

Inga Urtāne

ĢENĒTISKO FAKTORU IETEKME
UZ PAPILDU KLOPIDOGRELA DEVU
EFEKTIVITĀTI PERSONALIZĒTĀS TERAPIJAS
NODROŠINĀŠANAI PACIENTIEM
AR HIPORESPONSIVITĀTI

Promocijas darbs

farmācijas doktora zinātniskā grāda iegūšanai

Specialitāte – klīniskā farmācija

Darba zinātniskie vadītāji:

Dr. med. asociētais profesors **Gustavs Latkovskis**

Dr. pharm. docente **Aina Silvija Štokmane**



IEGULDĪJUMS TAVĀ NĀKOTNĒ



Promocijas darbs veikts ar ESF projekta “Atbalsts doktorantiem studiju programmas apguvei un zinātniskā grāda ieguvei Rīgas Stradiņa universitātē” un valsts pētījumu programmas Nr. 4 “Jaunu profilakses, ārstniecības, diagnostikas līdzekļu un metožu, biomedicīnas tehnoloģiju izstrāde sabiedrības veselības uzlabošanai” projekta Nr. 1 “Aterosklerozes patoģenēzes un klīnisko izpausmju, cilmes šūnu un biomateriālu pētniecība” atbalstu

Rīga, 2014

ANOTĀCIJA

Ievads. Samazināta reakcija uz klopidoģrelu (hiporesponsivitāte) saistīta ar kardiovaskulāro (KV) notikumu risku pacientiem pēc perkutānas koronāras intervences (PCI). Lai gan klopidoģrela hiporesponsivitāti ir mēģināts pārvarēt ar papildu piesātinošām devām (PD) un lielākām uzturošām devām (UD), vēl joprojām nav skaidra ģenētisko faktoru ietekme uz individuāli pielāgotu klopidoģrela devu terapijas efektivitāti. **Mērķis.** Analizēt *CYP2C19*, *CYP2C9* un *ABCB1* ģenētisko polimorfismu ietekmi uz klopidoģrela papildu PD (600 mg) un palielinātu UD (150 mg) efektu hiporesponsivitātes pārvarēšanai, kā arī noskaidrot augstāka PRI mērķa (<60%) drošumu ilgtermiņā 1 gada laikā. **Metodes.** Prospektīvā pētījumā tika iekļauti 118 pacienti ar zālēm pārklāta stenta (DES) implantāciju. Pacientiem tika noteikts trombocītu reaktivitātes indekss (PRI), izmantojot plūsmas citometriju ar vazodilatatorstimulējošā fosfoproteīna (VASP) metodi. Visiem pacientiem noteikti sekojoši ģenētiskie polimorfismi: *CYP2C19*, *CYP2C9* un *ABCB1*. Samazinātas klopidoģrela darbības gadījumā (PRI $\geq 60\%$) pacienti saņēma līdz 3 papildu 600 mg PD, atkārtoti pārbaudot PRI. Apsekošanas vizītes pēc 40 dienām tika veiktas visiem pacientiem, lietojot 75 mg UD un papildus pēc 10 dienām tiem, kuri lietoja 150 mg UD. Ilgtermiņa klīniskā apsekošana veikta visiem pacientiem. **Rezultāti.** Samazinātu klopidoģrela darbību pirmajā VASP analizē novēroja 68 pacientiem (72,3%). PRI bija augstāks pacientiem ar *CYP2C19**2 polimorfismu, salīdzinot ar biežāk sastopamo (*wild-type*) genotipu, attiecīgi $78,2 \pm 13,1$ un $65,3 \pm 19,5$; $p=0,005$. Pēc pirmās papildu 600 mg PD mazāks PRI samazinājums bija pacientiem ar *CYP2C19**2 polimorfismu ($25,5 \pm 15,6$ un $35,5 \pm 16,8$; $p=0,025$). Pacientiem ar *CYP2C19**2 bija augstāks PRI pie abām klopidoģrela UD: 10. dienā ar 150 mg (attiecīgi $53,3 \pm 12,1$ un $40,3 \pm 13,5$; $p=0,001$) un 40. dienā ar 75 mg ($65,5 \pm 10,4$ un $56,3 \pm 14,5$; $p=0,020$). Pārējiem polimorfismiem nozīmīgu saistību ar PRI neatrada. Pacientiem ar hiporesponsivitāti bija augstāks KMI ($32,8 \pm 3,9$ vs $29,6 \pm 4,9$; $p=0,007$), kā arī biežāk sastopama vienlaicīga PSI terapija (16 vs 7; $p=0,381$). **Secinājumi.** Pacientiem ar vismaz vienu *CYP2C19**2 alēli klopidoģrela standarta PD un papildu PD efektivitāte ir pazemināta. Šīs alēles nēsātājiem augstāka 150 mg klopidoģrela UD ir efektīvāka, bet joprojām nav pietiekama 29% gadījumu. Augstāks ķermeņa masas indekss (KMI) un protonu sūkņa inhibitoru (PSI) lietošana asociējas ar tendenci uz samazinātu klopidoģrela efektivitāti.

ANNOTATION

Introduction. Hyporesponsiveness to clopidogrel has been associated with increased risk of cardiovascular events for patients undergoing percutaneous coronary intervention (PCI). Low response to clopidogrel (hyporesponsiveness) may be overcome by additional loading doses (LD) and higher maintenance doses (MD). The influence of genetic polymorphisms on efficacy of personalized clopidogrel dosing remains unclear. **The aim of this study** was to investigate whether genetic polymorphisms of two cytochromes (*CYP2C19*, *CYP2C9*) and *ABCB1* modify effect of additional LDs (600 mg) and higher MD (150 mg) used to overcome hyporesponsiveness of clopidogrel and to evaluate long-term safety of higher platelet reactivity index (PRI) cutoff value of <60% during one year period after PCI. **Methods.** In a prospective single-center study we enrolled 118 patients undergoing PCI with drug-eluting stent (DES). PRI was measured using the Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein index (VASP). Genetic polymorphisms of *CYP2C19*, *CYP2C9* and *ABCB1* were determined. In patients hyporesponsive to the initial LD the dose-adjustment was performed using up to 3 additional 600 mg LDs in order to achieve PRI <60%, and both 150 mg and 75 mg MD were tested at the follow-up. Long-term clinical follow up was obtained in all patients. **Results.** Patients with at least one *CYP2C19**2 allele had higher baseline PRI after the initial LD (78.2 ± 13.1 vs 65.3 ± 19.5 , $p=0.005$). The PRI reduction with additional LD was significantly smaller in carriers of the *CYP2C19**2 (25.2 ± 15.6 vs 35.5 ± 16.8 , $p=0.025$) and similar trend was observed with additional LDs. Both MDs were less effective in presence of *CYP2C19**2: 53.3 ± 12.1 vs 40.3 ± 13.5 , respectively; $p=0.001$ on day 10 while on MD of 150 mg, and 65.5 ± 10.4 vs 56.3 ± 14.5 , respectively; $p=0.020$ on day 40 on MD of 75 mg. No such differences were observed for other polymorphisms. Low responders to clopidogrel had higher body mass index (BMI) (32.8 ± 3.9 vs 29.6 ± 4.9 ; $p=0.007$). More patients in hyporesponders group had concomitantly proton pump inhibitor (PPI) therapy compared to responders (16 vs 7; $p=0.381$). **Conclusions.** The patients carrying at least one loss-of-function *CYP2C19**2 allele have significantly higher PRI following an initial LD and additional LDs. In the presence of *CYP2C19**2 higher MD of clopidogrel (150 mg) was more effective but still remains insufficient in 29% of cases. Higher BMI and use of PPIs were associated with a trend to decreased efficiency of clopidogrel.

SATURS

Darbā lietotie saīsinājumi	6
Ievads	9
Darba hipotēzes.....	12
Darba mērķis.....	12
Darba uzdevumi	12
Darba zinātniskā novitāte.....	13
1. Literatūras apskats	14
1.1. Klopidoģrela raksturojums	14
1.2. Klopidoģrela neefektivitātes definēšana	16
1.3. Trombocītu funkciju testi	17
1.4. Klopidoģrela efektivitātes variabilitāti ietekmējošie faktori	22
1.4.1. Ģenētiskie faktori	22
1.4.2. Celulārie faktori.....	28
1.4.3. Klīniskie faktori	29
1.5. Pacientu uzraudzība ar samazinātu klopidoģrela atbildes reakciju	40
1.6. Jaunākie antiagreganti, to priekšrocības un trūkumi	41
2. Darba metodes	44
2.1. Pētījuma izpildīšanas vieta	44
2.2. Pētījuma dizains un kopējās pacientu grupas atlases principi	44
2.3. Datu iegūšanas metodes	45
2.3.1. Apkopotā informācija par fenotipu	45
2.3.2. Ģenētiskās analīzes	46
2.3.3. Klopidoģrela rezistences analīze.....	47
2.3.4. Datu statistiskās apstrādes metodes	54
3. Rezultāti	56
3.1. Pacientu vispārējs raksturojums	56
3.2. PRI variabilitāte pēc pirmās klopidoģrela PD	58
3.3. Klopidoģrela papildu PD efekts pacientiem ar $PRI1 \geq 60\%$	60
3.4. Rezistentu pacientu raksturojums	63
3.5. Pacientu kopas ģenētiskais raksturojums	63
3.6. PRI variabilitāte atkarībā no genotipa	64

3.6.1. PRI1 rezultāti atkarībā no <i>CYP2C19</i> , <i>CYP2C9</i> un <i>ABCB1</i> genotipiem.....	64
3.6.2. PRI2 rezultāti atkarībā no <i>CYP2C19</i> , <i>CYP2C9</i> un <i>ABCB1</i> genotipiem.....	68
3.6.3. PRI3 rezultāti atkarībā no <i>CYP2C19</i> , <i>CYP2C9</i> un <i>ABCB1</i> genotipiem.....	70
3.6.4. PRI4 rezultāti atkarībā no <i>CYP2C19</i> , <i>CYP2C9</i> un <i>ABCB1</i> genotipiem.....	72
3.6.5. 10. un 40. dienas apsekošanas vizītes PRI rezultāti atkarībā no <i>CYP2C19</i> , <i>CYP2C9</i> un <i>ABCB1</i> genotipiem	74
3.6.6. PD skaits atkarībā no <i>CYP2C19</i> , <i>CYP2C9</i> un <i>ABCB1</i> genotipiem	81
3.7. Prehospitalās farmakoterapijas un esošu slimību ietekme uz PRI	84
3.8. Vispārējo un anamnēzes datu salīdzinājums atkarībā no PRI1	86
3.8.1. KMI ietekme uz klopidoģrela papildu PD un augstāku UD efektivitāti.....	89
3.8.2. PSI ietekme uz klopidoģrela papildu PD un augstāku UD efektivitāti.....	95
3.9. Pacientu ilgtermiņa apsekošanas rezultāti	97
Diskusija	98
Praktiskais pielietojums	103
Secinājumi	104
Izmantotā literatūra	105
Publikācijas un ziņojumi par pētījuma tēmu	123
Pielikumi	128

DARBĀ LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

A2RB – angiotenzīna II receptoru blokatori

ABCB1 – TF saistītās kasetes apakšsaimes B 1. loceklis

ABLH – augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns

AC – adenilciklāze

ADF – adenoziņa difosfāts

AH – arteriāla hipertensija

AKEI – angiotenzīnu konvertējošā enzīma inhibitori

AKS – akūts koronārs sindroms

ALAT – alanīnaminotransferāze

ANOVA – variācijas analīze (*analysis of variance*)

