-280, 2005.

18. Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B, Vyas SN, FitzGerald GA. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med*; 345: 1809-1817, 2001.
19. Kurth T, Glynn RJ, Walker AM, Chan KA, Buring JE, Hennekens CH, Gaziano JM. Inhibition of clinical benefits of aspirin on first myocardial infarction by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Circulation*; 108: 1191-1195, 2003.
20. Pulcinelli FM, Pignatelli P, Celestini A, Riondino S, Gazzaniga PP, Violi F. Inhibition of platelet aggregation by aspirin progressively decreases in long-term treated patients. *J Am Coll Cardiol*; 43: 979-984, 2004.
21. Malhotra S, Sharma YP, Grover A, Majumdar S, Hanif SM, Bhargava VK, Bhatnagar A, Pandhi P. Effect of different aspirin doses on platelet aggregation in patients with stable coronary artery disease. *Intern Med J*; 33: 350-354, 2003.
22. Christiaens L, Macchi L, Herpin D, Coisne D, Duplantier C, Allal J, Mauco G, Brizard A. Resistance to aspirin in vitro at rest and during exercise in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Thromb Res*; 108: 115-119, 2002.
23. Hurlen M, Seljeflot I, Arnesen H. Increased platelet aggregability during exercise in patients with previous myocardial infarction. Lack of inhibition by aspirin. *Thromb Res*; 99: 487-494, 2000.
24. Kawasaki T, Ozeki Y, Igawa T, Kambayashi J. Increased platelet sensitivity to collagen in individuals resistant to low-dose aspirin. *Stroke*; 31: 591-595, 2000.
25. 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*; 105: 1650-1655, 2002.

26. Bruno A, McConnell JP, Cohen SN, Tietjen GE, Wallis RA, Gorelick PB, Bang NU. Serial urinary 11-dehydrothromboxane B2, aspirin dose, and vascular events in blacks after recent cerebral infarction. *Stroke*; 35: 727-730, 2004.
27. Cipollone F, Ciabattini G, Patrignani P, Pasquale M, Di Gregorio D, Bucciarelli T, Davi G, Cuccurullo F, Patrono C. Oxidant stress and aspirin-insensitive thromboxane biosynthesis in severe unstable angina. *Circulation*; 102: 1007-1013, 2000.
28. Cheng G, Shan J, Xu G, Liu P, Zhou Y, Zhu Y, Lu X. Relationship between endothelial dysfunction, oxidant stress and aspirin resistance in patients with stable coronary heart disease. *J Clin Pharm Ther*; 32: 287-292, 2007.
29. Jefferson BK, Foster JH, McCarthy JJ, Ginsburg G, Parker A, Kottke-Marchant K, Topol EJ. Aspirin resistance and a single gene. *Am J Cardiol*; 95: 805-808, 2005.
30. Cambria-Kiely JA, Gandhi PJ. Aspirin resistance and genetic polymorphisms. *J Thromb Thrombolysis*; 14: 51-58, 2002.
31. Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, Schulman SP, Kickler TS, Becker LC, Weiss JL, Gerstenblith G, Goldschmidt-Clermont PJ. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med*; 334: 1090-1094, 1996.
32. Rozalski M, Boncler M, Luzak B, Watala C. Genetic factors underlying differential blood platelet sensitivity to inhibitors. *Pharmacol Rep*; 57: 1-13, 2005.
33. Undas A, Brummel K, Musial J, Mann KG, Szczeklik A. PI(A2) polymorphism of beta(3) integrins is associated with enhanced thrombin generation and impaired antithrombotic action of aspirin at the site of microvascular injury. *Circulation*; 104: 2666-2672, 2001.



34. Narvaez I, Sagastagoitia JD, Vacas M, Saez Y, Lafita M, Monica S, de Lafuente JP, Molinero E, Iriarte JA. Prevalence and biologic profile of aspirin resistance in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Thromb Res*, 2007.
35. Friend M, Vucenik I, Miller M. Research pointers: Platelet responsiveness to aspirin in patients with hyperlipidaemia. *BMJ*; 326: 82-83, 2003.
36. Szczeklik A, Musial J, Undas A. Reasons for resistance to aspirin in cardiovascular disease. *Circulation*; 106: e181-182; author reply e181-182, 2002.
37. Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haas NF, Taite BB, Szalony JA, Page JD, Feigen LP, Lansky DM, Salyers AK. Assessment of platelet function assays. *Am Heart J*; 135: S170-178, 1998.
38. Lordkipanidze M, Pharand C, Schampaert E, Turgeon J, Palisaitis DA, Diodati JG. A comparison of six major platelet function tests to determine the prevalence of aspirin resistance in patients with stable coronary artery disease. *Eur Heart J*; 28: 1702-1708, 2007.
39. Reiner AP, Siscovick DS, Rosendaal FR. Platelet glycoprotein gene polymorphisms and risk of thrombosis: facts and fancies. *Rev Clin Exp Hematol*; 5: 262-287; discussion 311-262, 2001.
40. Walter DH, Schachinger V, Elsner M, Dimmeler S, Zeiher AM. Platelet glycoprotein IIIa polymorphisms and risk of coronary stent thrombosis. *Lancet*; 350: 1217-1219, 1997.
41. Ridker PM, Hennekens CH, Schmitz C, Stampfer MJ, Lindpaintner K. PIA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis. *Lancet*; 349: 385-388, 1997.