APTL – aktivētais parciālais tromboplastīna laiks

ASAT – aspartāminotransferāze

ASV – Amerikas Savienotās Valstis

ATF – adenoziņa trifosfāts

BB – beta blokatori

BMC – Biomedicīnas pētījumu un studiju centrs

CABG – koronāro artēriju šuntēšana (*coronary artery bypass grafting*)

cAMF – cikliskais adenoziņa monofosfāts

CD – cukura diabēts

CI – cerebrāls infarkts jeb insults

CK-MB – kreatīnkināzes MB frakcija

CRO – C-reaktīvais olbaltums

CYP – citohroms

DAG – diacilglicerols

DAPT – duāla antiagregantu terapija (*dual antiplatelet therapy*)

DES – ar zālēm pārklāts stents (*drug eluting stent*)

DNS – dezoksiribonukleīnskābe

EDTA – etilēndiamīntetraacetāts (antikoagulants)

EF – izsviedes frakcija (*ejection fraction*)
FITC – fluorescēna izotiocianāts
FLC – fosfolipāze C
FUP – novērošana/apsekošana (*follow up*)
Gi – G inhibējošais proteīns
GP – glikoproteīns
Hb_{A1C} – glikētais hemoglobīns
HMG-CoA – 3-hidroksi-3-metilglutarilkoenzīms A
HNS – hroniska nieru slimība
HSM – hroniska sirds mazspēja
INR – starptautiska normalizēta protrombīna laika attiecība
IP3 – inozitiltrifosfāts
IVUS – intravaskulārā ultrasonoskopija
KH – kopējais holesterīns
KK – sirds kreisais kambaris
KKB – kalcija kanālu blokatori
KSS – koronārā sirds slimība
KV – kardiovaskulārs
ķMI – ķermeņa masas indekss
LKC – Latvijas Kardioloģijas centrs
LTA – gaismas transmisijas agregometrija
MDR1 – multizāļu rezistences proteīns 1
MEA – multielektrodu agregometrija
MFI – vidējā fluorescences intensitāte
MFIC – vidējā fluorescences intensitāte (*aprēķinos*)
MI – miokarda infarkts
MLKC-P – miozīnkināzes fosforilācija
MVA – daudzmainīgo analīze (*multivariate analysis*)
NPL – nesteroīdie pretiekaisuma līdzekļi
NSTEMI – miokarda infarkts bez ST segmenta elevācijām
NYHA – Ņujorkas sirds asociācija (*New York Heart Association*)
OPTIMUS – Optimizing Antiplatelet Therapy in Diabetes Mellitus
PCI – perkutāna koronāra intervence
PCR – polimerāžu ķēdes reakcija (*polymerase chain reaction*)

PD – piesātinošā deva
PE – fikoeritrīns
PGE1 – prostaglandīns E1
P-gp – P glikoproteīns
PI3K – fosfotidilinozitol-3-kināze
PIP2 – fosfotidilinozitolbifosfāts
PKA – proteīnkināze A
PKB – proteīnkināze B
PKC – proteīnkināze C
PON1 – paraoksonāze 1
PRI – trombocītu reaktivitātes indekss
PSI – protonu sūkņa inhibitori
PSKUS – Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca
SD – standartdeviācija
ST – stenta tromboze
STEMI – miokarda infarkts ar ST segmenta elevācijām
TF – audu faktors (*tissue factor*)
TG – triglicerīdi
TRAP – trombīna receptoru aktivējošais peptīds
UD – uzturošā deva
VASP – vazodilatatorstimulējošais fosfoproteīns
VASP-P – vazodilatatorstimulējošā fosfoproteīna fosforilācijas pakāpe
vs – salīdzinot ar; pret (latīņu val., *versus*)
wt – biežāk sastopamā neizmainītas funkcijas citohroma alēle (*wild-type*)
ZBLH – zema blīvuma lipoproteīnu holesterīns

IEVADS

Antiagregantu terapija ir viens no kardiovaskulārās medicīnas stūrakmeņiem. Duāla antiagregantu terapija (DAPT), ko veido aspirīns kopā ar P2Y₁₂ receptoru antagonistu klopidoģrelu, samazina aterotrombotisko komplikāciju risku pacientiem ar akūtu koronāru sindromu (AKS) un pēc perkutānas koronāras intervences (PCI) ar stenta implantāciju [King *et al.*, 2008, Wijns *et al.*, 2010]. DAPT tiek rekomendēta 12 mēnešus pēc AKS un plāna PCI gadījumā 6–12 mēnešus pēc ar zālēm pārklāta stenta (DES) implantācijas [Wijns *W.*, 2010]. Pēdējo gadu laikā DAPT shēmās tiek izmantoti arī jaunās paaudzes P2Y₁₂ receptoru antagonisti (prasugrels, tikagrelors), kuri salīdzinājumā ar klopidoģrelu nodrošina ātrāku, iedarbīgāku un drošāku P2Y₁₂ receptoru inhibīciju [Wijns *et al.*, 2010, Bonello *et al.*, 2010]. Lai gan pētījumi liecina par prasugrela un tikagrelora spēju biežāk samazināt kardiovaskulārās (KV) nāves, miokarda infarkta (MI) un cerebrāla infarkta (CI) risku pacientiem ar AKS, tomēr pastāvošās šīs terapijas nepilnības kā terapijas izmaksu pieaugums un pierādījumu trūkums pacientiem pēc plānveida PCI vēl joprojām aktualizē arī klopidoģrela izmantošanu [Wiviott *et al.*, 2007, Wallentin *et al.*, 2009]. Nav pierādīta prasugrela un tikagrelora efektivitāte pacientiem ar stabilu koronāro sirds slimību (KSS). Iepriekšminētās terapijas problēmas veicina personalizētas medicīnas meklējumus katram individuālam pacientam.

Farmakodinamiskā atbildes reakcija uz klopidoģrela terapiju variē starp pacientiem un bieži vien ar standarta devām neizdodas sasniegt vēlamo trombocītu inhibīcijas pakāpi. Tās novērtēšanai ir izstrādātas vairākas trombocītu funkciju analīzes metodes ar definētiem mērķiem, piemēram, gaismas transmisijas agregometrija (LTA) – maksimālā agregācija <46% pēc adenoīna difosfāta (ADF) pievienošanas, vazodilatatorstimulējošā fosfoproteīna (VASP) fosforilācijas noteikšana – trombocītu reaktivitātes indekss (PRI) <50%, *Verify Now* tests – mērķis <235 trombocītu reakcijas vienības [Alstrom *et al.*, 2009, Bouman *et al.*, 2009, Bonello *et al.*, 2010]. VASP testu kā analīzes metodi klīnisko pētījumu veikšanai pamato sekojošas priekšrocības: (i) analīzi neietekmē citi vienlaicīgi saņemtie medikamenti (piemēram, aspirīns, glikoproteīna (GP) IIb/IIIa receptoru inhibitori), (ii) nepieciešams mazs asiņu daudzums (4ml), (iii) analizējamo paraugu līdz analīzes veikšanai var uzglabāt neatvērtu istabas temperatūrā līdz 48 stundām [Bonello *et al.*, 2010].

Balstoties uz trombocītu efektivitātes funkcionālajiem testiem, hiporesponsivitāte pētījumos tiek aprakstīta līdz pat 50% gadījumu [Gurbel et al., 2003, O'Donoghue et al., 2006, Angiolillo et al., 2004, Bonello et al., 2010], savukārt klopidoģrela īsta rezistence sastopama daudz retāk no 2 līdz 11% gadījumu [Papathanasiou et al., 2007, Kim et al., 2009]. Gan veiktajos pētījumos, gan metaanalīzēs ir konstatēta samazinātas reakcijas uz klopidoģrelu saistība ar KV nāves, MI un stenta trombožu (ST) biežumu pacientiem pēc PCI [Brar et al., 2011, Aradi et al., 2010].

Ir vairāki mēģinājumi pārvarēt hiporesponsivitāti ar augstākām klopidoģrela piesātinošām devām (PD) vai lielākām uzturošām devām (UD) [Hazarbasanov et al., 2012, Price et al., 2011], tomēr publicētie dati ir pretrunīgi [Bonello et al., 2008, Cuisset et al., 2008, Bonello et al., 2009, Wang et al., 2011, Aradi et al., 2012].

Tā kā līdz šim nav viennozīmīga viedokļa par optimālu analīzes metodi trombocītu reaktivitātes mērīšanai, pastāv atšķirīgi viedokļi par testu mērķa robežām, izvērtējot klīnisko ieguvumu un risku [Gurbel et al., 2005, Kulickowski et al., 2009]. Lai gan pētījumos bieži novēro VASP PRI >50%, tomēr ST incidence vērtējama kā reta (<1% pirmā gada laikā pēc PCI ar stenta implantāciju) [Mallouk et al., 2012, Sudhir et al., 2013]. Līdz ar to rodas jautājums, vai PRI <50% nav pārāk konservatīvs mērķis un vai nepietiktu ar PRI <60%, lai atlasītu pacientus ar klīniski nozīmīgi augstāku ST un KV notikumu risku.

Citohroma (CYP) 2C19 un ATF saistītās kasetes apakšsaimes B 1. locekļa (ABCB1) gēnu variācijas tiek saistītas ar hiporesponsivitāti un KV notikumu biežumu pacientiem ar klopidoģrela terapiju [Simon et al., 2009, Wallentin et al., 2010]. Minēto gēnu polimorfismi ietekmē klopidoģrela kā prozāles metabolisma pakāpi, attiecīgi izmainot aktīvā metabolīta produkcijas apjomu un predisponējot pacientu uz sliktāku klīnisko iznākumu pēc PCI [Pettersen et al., 2011, Su et al., 2012]. Pētījumos konstatēts, ka *CYP2C19* otrās alēles (*CYP2C19*2*) klātbūtne samazina klopidoģrela farmakoloģisko atbildes reakciju pēc standarta devu saņemšanas, ietekmējot arī papildu devu efektivitāti [Mega et al., 2010, Bonello et al., 2012]. Savukārt *CYP2C19*17* alēles nēsāšana saistīta ar paaugstinātu asiņošanas risku [Sibbing et al., 2010].

Hiporesponsivitāte pētījumos tiek saistīta ne tikai ar ģenētisko, bet arī ar celulāro un klīnisko faktoru klātbūtni. Samazināta atbildes reakcija uz DAPT biežāk tiek novērota pacientiem ar cukura diabētu (CD) [Gurbel et al., 2007, Ferreira et al., 2010, Hall et al., 2011], palielinātu ķermeņa masas indeksu (KMI) [Feher et al., 2007,

Mallouk et al., 2012], ziņots arī par vienlaicīgi saņemto zāļu potenciālo ietekmi [*Gilard et al.*, 2008, *Harmsze et al.*, 2010, *Kwok et al.*, 2012].

Literatūrā ir mēģinājumi pārvarēt klopidoģrela hiporesponsivitāti, pielietojot modificētas klopidoģrela devas – atkārtotas 600 mg PD un lielākas 150 mg UD. Līdz šim ir maz pētījumu par *CYP2C19* un *ABCB1* ģēnu variāciju ietekmi uz šo dozēšanas stratēģiju. Nav skaidrs, vai klopidoģrela modificēto devu efektivitāte ir atkarīga no ģenētiskajiem faktoriem un vai tās pārvarēšanas stratēģija var atšķirties atkarībā no riska alēles veida. Tātad nav izstrādāta taktika hiporesponsivitātes pārvarēšanai šo polimorfismu alēļu klātbūtnē.

DARBA HIPOTĒZES

- Ģenētiskie un fenotipiskie faktori, kas veicina klopidoģrela hiporesponsivitāti, dažādi ietekmē klopidoģrela papildu PD un lielāku UD efektivitāti, tādēļ optimālākas DAPT stratēģija var atšķirties atkarībā no iespējamā hiporesponsivitātes vai rezistences mehānisma.
- Pacientiēm pēc PCI ar DES konservatīvāks PRI mērķis zem 60% ir tikpat drošs un efektīvs kā līdz šim pieņemtais mērķis zem 50%.

DARBA MĒRĶIS

Analizēt *CYP2C19*, *CYP2C9* un *ABCB1* ģenētisko polimorfismu ietekmi uz papildu klopidoģrela PD (600 mg) un palielinātu UD (150 mg) efektu hiporesponsivitātes pārvarēšanai, kā arī noskaidrot augstāka PRI mērķa (<60%) drošumu ilgtermiņā 1 gada laikā.

DARBA UZDEVUMI

1. Analizēt klopidoģrela standarta PD un papildu PD efektivitātes atšķirības polimorfismu ģenotipu grupās (*CYP2C19*, *CYP2C9*, *ABCB1*).
2. Analizēt klopidoģrela papildu PD stratēģijas kopējo efektivitāti.
3. Identificēt iespējamās pacientus ar īstu klopidoģrela rezistenci un noskaidrot, vai jaunākās paaudzes P2Y₁₂ receptoru inhibitori spēj pārvarēt hiporesponsivitāti šiem pacientiem.
4. Analizēt polimorfismu ietekmi uz palielinātu klopidoģrela uzturošo dienas devu efektivitāti, salīdzinot ar standarta UD.
5. Noskaidrot fenotipisko faktoru mijiedarbību ar klopidoģrela atkārtotām PD un lielāku UD.
6. Analizēt vienlaicīgi saņemtas citas medikamentozās terapijas ietekmi uz klopidoģrela standarta devu un modificēto devu iedarbību.
7. Noskaidrot PRI mērķa <60% stratēģijas efektivitāti un drošumu 1 gada laikā pēc PCI ar DES.

DARBA ZINĀTNISKĀ NOVITĀTE

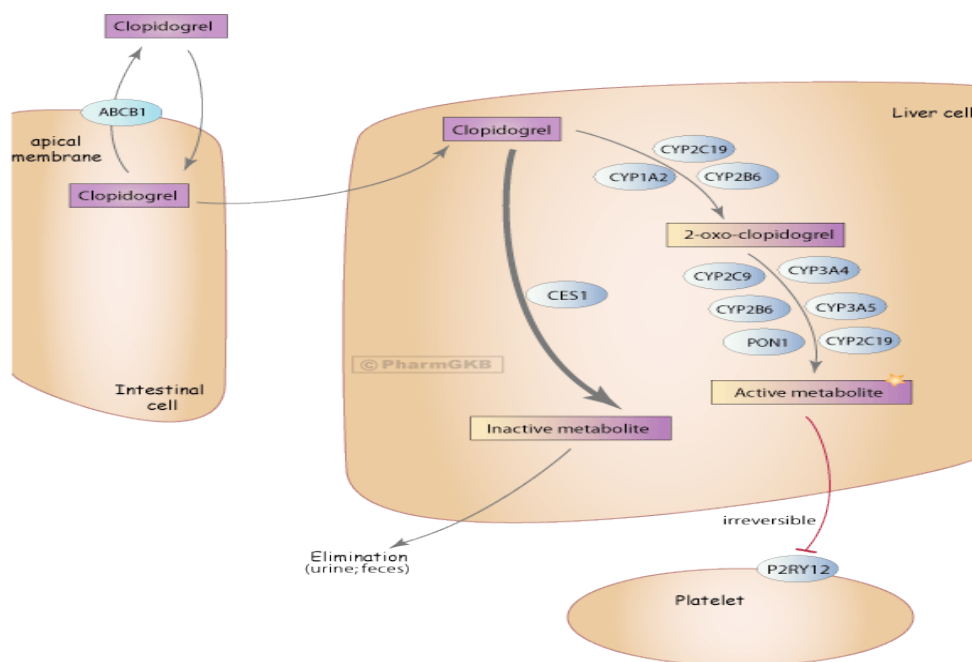
Klopidogrela hiporesponsivitātes iemeslu analīzei ir ļoti liela gan zinātniska, gan praktiska nozīme. Zinātniskajā telpā ir maz informācijas par konkrētu rīcību individuālam pacientam ar samazinātu atbildes reakciju uz klopidogrela terapiju, kā arī nav apskatīta papildu devu efektivitātes atkarība no genotipiem. Iepriekš veiktajos pētījumos papildu devu efektivitāte tika pārbaudīta akūtiem pacientiem pēc 600 mg klopidogrela PD saņemšanas, savukārt šajā pētījumā tika apzināta klopidogrela hiporesponsivitātes prevalence pacientiem arī pēc plāna PCI pēc 300 mg PD saņemšanas. Katram pacientam tika izstrādāta individuāla PD un UD korekcija. Vieniem un tiem pašiem pacientiem ar konstatētu klopidogrela hiporesponsivitāti tika pārbaudīta trombocītu reaktivitāte ar dažādām UD (150 mg un 75 mg). Tika analizēta ģenētisko faktoru ietekme uz papildu PD un dažādu UD efektu. Tika pārbaudīta arī PRI virs 60% drošība, atlasot pacientu grupu ar iespējams augstāku KV notikumu risku.

1. LITERATŪRAS APSKATS

1.1. Klopidoģrela raksturojums

Klopidoģrels ir tienopiridīnu grupas antiagregants (P2Y₁₂ receptoru antagonists), kas specifiski un neatgriezeniski saistās ar trombocītu P2Y₁₂ purīnerģiskiem receptoriem, inhibējot ADF piesaistīšanos [Celik *et al.*, 2009, Gurbel *et al.*, 2007].

Klopidoģrels ir pirmszāles, kura absorbcija notiek tievajās zarnās un aktivācija – aknās. Apmēram 85 līdz 90% no absorbētā klopidoģrela daudzuma ar karboksilāžu palīdzību tiek hidrolizēts par neaktīvu karboksilskābes metabolītu. Atlikušie 10 līdz 15% tiek metabolizēti ar aknu CYP450 izoenzīmiem par aktīvu metabolītu [Dansette *et al.*, 2012]. Kā redzams 1.1. attēlā, primāri tiofēna gredzens klopidoģrela ķīmiskajā struktūrā tiek oksidēts, veidojot 2-okso-klopidoģrelu, kas pēc tam tiek hidrolizēts par labīlāku aktīvo metabolītu, kas satur gan karboksilskābes, gan tiola grupas [Kazui *et al.*, 2010, Scott *et al.*, 2011]. Tieši tiola grupa ir tā, kas atbild par saistīšanos pie cisteīna grupas P2Y₁₂ receptoriem un par neatgriezenisku ADF blokādi. Konkrētu CYP450 enzīmu ietekmes pakāpe klopidoģrela biotransformācijas procesos ir atšķirīga. Mērot enzīmu kinētiskos paramaterus, pirmajā metabolisma solī lielāka ietekme novērota CYP2C19 (44,9%), mazāka CYP1A2 (35,8%) un CYP2B6 (19,4%) izoenzīmiem. Savukārt otrajā metabolisma solī CYP3A4 izoenzīms uzrāda pārliecinošāku ietekmi uz klopidoģrela biotransformāciju (39,8%), kas pamato tā inhibitoru ietekmi uz klopidoģrela farmakokinētiskiem un farmakodinamiskiem procesiem [Kazui *et al.*, 2010]. Neatgriezeniskas saistīšanās dēļ ietekme uz zāļu iedarbībai pakļautiem trombocītiem saglabājas visu to atlikušo dzīves laiku (apmēram 7–10 dienas), un tādējādi normāla trombocītu darbība atjaunojas atbilstoši trombocītu atjaunošanās ātrumam.



1.1. att. Klopidoģreļa metabolisms [Sanguhl *et al.*, 2011]

Analizējot klopidoģreļa darbības mehānismu (1.2. attēls), redzam, ka ADF piesaiste pie G_qP2X_1 receptora izraisa fosfolipāzes C (FLC) aktivāciju, kas veicina diacilglicerola (DAG) un inozitoltrifosfāta (IP3) veidošanos no fosfotidilinozitolbifosfāta (PIP2). DAG aktivē proteīnkināzi C (PKC), kas sekmē miozīnkināzes fosforilāciju (MLCK-P). IP3 izraisa intracelulārā kalcija mobilizāciju. $P2Y_1$ receptors ir saistīts arī ar otru G-proteīnu – G_{12} , kas aktivē proteīnus un visticamāk atbild par trombocītu formas maiņu. ADF saistīšanās pie G_iP2Y_{12} receptora atbrīvo G inhibējošā (G_i) proteīna α_1 un β_γ daļas, kas veicina trombocītu agregācijas stabilizāciju. α_1 izraisa adenilciklāzes (AC) inhibīciju, kas samazina cikliskā adenoģīna monofosfāta (cAMP) līmeni un tādējādi samazina arī tā izraisīto VASP fosforilāciju. VASP atbild par GP IIb/IIIa receptoru aktivāciju. β_γ aktivē fosfotidilinozitol-3-kināzi (PI3K), kas izraisa GP IIb/IIIa receptoru aktivāciju caur serīna-treonīna proteīnkināzi B (PKB). Prostaglandīns E_1 (PGE_1) aktivē AC, kas paaugstina cAMP līmeni un VASP pakāpi [Angiolillo *et al.*, 2007].

Laboratorijas apstākļos klopidoģrela hiporesponsivitātes un rezistences definīcija variē atkarībā no izmantotā testa esošās trombocītu reaktivitātes noteikšanai un izvēlētajā testa robežvērtībām.

1.3. Trombocītu funkciju testi

Individuālu pacienta atbildes reakciju uz klopidoģrela terapiju iespējams noteikt, mērot trombocītu agregāciju asins paraugā. Spēkā esošās 2011. gada Amerikas un Eiropas vadlīnijas ir piešķirušas IIb klases rekomendāciju trombocītu funkciju testiem vai ģenotipēšanai, ja ir iespējams terapijas rezultātu uzlabojums [Holmes et al., 2010].

Trombocītu reaktivitātes pārbaudi iespējams veikt ar vairākām metodēm, no kurām visbiežāk izmantotās ir LTA, VASP fosforilācijas noteikšana, agregometrija (piemēram, gaismas transmisijas, pretestības), *VerifyNow* tests.

Kā viena no pirmajām metodēm jāatzīmē LTA, kas pamatojas uz gaismas caurlaidības noteikšanu. Analīzes laikā asins plazmā tiek noteikta dažādu agonistu ietekme uz trombocītu aktivāciju (adhēziju, sekrēciju un agregāciju) *in vitro*. Metodes pamatprincips balstīts uz to, ka agonista ietekmē notiek trombocītu agregācija, samazinās absorbētās gaismas daudzums, pieaug gaismas caurlaidība, ko fiksē fotoelements. Optiskā blīvuma pieaugumu izskaidro ar trombocītu formas maiņu aktivācijas rezultātā. Pieejami seši agonisti, lai aktivētu trombocītus pa dažādiem aktivācijas ceļiem: arahidonskābe, kolagēns, ADF, epinefrīns, ristocetīns un trombīna receptoru aktivējošais peptīds (TRAP), kurus atkarībā no trombocītu aktivācijas izraisītiem efektiem iedala stiprajos (kolagēns un TRAP) – vienlaikus izraisa gan tiešu trombocītu agregāciju un tromboksāna A2 sintēzi, gan trombocītu granulu sekrēciju un vāajos agonistos – neizraisa trombocītu granulu sekrēciju [Breet et al., 2010]. Šo metodi var izmantot dažādu grupu antiagregantu analīzē, katram izvēloties atbilstošu agonistu, piemēram, aspirīna terapijas efektivitātes analīzei tiek lietota arahidonskābe, P2Y₁₂ receptoru antagonistiem – ADF, GP IIb/IIIa receptoru inhibitoriem – TRAP. Pastāvošie LTA izmantošanas ierobežojumi ir standartizācijas, sensitivitātes, jutības trūkums, darbietilpīga un laikietilpīga analizējamo paraugu sagatavošana [Breet et al., 2010, Braunwald et al., 2008, Cattaneo, 2009].