42. Marian AJ, Brugada R, Kleiman NS. Platelet glycoprotein IIIa PLA polymorphism and myocardial infarction. *N Engl J Med*; 335: 1071-1072; author reply 1073-1074, 1996.
43. Feng D, Lindpaintner K, Larson MG, Rao VS, O'Donnell CJ, Lipinska I, Schmitz C, Sutherland PA, Silbershatz H, D'Agostino RB, Muller JE, Myers RH, Levy D, Tofler GH. Increased platelet aggregability associated with platelet GPIIIa PLA2 polymorphism: the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 19: 1142-1147, 1999.
44. Meisel C, Lopez JA, Stangl K. Role of platelet glycoprotein polymorphisms in cardiovascular diseases. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*; 369: 38-54, 2004.
45. Pamukcu B, Oflaz H, Nisanci Y. The role of platelet glycoprotein IIIa polymorphism in the high prevalence of in vitro aspirin resistance in patients with intracoronary stent restenosis. *Am Heart J*; 149: 675-680, 2005.
46. Szolnoki Z, Somogyvari F, Kondacs A, Szabo M, Bene J, Havasi V, Komlosi K, Melegh B. Increased prevalence of platelet glycoprotein IIb/IIIa PLA2 allele in ischaemic stroke associated with large vessel pathology. *Thromb Res*; 109: 265-269, 2003.
47. Chen CH, Lo YK, Ke D, Liu CK, Liou CW, Wu HL, Lai ML. Platelet glycoprotein Ia C807T, Ib C3550T, and IIIa PI(A1/A2) polymorphisms and ischemic stroke in young Taiwanese. *J Neurol Sci*; 227: 1-5, 2004.

48. Meiklejohn DJ, Vickers MA, Morrison ER, Dijkhuisen R, Moore I, Urbaniak SJ, Greaves M. In vivo platelet activation in atherothrombotic stroke is not determined by polymorphisms of human platelet glycoprotein IIIa or Ib. *Br J Haematol*; 112: 621-631, 2001.
49. Lanni F, Santulli G, Izzo R, Rubattu S, Zanda B, Volpe M, Iaccarino G, Trimarco B. The Pl(A1/A2) polymorphism of glycoprotein IIIa and cerebrovascular events in hypertension: increased risk of ischemic stroke in high-risk patients. *J Hypertens*; 25: 551-556, 2007.
50. Oksala NK, Heikkinen M, Mikkelsen J, Pohjasvaara T, Kaste M, Erkinjuntti T, Karhunen PJ. Smoking and the platelet fibrinogen receptor glycoprotein IIb/IIIa PlA1/A2 polymorphism interact in the risk of lacunar stroke and midterm survival. *Stroke*; 38: 50-55, 2007.
51. Ness J, Aronow WS. Prevalence of coexistence of coronary artery disease, ischemic stroke, and peripheral arterial disease in older persons, mean age 80 years, in an academic hospital-based geriatrics practice. *J Am Geriatr Soc*; 47: 1255-1256, 1999.
52. Wolf PA, D'Agostino RB, O'Neal MA, Sytkowski P, Kase CS, Belanger AJ, Kannel WB. Secular trends in stroke incidence and mortality. The Framingham Study. *Stroke*; 23: 1551-1555, 1992.
53. Giles WH, Kittner SJ, Hebel JR, Losonczy KG, Sherwin RW. Determinants of black-white differences in the risk of cerebral infarction. The National Health and Nutrition Examination Survey Epidemiologic Follow-up Study. *Arch Intern Med*; 155: 1319-1324, 1995.
54. Kiely DK, Wolf PA, Cupples LA, Beiser AS, Myers RH. Familial aggregation of stroke. The Framingham Study. *Stroke*; 24: 1366-1371, 1993.
55. Brass LM, Isaacsohn JL, Merikangas KR, Robinette CD. A study of twins and stroke. *Stroke*; 23: 221-223, 1992.