Lumiagregometrija ir nedaudz jaunākas paaudzes metode, kas mēra trombocītu agregāciju, izmantojot elektriskās vai optiskās pretestības pamatprincipus un vienlaikus nosakot arī adenoīna trifosfāta (ATF) atbrīvošanos ar luminiscences metodi. Kā agonistus biežāk izmanto trombīnu, kolagēnu un arahidonskābi. Metodes priekšrocība ir

nepieciešamība pēc maza (3 ml) pilnu asiņu parauga, līdz ar to šo metodi var lietot arī pediatrijā [Cattaneo, 2009, Braunwald et al., 2008].

Plateletworks metodes darbības gaitā tiek izmantots šūnu skaitītājs, nosakot trombocītu skaita atšķirību asins paraugā pirms un pēc agonista pievienošanas, pēc noteiktas formulas aprēķinot trombocītu agregāciju vai inhibīciju procentuālā izteiksmē. *Plateletworks* ir salīdzinoši vienkārša metode un ir ātri veicama (rezultāts 5 minūšu laikā). Metodes trūkumi – nepieciešamas svaigas asinis (bez anti-koagulanta klātbūtnes), kuras jāanalizē 10 minūšu laikā pēc parauga paņemšanas, kā arī rezultāts ir tieši atkarīgs no precīza trombocītu skaita noteikšanas. Šo analīzes metodi lieto dažādu antiagregantu (aspirīna, P2Y₁₂ receptoru antagonistu, GP IIb/IIIa inhibitoru) analīzei, izmantojot atbilstošus trombocītu aktivācijas agonistus. P2Y₁₂ receptoru antagonistu efektivitātes precīzu analīzi ar šo metodi traucē tās rezultāta atkarība no vienlaicīgas aspirīna lietošanas [Braunwald et al., 2008, Breet et al., 2010, Williams et al., 2009].

Trombocītu funkciju analizators PFA-100 ir ātrs un precīzs trombocītu funkciju skrīninga tests, ar ko ir iespējams mērīt trombocītu adhēziju un agregāciju (primāro hemostāzi). Svarīgākie izmantošanas virzieni klīniskā praksē ir trombocītu disfunkcijas diagnostika un pacientu atbildes reakcijas uz aspirīnu noteikšana [Braunwald et al., 2008]. Analīzes laikā tiek izmantotas mazas membrānas, kas ir pārklātas ar kolagēnu / epinefrīnu vai ar kolagēnu / ADF. Antikoagulēts (ar citrātu) pilnu asiņu paraugs šķērso šīs membrānas ar ātrumu, kas ir identisks *in vivo* hemodinamikai mazajos kapilāros. Trombocīti pielīp pie membrānām, pakāpeniski nosprostojošot šauro atvērumu katras membrānas centrā. Tiek mērīts laiks (sekundēs) līdz pilnīgai asins plūsmas pārtraukšanai. Iemesls divu membrānu izmantošanai ir atšķirības starp medikamentu izraisītiem un citiem trombocītu defektiem. Kolagēna / epinefrīna membrāna, salīdzinot ar kolagēna / ADF membrānu, ir jutīgāka uz visiem trombocītu funkciju traucējumiem, ieskaitot arī aspirīna izraisītu trombocītu disfunkciju [Breet et al., 2010]. No šī testa priekšrocībām var minēt analīzes ātro un vienkāršo gaitu ar nepieciešamiem maziem pilnu asiņu paraugiem, kā arī nav nepieciešama iepriekšēja speciāla sagatave. No trūkumiem jāatzīmē metodes atkarība no fon Villebranda faktora, trombocītu skaita un hematokrīta līmeņa. Šo testu nevar izmantot P2Y₁₂ receptoru antagonistu efektivitātes analīzei [Breet et al., 2010, Chang et al., 2009, Hayward et al., 2006].

Multielektrodu agregometrija (MEA) balstās uz divkārtu pretestības agregometrijas mērīšanu ar *Multiplate* analizatoru pilnu asiņu paraugā pēc trombocītu stimulācijas ar ADF atsevišķi vai kopā ar PGE1. No metodes priekšrocībām jāmin

analīzes veikšanas ātrums (vidēji 10 minūtes), mazs nepieciešamais parauga tilpums (0,3 ml), datorkontrolēta elektroniskā reaģentu pievienošana, aspirīna (agonists – arahidonskābe), P2Y₁₂ receptoru antagonistu (agonists – ADF) un citu antiagregantu analīzes augstā jutība (piemēram, analizējot GP IIb/IIIa inhibitorus, kā agonistu biežāk izmantojot TRAP), kā arī spēja identificēt trombocītu samazinātas vai pastiprinātas agregācijas spējas [Morris *et al.*, 2009, Williams *et al.*, 2009].

VerifyNow ir viens no visbiežāk izmantotajiem trombocītu funkcionālajiem testiem pēdējo gadu pētījumos. To var skaidrot ar šīs metodes vienkāršību, tā ir ātri izpildāma (rezultāts 5 minūšu laikā) un neprasa padziļinātu personāla apmācību, kā arī nav nepieciešama asins parauga sagatavošana. Šī metode balstās uz optiskās agregometrijas principiem. Metodes pamatā ir trombocītu funkciju analīze pilnu asiņu paraugā, nosakot gaismas caurlaidības ātruma un pakāpes maiņu trombocītu agregācijas rezultātā. Šīs pārmaiņas attīstās kā atbildes reakcija uz specifisku agonistu pievienošanu (arahidonskābe – aspirīna terapijas analīzei, ADF – P2Y₁₂ receptoru antagonistu, TRAP – GP IIb/IIIa inhibitoru terapijas analīzei). Asins paraugā ar samazinātu trombocītu agregācijas spēju konstatē zemu gaismas caurlaidību, savukārt asins paraugos ar normālām trombocītu funkcijām – augstu gaismas caurlaidības pakāpi. To var izmantot dažādu grupu antiagregantu terapijas analīzei. *VerifyNow* metodei ir būtisks trūkums, kas liedz ar to adekvāti izvērtēt klopidoģrela un aspirīna terapijas efektu pacientiem, kuri pēdējo 48 stundu laikā saņēmuši GP IIb/IIIa receptoru antagonistus (piemēram, tirofībāns, eptifibatīds) vai pēdējo 14 dienu laikā – abciksimabu. Tā kā fibrinogēna saistīšanās pie GP IIb/IIIa receptoriem ir pēdējais agregācijas posms, šo receptoru antagonistu klātbūtne var izraisīt mijiedarbību ar klopidoģrela un aspirīna analīzei paredzēto analīzes reaģentu sastāvu [Williams *et al.*, 2009, Morris *et al.*, 2009, Breet *et al.*, 2010].

Plūsmas citometrija ir specifiska trombocītu funkciju analīzes metode P2Y₁₂ receptora antagonistu – t. s. tienopiridīnu grupas antiagregantu – efektivitātes izvērtēšanai. Šī metode mēra fizikālas vai ķīmiskas pazīmes, kas raksturīgas šūnām un notiek brīdī, kad lineāra šūnu plūsma šķērso lāzergaismas staru kūli. Būtībā tiek skenēta katra šūna, kas plūst garām analizatoriem. Metode piedāvā arī šūnu šķirošanu, izmantojot elektriskās vai mehāniskās vērtības, lai šūnas sakopotu izvēlēta darbības lauka robežās. Līdz ar to plūsmas citometriju bieži izmanto individuālu šūnu raksturošanai un atdalīšanai. Metode balstās uz gaismas izkliedes un fluorescences intensitātes noteikšanu fluorescējošām iezīmētām antivielām vai ligandiem, kas specifiski saistās pie šūnas molekulām, mērot redzamu un fluorescējošu gaismas emisiju. Minētā metode ļauj veikt ātru, kvantitatīvu multiparametru analīzi.

Viena no plūsmas citometrijas metodēm ir VASP fosforilācijas mērīšana, kas atspoguļo intracelulārā signāla maiņu. Tā raksturo trombocītu aktivācijas specifisku ceļu caur P2Y₁₂ receptoriem, kurus inhibē klopidoģrels un citi P2Y₁₂ receptora antagonisti, līdz ar to iespējams analizēt specifisku trombocītu agregāciju [Kuliczkowski *et al.*, 2009]. No priekšrocībām jāmin mazs parauga tilpums un iespēja analīzei izmantot pilnu asiņu paraugu. Būtiskākie trūkumi ir laiktelpīga parauga sagatavošana un nepieciešamība padziļināti apmācīt personālu [Oestreich *et al.*, 2009].

Ar plūsmas citometriju trombocītu virsmas marķeros var noteikt izmaiņas, kas atkarīgas no aktivācijas. Pie šādām metodēm pieder trombocītu virsmas P-selektīna, aktivēto GP IIb/IIIa un leukocītu un trombocītu agregācijas mērīšana. Kā priekšrocības var minēt analīzēm nepieciešamus mazus parauga tilpumus, analizējot pilnas asinis; būtiskākie trūkumi – sarežģīts parauga sagatavošanas process, nepieciešams apmācīts personāls, ierobežota izmantošana citu grupu antiagregantu terapijas efektivitātes izvērtēšanā [Oestreich *et al.*, 2009].

Biežāk izmantoto testu raksturojums un izmantošanas iespēju apkopojums 1.1. tabulā.

1.1.tabula

Trombocītu funkciju analīzei izmantojamo testu raksturojums

[Braunwald *et al.*, 2008, von Beckerath *et al.*, 2009, Morris *et al.*, 2009]

Tests	Priekšrocības	Trūkumi	Izmantošanas iespējas medikamentu analīzē		
			Aspirīns	P2Y ₁₂ receptoru antagonisti	GP IIb/IIIa inhibitori
Gaismas transmisijas agregometrija	Izmanto pilnu asiņu paraugu.	Nepieciešams liels parauga tilpums, laiktelpīga parauga sagatavošana.	Jā	Jā	Nē

Tests	Priekšrocības	Trūkumi	Izmantošanas iespējas medikamentu analīzē		
			Aspirīns	P2Y ₁₂ receptoru antagonisti	GP IIb/IIIa inhibitori
Pretestības agregometrija Lumiagregometrija	Izmanto pilnu asiņu paraugu.	Lielas izmaksas, nepieciešams liels parauga tilpums, laikietilpīga parauga sagatavošana.	Jā	Jā	Jā
<i>VerifyNow</i>	Izmanto pilnu asiņu paraugu, vienkāršs, ātrs, mazs parauga tilpums, nav vajadzīga parauga sagatavošana, automātiska parauga analīze.	Nav iespējama instrumentāla pielāgošana.	Jā	Jā	Jā
PFA-100	Vienkāršs, nepieciešams pilnu asiņu paraugs, ātrs, nav nepieciešama parauga sagatavošana.	Rezultāts atkarīgs no von Willebranda faktora un hematokrīta līmeņa.	Jā	Nav ieteicams/ zināms	Nav ieteicams/ zināms
Plūsmas citometrija Trombocītu virsmas P-selektīna, aktivētā GP IIb/IIIa, leukocītu – trombocītu agregātu noteikšana. VASP fosforilācijas analīze.	Izmanto pilnu asiņu paraugu; Nepieciešams mazs parauga tilpums.	Nepieciešama parauga sagatavošana; Vajadzīgs plūsmas citometrs un apmācīts personāls analīzes veikšanai.	Jā	Jā	Jā
			Nē	Jā	Nē

Tests	Priekšrocības	Trūkumi	Izmantošanas iespējas medikamentu analīzē		
			Aspirīns	P2Y ₁₂ receptoru antagonisti	GP IIb/IIIa inhibitori
Multielektrodu agregometrija (MEA)	Izmanto pilnu asiņu paraugu, vienkāršs, ātrs, nav nepieciešama parauga sagatavošana.	Manuāla pipetēšana un reaģentu sagatavošana, kam ir īss izmantošanas laiks.	Jā	Jā	Jā
Tromboelastogramma	Izmanto pilnu asiņu paraugu, mazs parauga tilpums, nav nepieciešama parauga sagatavošana.	Informācijas trūkums sakarā ar ierobežotu izmantošanu.	Jā	Jā	Jā
Impact-R	Izmanto pilnu asiņu paraugu, mazs parauga tilpums, nav nepieciešama parauga sagatavošana.	Informācijas trūkums sakarā ar ierobežotu izmantošanu.	Jā	Jā	Nav ieteicams/ zināms

1.4. Klopidoģrela efektivitātes variabilitāti ietekmējošie faktori

1.4.1. Ģenētiskie faktori

Pēdējo gadu zinātniskos pētījumos aprakstīta ģenētisko faktoru saistība ar novēroto atbildes reakcijas variabilitāti uz klopidogrela terapiju. Tiek ziņots par kandidātgēnu ietekmi gan uz klopidogrela metabolismu aknās, gan uz sagaidāmo efektivitāti. Bieži ziņojumos tiek analizēti *CYP450* izoenzīmu [Shuldiner et al., 2009, Simon et al., 2009], kā arī ar ATF saistītās kasetes apakšsaimes B 1. locekļa (*ABCB1* (*ATP-binding cassette sub-family B member 1*), pazīstams arī kā *MDR1* – multizāļu rezistences proteīns 1 (*Multidrug resistance protein 1*) kodējošā gēna polimorfismi [Wallentin et al., 2010, Su et al., 2012]. Pacientiem, kuri saņem klopidogrela terapiju pēc AKS un / vai stenta implantācijas, ar jebkuru *CYP2C19* izoenzīma samazinātas

funkcijas alēli (*2, *3, *4, *5, *6, *7 un *8) ir novērots paaugstināts risks išēmisko notikumu un ST attīstībai [Mega et al., 2009, Shuldiner et al., 2009, Hulot et al., 2010], savukārt šī izoenzīma pastiprinātas funkcijas alēles (*17) nēsātājiem pieaug asiņošanas attīstības iespēja [Sibbing et al., 2010]. Polimorfismi gēnos, kas atbild par klopidoģrela absorbciju un izvadīšanu no organisma, piemēram, gēnā, kas kodē P-glikoproteīna (P-gp) *MDR1* transportieri, var ietekmēt nelabvēlīgo KV notikumu skaitu klopidoģrela terapijas laikā [Simon et al., 2009].

CYP450 enzīmu polimorfismi

Klopidoģrelam kā pirmszālēm nepieciešama absorbcija tievajās zarnās un biotransformācija par aktīvo metabolītu ar *CYP450* enzīmiem [Dansette et al., 2012]. Daudzos pētījumos samazinātas funkcijas ģenētiskais variants *CYP2C19* gēnā, kas atrodas 10. hromosomā, saistās ar zemāku aktīvā metabolīta līmeni, samazinātu trombocītu inhibīciju un augstāku risku KV notikumu attīstībai klopidoģrela terapijas laikā [Shuldiner et al., 2009, Giusti et al., 2009]. Balstoties uz ģenētisko polimorfismu starp biežāk sastopamiem *CYP2C19* genotipiem (*CYP2C19**2 un *CYP2C19**3), tiek izdalīti trīs fenotipi: vājš, vidējais un normālais metabolizētājs. Šo genotipu samazinātas funkcijas alēļu prevalence starp dažādām etniskām grupām apkopota 1.2. tabulā.

1.2. tabula

CYP450 samazinātas funkcijas alēļu prevalence etnisko grupu ietvaros

[Beitelshees et al., 2011]

Rase	*2 alēles frekvence	*3 alēles frekvence	Vidējie metabolizētāji (%)	Vājie metabolizētāji (%)
Eiropieši	0,14	0,00	24	2
Aziāti	0,27	0,09	46	10
Afrikāņi	0,14	0,00	24	2
Afrikāņu izcelsmes amerikāņi	0,18	0,008	30	3,5

Vidējie metabolizētāji – *1/*2 un *1/*3, vājie metabolizētāji – *2/*2, *3/*3 un *2/*3.

Tā kā *CYP2C19**2 alēle sastopama biežāk nekā *CYP2C19**3, līdz ar to arī pieejami plašāki pētījumu dati par šīs alēles saistību ar samazinātu klopidoģrela efektivitāti, līdz ar to palielinātu MI un ST attīstības risku [Momary et al., 2010]. Divās meta analīzēs pacientiem ar *CYP2C19**2 novēroja augstāku KV notikumu risku,

salīdzinot ar *1/*1 genotipu [Mega et al., 2010, Sofi et al., 2010]. Mega et al. pētījumā no 162 veselīgiem brīvprātīgiem, kuri saņēma klopidoģrela terapiju, apmēram 30% bija vismaz vienas samazinātās funkcijas alēles nēsātāji, kuriem novēroja klopidoģrela aktīvā metabolīta redukciju plazmā par 32,4%, salīdzinot ar pacientiem bez samazinātās funkcijas alēlēm [Mega et al., 2009]. Arī TRITON-TIMI 38 (*Prasugrel Compared with Clopidogrel in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention for ST-Elevation Myocardial Infarction*) pētījumā iekļautiem pacientiem nelabvēlīgie klīniskie iznākumi (KV nāve, MI, CI) biežāk tika novēroti tiem, kuri bija *CYP2C19**2 alēles nēsātāji [Wiviott et al., 2008].

Arī Shuldiner et al. pētījumā, kur tika analizēta *CYP2C19**2 genotipa ietekme uz trombocītu funkciju un ilgtermiņa KV notikumiem pacientiem pēc PCI, pacientiem ar *CYP2C19**2 genotipu biežāk novēroja samazinātu atbildes reakciju uz klopidoģrela terapiju. Pacientiem ar šī genotipa samazinātās funkcijas alēli viena gada novērojumā biežāk tika reģistrēti išēmiski notikumi un nāves gadījumi (HR 2,42; 95% CI, 1,18–4,99; $p=0,02$) [Shuldiner et al., 2009].

Jāpiebilst, ka divos lielos retrospektīvos pētījumos kā CURE (*Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events*) [Pare et al., 2010] un PLATO (*Platelet Inhibition and Patient Outcomes*) [Wallentin et al., 2010] šī asociācija starp *CYP2C19* genotipu un KV notikumiem netika novērota.

Simon et al. pētījumā novēroja, ka jebkuru divu *CYP2C19* samazinātās funkcijas alēļu (*2, *3, *4 vai *5) nēsātājiem ir augstāks KV notikumu risks [Simon et al., 2009].

ELEVATE-TIMI 56 (*Escalating Clopidogrel by Involving a Genetic Strategy – Thrombolysis in MI 56*) multicentru, randomizētā, dubultklā pētījumā analizēja, vai palielināta klopidoģrela UD (līdz 300 mg / dienā) spēj izmainīt trombocītu reaktivitāti pacientiem ar *CYP2C19**2 samazinātās funkcijas alēli, nosakot atšķirību starp heterozigotiem, kas sastāda apmēram 25–45% no populācijas atkarībā no rases, un homozigotiem. Tika izvirzītas hipotēzes, ka palielinot UD pacientiem ar *CYP2C19**2 attiecīgi samazināsies trombocītu reaktivitāte un ka augstāka UD šiem pacientiem būs tikpat efektīva kā klopidoģrela standarta UD (75 mg / dienā) pacientiem bez šīs alēles. Pētījumā konstatēja, ka gan heterozigotiem, gan homozigotiem ar šo samazinātās funkcijas alēli (*CYP2C19**2) bija paaugstināta trombocītu reaktivitāte, ko nenovēroja pacientiem bez šīs alēles, attiecīgi vidējais VASP PRI bija 70,0% un 86,6% pret 57,5%, $p<0.001$ (skat. 1.3. tabulu). Uzturošās devas pieaugums par katriem 75 mg samazināja PRI vidēji par 8–9% no absolūtās vērtības.

Trombocītu reaktivitāte atkarībā no genotipa un klopidoģrela uzturošās devas[Mega *et al.*, 2011]

Genotips	75 mg	150 mg	225 mg	300 mg	p
<i>CYP2C19</i> *1/*1	57,5	46,9	—	—	<0,001
<i>CYP2C19</i> *1/*2	70,0	61,4	52,7	48,9	<0,001
<i>CYP2C19</i> *2/*2	86,6	77,8	73,0	68,3	0,003

Paaugstinātas UD starp heterozigotiem samazināja pacientu skaitu, kuriem sākumā šī terapija nebija pietiekami efektīva. Bet pacientiem ar *CYP2C19**2/*2 (homozigotiem) arī ar 300 mg / dienā UD vidējais VASP PRI saglabājās 68,3% [Mega *et al.*, 2011].

Citā pētījumā, salīdzinot palielinātas UD (150 mg / dienā) efektivitāti pacientiem ar *CYP2C19**2 un bez tās, novēroja, ka šī uzturošā deva bija efektīva tikai 28% pacientu ar samazinātas funkcijas alēli, salīdzinot ar pacientiem bez šīs alēles, kam šī stratēģija pierādīja efektivitāti 50% gadījumu. Pētījuma rezultāti liecināja, ka samazinātas funkcijas alēles nēsātājiem iespējams vajadzētu izvēlēties citu P2Y₁₂ receptoru antagonistu terapiju [Cuisset *et al.*, 2011]. Pretēji Simon *et al.* veiktajā pētījumā iegūtie rezultāti norādīja, ka klopidoģrela hiporesponsivitāti pacientiem ar vismaz vienu *CYP2C19* samazinātas funkcijas alēli tomēr izdodas pārvarēt, izmantojot lielāku PD (600 mg) un lielāku UD (150 mg / dienā) [Simon *et al.*, 2011].

Brandt *et al.* veiktā pētījuma dati apliecina arī *CYP2C9* izoenzīma asociāciju ar klopidoģrela aktīvā metabolīta koncentrāciju [Brandt *et al.*, 2007]. *CYP2C9**2 un *3 samazinātas funkcijas alēļu nēsātājiem novērota pazemināta antiagregantu efektivitāte [Cavallari *et al.*, 2011]. Pretrunīga informācija sastopama arī par *CYP3A4* ietekmi uz klopidoģrela metabolismu [Polena *et al.*, 2008].