56. Neal B, MacMahon S, Chapman N. Effects of ACE inhibitors, calcium antagonists, and other blood-pressure-lowering drugs: results of prospectively designed overviews of randomised trials. Blood Pressure Lowering Treatment Trialists' Collaboration. *Lancet*; 356: 1955-1964, 2000.
57. Prevention of stroke by antihypertensive drug treatment in older persons with isolated systolic hypertension. Final results of the Systolic Hypertension in the Elderly Program (SHEP). SHEP Cooperative Research Group. *JAMA*; 265: 3255-3264, 1991.
58. Goldstein LB, Adams R, Alberts MJ, Appel LJ, Brass LM, Bushnell CD, Culebras A, Degraba TJ, Gorelick PB, Guyton JR, Hart RG, Howard G, Kelly-Hayes M, Nixon JV, Sacco RL. Primary prevention of ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council: cosponsored by the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary Working Group; Cardiovascular Nursing Council; Clinical Cardiology Council; Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Council; and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group: the American Academy of Neurology affirms the value of this guideline. *Stroke*; 37: 1583-1633, 2006.
59. Sacco RL, Wolf PA, Gorelick PB. Risk factors and their management for stroke prevention: outlook for 1999 and beyond. *Neurology*; 53: S15-24, 1999.
60. Frye RL, Kronmal R, Schaff HV, Myers WO, Gersh BJ. Stroke in coronary artery bypass graft surgery: an analysis of the CASS experience. The participants in the Coronary Artery Surgery Study. *Int J Cardiol*; 36: 213-221, 1992.
61. Sanossian N, Ovbiagele B. Multimodality stroke prevention. *Neurologist*; 12: 14-31, 2006.
62. Zeller JA, Frahm K, Baron R, Stingele R, Deuschl G. Platelet-leukocyte interaction and platelet activation in migraine: a link to ischemic stroke? *J Neurol Neurosurg Psychiatry*; 75: 984-987, 2004.

63. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*; 347: 1557-1565, 2002.
64. LaBiche R, Koziol D, Quinn TC, Gaydos C, Azhar S, Ketron G, Sood S, DeGraba TJ. Presence of *Chlamydia pneumoniae* in human symptomatic and asymptomatic carotid atherosclerotic plaque. *Stroke*; 32: 855-860, 2001.
65. Elkind MS, Lin IF, Grayston JT, Sacco RL. *Chlamydia pneumoniae* and the risk of first ischemic stroke : The Northern Manhattan Stroke Study. *Stroke*; 31: 1521-1525, 2000.
66. Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*; 41: 961-965, 2003.
67. Coma-Canella I, Velasco A, Castano S. Prevalence of aspirin resistance measured by PFA-100. *Int J Cardiol*; 101: 71-76, 2005.
68. Poulsen TS, Kristensen SR, Korsholm L, Haghfelt T, Jorgensen B, Licht PB, Mickley H. Variation and importance of aspirin resistance in patients with known cardiovascular disease. *Thromb Res*; 120: 477-484, 2007.
69. Grundmann K, Jaschonek K, Kleine B, Dichgans J, Topka H. Aspirin non-responder status in patients with recurrent cerebral ischemic attacks. *J Neurol*; 250: 63-66, 2003.
70. Burr D, Doss H, Cooke GE, Goldschmidt-Clermont PJ. A meta-analysis of studies on the association of the platelet P1A polymorphism of glycoprotein IIIa and risk of coronary heart disease. *Stat Med*; 22: 1741-1760, 2003.
71. Carter AM, Catto AJ, Bamford JM, Grant PJ. Platelet GP IIIa P1A and GP Ib variable number tandem repeat polymorphisms and markers of platelet activation in acute stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 18: 1124-1131, 1998.

72. Wagner KR, Giles WH, Johnson CJ, Ou CY, Bray PF, Goldschmidt-Clermont PJ, Croft JB, Brown VK, Stern BJ, Feeser BR, Buchholz DW, Earley CJ, Macko RF, McCarter RJ, Sloan MA, Stolley PD, Wityk RJ, Wozniak MA, Price TR, Kittner SJ. Platelet glycoprotein receptor IIIa polymorphism P1A2 and ischemic stroke risk: the Stroke Prevention in Young Women Study. *Stroke*; 29: 581-585, 1998.
73. Slowik A, Dziedzic T, Turaj W, Pera J, Glodzik-Sobanska L, Szermer P, Malecki MT, Figlewicz DA, Szczudlik A. A2 allele of GpIIIa gene is a risk factor for stroke caused by large-vessel disease in males. *Stroke*; 35: 1589-1593, 2004.
74. van Goor ML, Gomez Garcia E, Brouwers GJ, Leebeek FW, Koudstaal PJ, Dippel DW. PLA1/A2 polymorphism of the platelet glycoprotein receptor IIb/IIIa in young patients with cryptogenic TIA or ischemic stroke. *Thromb Res*; 108: 63-65, 2002.
75. Dropinski J, Musial J, Sanak M, Wegrzyn W, Nizankowski R, Szczeklik A. Antithrombotic effects of aspirin based on PLA1/A2 glycoprotein IIIa polymorphism in patients with coronary artery disease. *Thromb Res*; 119: 301-303, 2007.
76. Macchi L, Christiaens L, Brabant S, Sorel N, Ragot S, Allal J, Mauco G, Brizard A. Resistance in vitro to low-dose aspirin is associated with platelet P1A1 (GP IIIa) polymorphism but not with C807T(GP Ia/IIa) and C-5T Kozak (GP Ibalpha) polymorphisms. *J Am Coll Cardiol*; 42: 1115-1119, 2003.