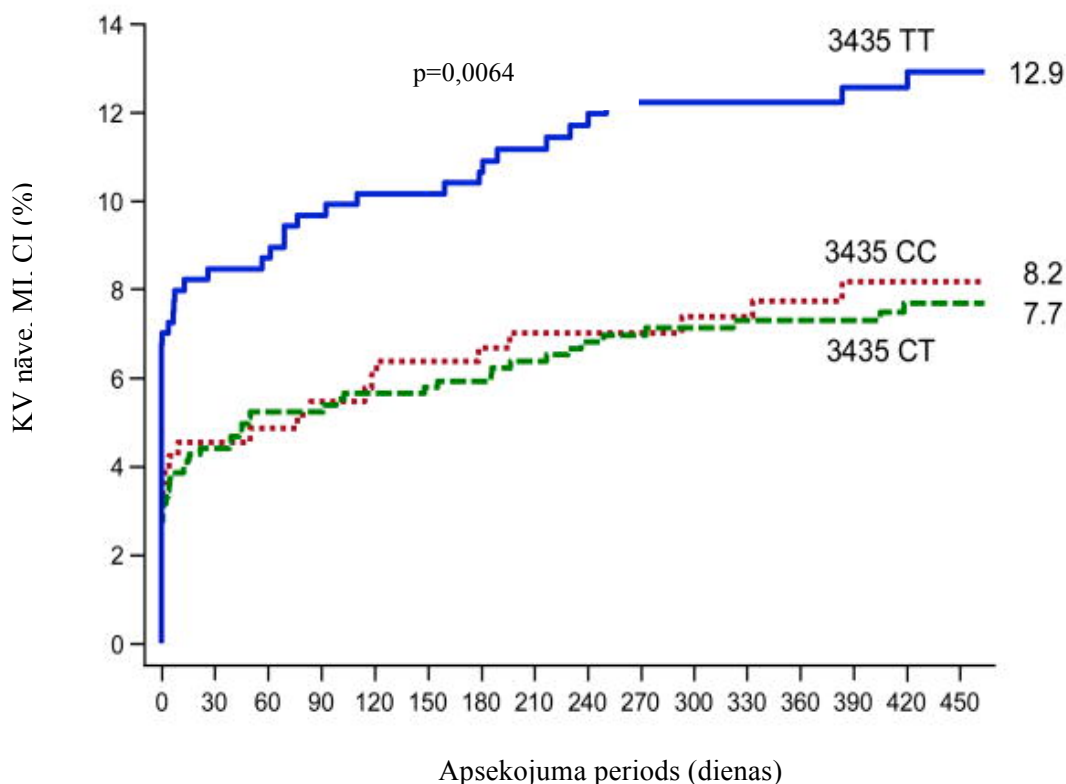
*CYP2C19**17 alēles variants saistīts ar palielinātu funkcionālo aktivitāti, kas paātrina *CYP2C19* substrātu metabolismu, tādējādi nodrošinot augstāku klopidoģrela koncentrāciju un lielāku trombocītu inhibīciju. Sibbig *et al.* veiktajā pētījumā, analizējot 1524 pacientus pēc PCI, kas pirms procedūras bija saņēmuši klopidoģrela 600 mg PD, konstatēja atšķirīgu risku pacientiem ar *CYP2C19**17 alēles variantiem. *CYP2C19**17 alēles nēsātājiem, īpaši homozigotiem, konstatēja statistiski ticamu saistību ar trombocītu agregācijas samazinājumu ($p < 0,001$), kas liecina par palielinātu atbildes

reakciju uz klopidoģrela terapiju, kā arī paaugstinātu asiņošanas risku ($p=0,006$) [Sibbing *et al.*, 2010]. Bet ņemot vērā to, ka klopidoģrela efektivitāti ietekmē arī fenotipiskie un celulārie faktori, joprojām nav viennozīmīga viedokļa par ģenētisko testu veikšanas lietderību ikdienas praksē [Goswami *et al.*, 2012].

Pārējo klopidoģrela metabolismā iesaistīto CYP450 izoenzīmu (CYP1A2, CYP2B6, CYP3A5) ietekmei nav novērota asociācija ar klīniski apstiprinātu risku nelabvēlīgu KV notikumu attīstībai [Kirchheiner *et al.*, 2005, Brandt *et al.*, 2007, Ancrenaz *et al.*, 2010, Mega *et al.*, 2009].

MDR1 (ABCB1) gēna polimorfismi

Viens no citiem proteīniem, kas iesaistīts tienopiridīnu grupas zāļu līdzekļu absorbcijā, ir P-gp, kuru kodē ABCB1 gēns (pazīstams arī kā MDR1), kas atrodas 7. hromosomā. P-gp ir ATF atkarīgs transporta sūknis daudzu vielu molekulām starp ekstra- un intracelulārām membrānām. Daļa no P-gp izvietota arī tievo zarnu epitēlijšūnās, kur palielināta šī transportproteīna ekspresija vai funkcija veicina zāļu, kas ir kā substrāti, biopieejamību. Pētījumos iegūtie dati liecina, ka klopidoģrela terapijas laikā ABCB1 TT homozigotiem novēro zemāku klopidoģrela aktīvā metabolīta koncentrāciju, līdz ar to augstāku risku nelabvēlīgo klīnisko iznākumu attīstībai [Simon *et al.*, 2009, Taubert *et al.*, 2006]. Arī TRITON-TIMI 38 pētījumā TT ģenētiskais variants uzrādīja asociāciju ar augstāku KV notikumu risku, salīdzinot ar CC homozigotiem (skat. 1.3. attēlu) [Mega *et al.*, 2010]. Tomēr citos lielos pētījumos (piemēram, PLATO) dati par šī genotipa asociāciju bija pretrunīgi [Wallentin *et al.*, 2010].



1.3.att. ABCB1 polimorfisma ietekme uz KV notikumu attīstību

[Jessica L. Mega, 2010]

Paraoksonāzes (*PON*) 1 polimorfisms

Šī enzīma polimorfismi arī raksturojas ar pretrunīgu informāciju. Bieži vien šī enzīma ietekme tiek saistīta ar vienlaicīgu *CYP2C19* samazinātas funkcijas alēļu klātbūtni [Nishio *et al.*, 2013], bet atsevišķi šī enzīma polimorfismi neietekmē klopidoģrela farmakokinētiskos un farmakodinamiskos parametrus [Braun *et al.*, 2013]. Gan GIFT (*Genotype Information and Functional Testing Study*), gan GRAVITAS (*Gauging Responsiveness with A VerifyNow assay – Impact on Thrombosis And Safety*) pētījumos netika novērota *PON1* polimorfisma ietekme arī uz paaugstinātu klopidoģrela UD pacientiem pēc PCI [Price *et al.*, 2011, Price *et al.*, 2012].

GPIIIa (*PIA1/PIA2*) polimorfisms

Dažos mazos pētījumos ziņots par klopidoģrela antiagregatīvā efekta samazinājumu saistībā ar GPIIIa *PIA2* alēli. Pētījumā tika konstatēts, ka 600 mg klopidoģrela PD biežāk nenodrošina nepieciešamo trombocītu inhibīcijas pakāpi šī polimorfisma pacientiem ar stabilu koronāro artēriju slimību, kuriem paredzēta plāna PCI. Pacientiem *PIA2* nēsātājiem bija novērota tendence uz samazinātu atbildes reakciju uz klopidoģrela terapiju ($PRI > 50\%$), salīdzinot ar *PIA1/PIA1* genotipu (54 vs 24%, $p=0,082$) [Motovska et al., 2009]. Lai gan iepriekš šis polimorfisms biežāk tika minēts kā aspirīna rezistences cēlonis, nesen publicētā meta-analīze neapstiprināja asociāciju starp *PIA2* alēli un klopidoģrela rezistenci [Floyd et al., 2013].

P2RY₁₂ receptora polimorfismi

Šis G1 receptors ar ekstracelulāri novietoto cisteīnu ir atbildīgs par trombocītu agregācijas pilnīgu izpildi kā atbildes reakciju uz ADF, kam seko citu signālmolekulu aktivācija, piemēram, cAMF, VASP defosforilācija. Farmakoloģiskie pētījumi liecina par šī receptora lomu arī fibrinogēna receptoru aktivācijā, P-selektīna ekspresijā un trombu veidošanas procesā. P2Y₁₂ nozīmīgi pastiprina fakts, ka tas ir tienopiridīnu grupas zāļu līdzekļu darbības mērķis [Wang et al., 2006]. Nesen veiktajā pētījumā P2Y₁₂ gēna viena nukleotīda polimorfisms (18C>T) uzrādīja ietekmi uz klopidoģrela terapijas farmakoloģisko atbildes reakciju, respektīvi, vairāk pacientu ar šo polimorfismu bija grupā ar hiporesponsivitāti [Galic et al., 2013]. Tomēr vēl joprojām ir nepieciešami lielāki prospektīvi klīniski pētījumi šī polimorfisma ietekmes apstiprināšanai.

1.4.2. Celulārie faktori

Klopidoģrela darbības pamatā ir neatgriezenisks antagonisms ar trombocītu P2RY₁₂ ADF receptoriem. Klopidoģrela rezistences gadījumā pieaug trombocītu atbildes reakcijas variabilitāte uz ADF. Michelson et al. pētījumā tika izvirzīta hipotēze, ka klopidoģrela rezistences fenomenu izraisa jau pirms klopidoģrela terapijas uzsākšanas pastāvošā trombocītu atbildes reakcija uz ADF, kura nepieaug klopidoģrela terapijas laikā. Pētījumā iegūtie rezultāti mudina domāt, ka dažiem pacientiem klopidoģrela rezistence var būt saistīta ar jau iepriekš novērotas trombocītu atbildes reakcijas uz ADF variabilitāti un nav vērojamas būtiskas izmaiņas pēc klopidoģrela

lietošanas uzsākšanas [Michelson *et al.*, 2007]. Hronisks iekaisums var izraisīt endotēlija bojājumu, veicinot fizioloģisko antikoagulantu, antiagregantu un vazodilatatoro īpašību zudumu. Līdz ar to samazināta atbildes reakcija uz klopidoģrela terapiju iespējama pacientiem ar iekaisuma slimībām (piemēram, reimatoīdo artrītu), kas var veicināt antiagreganta rezistenci [Aksu *et al.*, 2012, Bonello *et al.*, 2010].

1.4.3. Klīniskie faktori

Kā trešā grupa ar ietekmi uz klopidoģrela terapiju ir pacienta demogrāfiskie un klīniskie faktori, piemēram, vecums (>55 gadiem), smēķēšana [Gremmel *et al.*, 2009], palielināts KMI [Bonello-Palot *et al.*, 2009], CD [Ang *et al.*, 2008, Ferreiro *et al.*, 2010], AKS, arteriāla hipertensija (AH), hiperholesterinēmija, glikozes, kreatinīna līmenis asinīs, trombocītu skaits [Gurbel *et al.*, 2007]. Arī vienlaicīgi lietoto zāļu (piemēram, protonu sūkņa inhibitori (PSI), statīni) mijiedarbība [Bates *et al.*, 2011, Cuisset *et al.*, 2009] ar klopidoģrelu var samazināt antiagreganta izraisīto efektu. Pie šīs grupas pieder arī ar pacientu vistiešāk saistītais koriģējamais faktors – pacienta līdzestība [Angiolillo *et al.*, 2007].

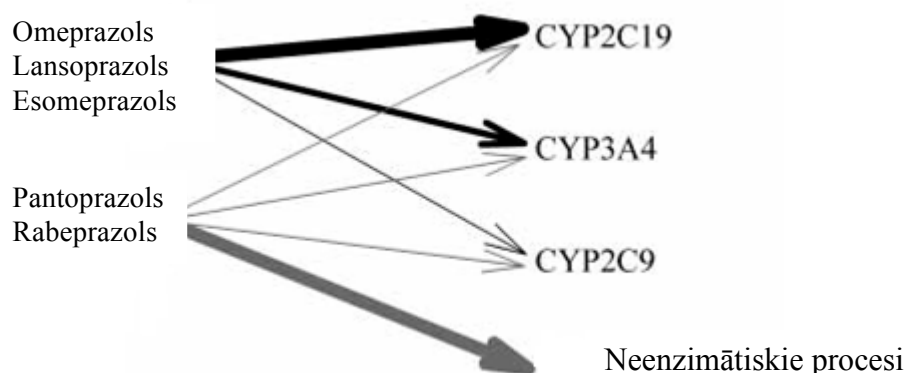
Zāļu mijiedarbība

Tā kā aktīvo metabolītu veido CYP450 izoenzīmi, no kuriem daži ir polimorfiski vai tos inhibē citas zāles, ne visiem pacientiem tiek panākta atbilstoša trombocītu inhibīcija. Ņemot vērā to, ka kopā ar antiagregantu terapiju tiek nozīmētas arī citas zāles, piemēram, holesterīna un glikozes līmeni pazeminošie līdzekļi, antihipertensīvie līdzekļi ar mērķi samazināt KV risku, pieaug zāļu mijiedarbības iespēja. Mijiedarbību var novērot, sākot ar divu vienlaicīgu zāļu lietošanu, kurām raksturīgs metabolisms aknās [Bates *et al.*, 2011].

Klopidoģrela aktīvā metabolīta izveidē oksidatīvās biotransformācijas ceļā, kurš ir CYP atkarīgs, vislielākā loma raksturīga CYP2C19 izoenzīmiem, mazāka ietekme ir arī CYP3A4/5, CYP2B6, CYP1A2, CYP2C9 [Hochholzer *et al.*, 2010, Mega *et al.*, 2009].

Protonu sūkņa inhibitori (PSI)

PSI tiek rekomendēti kā gastroprotektori pacientiem ar duālu antiagregantu terapiju. *CYP2C19*, *CYP3A4* un *CYP2C9* izoenzīmi ir iesaistīti gan PSI, gan klopidoģrela metabolismā [Kwok *et al.*, 2012]. Šo izoenzīmu loma PSI grupas zāļu metabolismā variē starp dažādiem grupas pārstāvjiem (skat.1.4. attēlu). Visbiežāk pētījumos tiek analizēta *CYP2C19* izoenzīma ietekme uz klopidoģrela metabolismu, kas piedalās omeprazola, lansoprazola un esomeprazola metabolismā [Shi *et al.*, 2008].



1.4.att. Protonu sūkņa inhibitoru aknu metabolisms caur *CYP450* enzīmu sistēmu

[Fernando *et al.*, 2011]

Vēl joprojām dati par šo medikamentu mijiedarbību ir pretrunīgi, tomēr pētījumi biežāk apstiprina omeprazola ietekmi uz klopidoģrela efektivitātes samazinājumu [Farid *et al.*, 2010].

Dubultklā placebo–kontrolētā pētījumā 124 pacientiem pēc PCI ar DAPT (aspirīns 75 mg / dienā un klopidoģrels – PD, turpinot UD 75 mg / dienā) tika randomizēti divās grupās – attiecīgi viena grupa saņēma omeprazolu (20 mg / dienā) un otra – placebo. PRI tika noteikts, mērot VASP fosforilāciju pirmajā un septītajā dienā pēc terapijas uzsākšanas. Septītajā dienā vidējais PRI placebo grupā bija statistiski ticami zemāks – 39,8% (SD 15,4), salīdzinot ar omeprazola grupu – 51,4% (SD 16,4) ($p<0,0001$). Iegūtie rezultāti norāda uz omeprazola spēju statistiski ticami samazināt klopidoģrela inhibējošo efektu uz trombocītu P2Y₁₂ receptoriem [Gilard *et al.*, 2008].

Šķērsgriezuma pētījumā, kurā tika iekļauti 1000 pacienti ar klopidoģrela terapiju, trombocītu agregācija tika mērīta ar MEA metodi. No iekļautajiem pacientiem 268 (26,8%) saņēma PSI terapiju, attiecīgi pantoprazolu – 162, omeprazolu – 64, esomeprazolu – 42 pacienti. Trombocītu agregācija bija statistiski ticami augstāka omeprazola lietotāju grupā, salīdzinot ar pacientiem, kuri nesaņēma PSI, respektīvi, 295,5 AU*min un 220 AU*min, $p=0,001$. Starp pārējiem PSI grupas pārstāvjiem šāda veida atšķirība netika novērota [Sibbing *et al.*, 2009].

Neskatoties uz to, ka esomeprazols ir omeprazola strukturālais izomērs, tas lielākā pakāpē tiek metabolizēts caur *CYP3A4*. Tomēr esomeprazolu lietojot ilgstoši, inhibējošais efekts vairāk būs vērsts uz *CYP2C19* izoenzīmu. Lai gan pantoprazols arī tiek metabolizēts caur *CYP2C19* un *CYP3A4*, tomēr tā zemās afinitātes dēļ mijiedarbība ir mazāk raksturīga nekā citiem PSI grupas pārstāvjiem [Fernando *et al.*, 2011]. Konkurence par metabolismu caur *CYP2C19* izoenzīmu tiek izvirzīta kā mijiedarbības teorētiskais mehānisms, kura rezultātā iespējama klopidoģrela kā antiagreganta samazināta efektivitāte vienlaicīgas PSI terapijas laikā, īpaši lietojot omeprazolu, esomeprazolu un lansoprazolu [Blume *et al.*, 2006].

Sastopami ziņojumi arī par samazinātu atbildes reakciju uz klopidoģrelu vienlaicīgas lansoprazola terapijas laikā [Small *et al.*, 2008]. Vairāki bioķīmiskie pētījumi liecina par drošāku citu PSI grupas pārstāvju nevis omeprazola izvēli DAPT laikā, lai novērstu farmakokinētiskas un farmakodinamiskas mijiedarbības iespēju [Serebruany *et al.*, 2009].

Ir izvirzītas teorijas, kā farmakodinamiski varētu mazināt šo mijiedarbības iespēju, un tā rezultātā kā risinājums dažos pētījumos tika piedāvāts palielināt klopidoģrela uzturošo devu (150 mg / dienā) vai ievērot lietošanas režīmu (klopidoģrelu un PSI lietot atsevišķi ar 8 līdz 12 stundu intervālu). Prospektīvā, randomizētā pētījumā, kurā tika iekļauti 20 veseli brīvprātīgie, tika izveidotas divas grupas – viena grupa saņēma omeprazolu devā 40 mg / dienā vienlaicīgi ar klopidoģrelu, otra grupa – zāles lietoja ar 12 stundu intervālu. Mērot VASP fosforilācijas pakāpi pēc vienas nedēļas, nenovēroja PRI statistiski ticamu atšķirību starp abām grupām, attiecīgi 56,1% un 61,6%, $p=0,08$ [Ferreiro *et al.*, 2010].

Četros randomizētos, ar placebo kontrolētos pētījumos, kuros piedalījās 282 veseli brīvprātīgie, tika pārbaudīts, vai mijiedarbības iespēja nemazinās, ievērojot šādus zāļu lietošanas režīmus: pirmā pētījuma dalībnieku grupa saņēma klopidoģrelu (300 mg PD, 75 mg UD) un omeprazolu (80 mg / dienā) vienlaicīgi, otra grupa saņēma šo pašu

terapiju, bet ar 12 stundu intervālu, trešajai grupai tika nozīmētas palielinātas klopidoģrela devas (600 mg PD un 150 mg UD) un ceturtā grupā iekļautie pētījuma dalībnieki omeprazola vietā saņēma pantoprazolu (80 mg / dienā). Mērot trombocītu agregāciju, netika novērotas statistiski ticamas atšķirības starp pirmajām trīs grupām, kas līdz ar to nepierāda laika intervālu lietderību vienlaicīgas terapijas laikā. Tika secināts, ka mijiedarbība pastāv starp klopidoģrelu un omeprazolu, bet nevis starp klopidoģrelu un pantoprazolu [Angiolillo et al., 2011].

Tiek ziņots arī par PSI devas ietekmi uz iespējamo mijiedarbību ar klopidoģrelu. *Gilard et al.* pētījumā iegūtie dati liecina, ka PSI devā 80 mg / dienā izraisa augstāku trombocītu reaktivitāti klopidoģrela lietošanas laikā nekā mazākas devas (40 mg / dienā vai 20 mg / dienā) [Gilard et al., 2008]. Citā pētījumā, salīdzinot divu PSI (omeprazola un pantoprazola) ietekmi uz klopidoģrela terapiju, tika iekļauti 104 pacienti pēc PCI. Randomizācija divās grupās tika veikta, balstoties uz PSI, respektīvi, viena grupa saņēma omeprazolu, otra grupa – pantoprazolu devā 20 mg / dienā, abas grupas saņēma DAPT – klopidoģrels 150 mg / dienā un aspirīns 75 mg / dienā. Nosakot PRI ar VASP fosforilācijas metodi pacientiem pēc viena mēneša, pantoprazola lietotāju grupā konstatēja labāku atbildes reakciju uz klopidoģrela terapiju nekā omeprazola grupā ($36\pm 20\%$ pret $48\pm 17\%$, $p=0,007$). Omeprazola lietotāju grupā bija vairāk pacientu ar novērotu klopidoģrela samazinātu efektivitāti, salīdzinot ar pantoprazola grupu (44% pret 23% , $p=0,04$) [Cuisset et al., 2009]. Līdzīgi rezultāti novēroti arī citos pētījumos, iesakot labāk izvēlēties pantoprazola terapiju vai esomeprazola vietā lietot ranitidīnu, lai izvairītos no samazinātas klopidoģrela efektivitātes [Angiolillo et al., 2011].

Zinātniskā literatūrā sastopams viedoklis arī par citu iespēju mijiedarbības mazināšanai, attiecīgi palielinot klopidoģrela UD pacientiem, kuri vienlaicīgi saņem PSI terapiju. *Moceri et al.* pētījuma rezultāti apliecina pārliecinošu palielinātas klopidoģrela UD efektivitāti esomeprazola terapijas laikā, samazinot pacientu skaitu ar novērotu hiporesponsivitāti [Moceri et al., 2011].

Debates par PSI iespējamo negatīvo ietekmi uz klopidoģrela terapijas efektivitāti vēl joprojām turpinās [Cialdella et al., 2013]. Pagājušā gadā publicētais zinātniskais pārskats, iekļaujot 4693 pacientus no 19 pētījumiem, apstiprina datus par biežāk sastopamu omeprazola mijiedarbību ar klopidoģrelu. Tā kā zinātniskie pētījumi par šīs mijiedarbības patieso ietekmi un nozīmību vēl turpinās, tad šobrīd izvēle tiek atstāta ārsta ziņā, lai izvērtētu gastrointestinālo risku kuņģa čūlas un gastrointestinālas asiņošanas attīstībai antiagregantu terapijas laikā [Kwok et al., 2012]. Pastāv arī

viedoklis, ka PSI (īpaši omeprazola un esomeprazola) terapija varētu būt kā marķieris, bet ne kā cēlonis KV notikumu attīstībai [Goodman et al., 2012]. Pastāvot norādēm uz atsevišķu PSI, piemēram, omeprazola un esomeprazola, nelabvēlīgu ietekmi uz klopidoģrela efektivitāti *CYP2C19* inhibīcijas dēļ, vēlams ievērot piesardzību, izvēloties PSI pacientam, kurš saņem klopidoģrelu. Zinātniskie pierādījumi par ietekmi uz klīnisko iznākumu ir pretrunīgi.

Statīni

Statīnu darbības mehānisms saistās ar 3-hidroksi-3-metilglutarilkoenzīma A (HMG-CoA) reduktāzes inhibīciju, veicinot samazinātu holesterīna sintēzi aknās. *CYP3A4* piedalās lipofīlo statīnu (lovastatīns, simvastatīns un atorvastatīns) eliminācijā, savukārt hidrofilo statīnu (fluvastatīns, pravastatīns un rosuvastatīns) metabolismā tam nav tik svarīga loma [Zahno et al., 2010]. Atorvastatīns ir visbiežāk lietotais statīns holesterīna līmeņa redukcijai pacientiem ar KSS, un tā aknu metabolisms var palielināt mijiedarbības iespēju vienlaicīgi lietoto zāļu gadījumā. Atorvastatīna kalcija sāls organismā tiek pārvērsta par skābes un laktona metabolītiem. Lai gan tieši skābes forma inhibē HMG-CoA reduktāzi, vissvarīgākais eliminācijas process raksturīgs laktona formai, kas ļoti cieši piesaistās pie *CYP3A4* izoenzīma, salīdzinot ar citām konkurējošām zālēm, piemēram, ciklosporīnu, eritromicīnu, amiodaronu, verapamilu, fluoksetīnu, kā arī ar greifrūtu sulu [Lewis, 2010]. Atorvastatīnam kā *CYP3A4* inhibitoram *ex vivo* ir novērota devas atkarīga ietekme uz klopidoģrela metabolismu [Bates et al., 2011, Lau et al., 2003], bet debates par šīs mijiedarbības efektu *in vivo* joprojām turpinās [Suh et al., 2013]. Lai gan rosuvastatīna metabolismā iesaistīts cits izoenzīms – *CYP2C9* [White, 2002], kura dēļ sagaidāma mazāka ietekme uz klopidoģrela efektivitāti, tomēr jaunākie pētījumi aktualizē arī šo mijiedarbības iespēju [Poyet et al., 2010, Malmstrom et al., 2009].

SPICE (*Evaluation of the Influence of Statins and Proton Pump Inhibitors on Clopidogrel Antiplatelet Effects*) pētījumā neatrada atšķirību starp atorvastatīna un rosuvastatīna ietekmi uz klopidoģrela antiagregatīvo efektu. Šajā pētījumā tika iekļauti 350 pacienti pēc PCI ar klopidoģrela terapiju un pirmo mēnesi viena grupa saņēma rosuvastatīnu (20 mg / dienā) un otra grupa – atorvastatīnu (80 mg / dienā). Pēc 30 dienām veica trombocītu reaktivitātes pārbaudi ar LTA, nosakot maksimālo trombocītu agregāciju, un VASP analīzi, lai noteiktu PRI. Pēc 30 dienām šie pacienti tika

randomizēti četrās grupās gastroprotektīvo līdzekļu saņemšanai: esomeprazols, pantoprazols, omeprazols vai ranitidīns. Pēc 60 dienām pacientiem veica atkārtotu trombocītu funkciju analīzi un konstatēja PRI kāpumu pacientiem ar esomeprazola un omeprazola terapiju.

Savukārt citā pētījumā, kur tika pārbaudīta atorvastatīna un rosuvastatīna ietekme uz trombocītu reaktivitāti, pēc tūlītējas terapijas uzsākšanas netika novērotas atšķirības starp abām pacientu grupām, savukārt apsekošanas vizītes laikā pēc 6 mēnešiem rosuvastatīna grupā trombocītu reaktivitāte bija statistiski ticami augstāka nekā atorvastatīna grupā ($241,5 \pm 88,2$ vs $226,4 \pm 79,3$; $p=0,033$) [Suh et al., 2013]. Novērotās trombocītu reaktivitātes atšķirības statīnu ilgstošas terapijas rezultātā mudina veikt papildu pētījumus, lai izskaidrotu ilgstošas statīnu terapijas ietekmi uz klopidoģrela metabolismu.

TRITON-TIMI 38 (*Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition With Prasugrel – Thrombolysis in Myocardial Infarction 38*) pētījumā ($n=13\,608$; pacienti ar AKS un plāna PCI), kur analizēja statīnu ietekmi uz klīnisko iznākumu biežumu, nelabvēlīgu KV notikumu (KV nāve, MI, CI) pieaugums iespējamās klopidoģrela hiporesponsivitātes dēļ zāļu mijiedarbības rezultātā netika novērots ne pacientiem ar statīnu monoterapiju, ne arī kombinētās terapijas laikā ar KKB un / vai PSI [Ojeifo et al., 2013].

Atorvastatīnam raksturīga spēja inhibēt ADF, tādējādi kavējot trombīna aktivētu trombocītu agregāciju. Šīs īpašības dēļ pētījumos ziņots arī par sinerģisku devas atkarīgu mijiedarbību starp atorvastatīnu un klopidoģrelu, kā rezultātā antiagreganta efektivitāte palielinās [Leoncini et al., 2013]. Līdz ar to jaunākajā zinātniskajā literatūrā paaugstinātas trombocītu reaktivitātes gadījumā pacientiem ar standarta klopidoģrela UD (75 mg / dienā) un atorvastatīnu mazā devā (10 mg / dienā) kā alternatīva tiek piedāvāta atorvastatīna nomaiņa uz citu statīnu grupas zāļu līdzekli, kuram nav raksturīgs *CYP3A4* metabolisms [Park et al., 2012], vai arī atorvastatīna devas palielināšana (80 mg / dienā), tādā veidā uzlabojot pacienta individuālo atbildes reakciju uz klopidoģrela terapiju [Leoncini et al., 2013, Schmidt et al., 2012].

Kalcija kanālu blokatori (KKB)

Dihidropiridīna grupas KKB ir *CYP4503A4* izoenzīma, kas piedalās klopidoģrela aktivācijas procesā, inhibitori. Līdz ar to vienlaicīga KKB lietošana tiek

saistīta ar samazinātu trombocītu inhibīciju klopidoģrela lietošanas laikā [Siller-Matula et al., 2008]. Pētījumā, kurā tika pārbaudīta ADF izraisīta trombocītu reaktivitāte ar divām metodēm (LTA un *VerifyNow* analīze), 162 pacientiem pēc PCI ar stenta implantāciju, KKB vienlaicīga lietošana tika izvirzīta kā iespējama cēlonis samazinātai klopidoģrela efektivitātei. Pacientiem ar KKB terapiju tika konstatēta statistiski ticami augstāka trombocītu reaktivitāte, salīdzinot ar pacientu grupu bez KKB ($p=0,001$, neatkarīgi no izmantotās metodes). Daudzfaktoru regresijas analīzē KKB terapija tika apstiprināta kā neatkarīgs faktors klopidoģrela izraisītas trombocītu inhibīcijas samazinājumam ($p=0,006$ ar LTA un $p=0,004$ ar *VerifyNow* metodi) [Gremmel et al., 2010].

Citā pētījumā atbildes reakcija uz klopidoģrela terapiju tika noteikta, mērot VASP fosforilācijas pakāpi un izmantojot agregometrijas metodi. Pētījumā tika iekļauti 200 pacienti ar KSS pēc PCI. PRI ar VASP fosforilācijas metodi bija augstāks pacientiem, kas saņēma klopidoģrelu kopā ar KKB (61%), salīdzinot ar pacientiem bez KKB (48%). Absolūtā PRI atšķirība starp šīm divām grupām bija 13% (95% CI: 6–20%; $p=0,001$), savukārt relatīvā atšķirība sasniedza 21%. Samazināta trombocītu inhibīcija (definēta kā PRI >69%) tika novērota kopumā 40% pacientu, kas saņēma KKB terapiju un 20% pacientu bez KKB (Hī – kvadrāta tests, $p=0,008$). ADF izraisīta trombocītu agregācija bija par 30% augstāka pacientiem ar KKB, salīdzinot ar otru grupu ($p=0,046$) [Siller-Matula et al., 2008].

Dažiem no KKB piemīt spēja inhibēt zāļu transportieri P-gp, kas nodrošina arī klopidoģrela absorbciju tievajās zarnās. Šo KKB grupas pārstāvju atšķirīgo ietekmi uz P-gp pārbaudīja citā pētījumā, kur mērija trombocītu reaktivitāti 623 pacientiem pēc PCI ar duālu antiagregantu terapiju, izmantojot LTA metodi. 222 (35,6%) pacienti saņēma KKB terapiju, no kuriem 98 pacienti lietoja KKB ar P-gp inhibējošām īpašībām (verapamils, nifedipīns, diltiazems) un 124 pacienti saņēma amlodipīnu – KKB bez P-gp inhibitora īpašībām. Vidējā ADF izraisīta trombocītu reaktivitāte bija statistiski ticami augstāka abās KKB lietotāju grupās, salīdzinot ar pacientiem bez KKB ($p<0,05$). Jāatzīmē, ka tikai amlodipīna terapijas laikā ieguva 2,3 reizes lielāku risku klopidoģrela samazinātai efektivitātei [Harmsze et al., 2010].

Kopumā sastopama pretrunīga informācija par klopidoģrela un KKB mijiedarbību. Dažos pētījumos iegūtie rezultāti noliedz KKB ietekmi uz antiagreganta terapiju [Schmidt et al., 2012, Olesen et al., 2011]. CREDO (*Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation*) pētījuma laikā, izvērtējot ilgtermiņā

iespējamo KKB un klopidoģrela mijiedarbību, netika novērota klīniski nozīmīga KKB ietekme uz klopidoģrela efektivitāti [Good et al., 2012]. Savukārt citā pētījumā, kurā tika novērota vairāku vienlaicīgi pastāvošu riska faktoru (*CYP2C19**2, KKB, PSI) ietekme, klopidoģrela efektivitātes samazinājums bija gan pacientiem ar vienlaicīgu KKB un PSI terapiju, gan arī KKB lietotājiem ar *CYP2C19**2 samazinātas funkcijas alēli [Harmsze et al., 2011].

Palielināts ķermeņa masas indekss (KMI)

Kā viens no iespējamajiem klopidoģrela hiporesponsivitāti veicinošiem mehānismiem pētījumos minēts arī palielināts KMI [Celik et al., 2009, Feher et al., 2007]. Feher et al. pētījumā, kur tika analizēta vairāku faktoru loma klopidoģrela rezistences attīstībā, KMI pacientu grupās atšķīrās statistiski ticami, respektīvi, pacientu grupā ar normālu klopidoģrela darbību KMI bija zemāks, salīdzinot ar rezistentu pacientu grupu (attiecīgi 26,1 vs 28,8 kg/m², p<0,05) [Feher et al., 2007].

Prospektīvā multicentru pētījumā, kurā tika iekļauti 73 pacienti pēc PCI, tika pētīta klīnisko faktoru ietekme uz palielinātu trombocītu reaktivitāti (definēta kā VASP PRI ≥50% pēc klopidoģrela PD 600mg saņemšanas). Palielināts KMI bija viens no faktoriem, kuram tika novērota asociācija ar paaugstinātu trombocītu reaktivitāti (p=0,01) [Bonello-Palot et al., 2009].

Pankert et al. veiktajā pētījumā, kurā analizēja KMI ietekmi uz klopidoģrela efektivitāti, lietojot standarta UD (75 mg /dienā) un palielinātu klopidoģrela UD (150 mg /dienā), adipozitāte (KMI > 30 kg/m²) biežāk bija raksturīga pacientu grupā ar klopidoģrela hiporesponsivitāti (VASP PRI ≥50%) netakarīgi no UD režīma [Pankert et al., 2013]. Citā pētījumā, neskatoties uz adipozitātes izplatību pētījuma pacientu vidū (44%), tomēr asociācija starp KMI un klopidoģrela hiporesponsivitāti netika novērota [Gaglia et al., 2011].

Smēķēšana

Ņemot vērā klopidoģrela nepieciešamo aktivāciju ar daudziem aknu *CYP450* izoenzīmiem, tajā skaitā arī ar *CYP1A2*, literatūrā ziņots par smēķēšanas kā šī izoenzīma induktora spēju veicināt klopidoģrela aktīvā metabolīta izveidi. Bliden et al. pētījumā, analizējot smēķēšanas ietekmi uz trombocītu agregāciju, tika iekļauti 259

pacienti, kuri tika stacionēti plāna PCI veikšanai. 120 pacienti jau iepriekš bija lietojuši klopidoģrelu un nesaņēma PD, savukārt 139 pacienti pirms procedūras veikšanas saņēma klopidoģrelu 600 mg PD. No visiem pētījumā iekļautajiem pacientiem 104 bija smēķētāji un 155 – nesmēķētāji. Smēķētāju grupā, kas jau iepriekš bija saņēmuši klopidoģrela terapiju, konstatēja zemāku trombocītu agregāciju, salīdzinot ar nesmēķētājiem ($p < 0,0008$). Šī sakarība starp grupām atšķirībā no smēķēšanas statusa statistiski ticami saglabājās arī pacientiem, kuri pirms procedūras saņēma klopidoģrelu ($p < 0,05$). Pētījums pierādīja, ka klopidoģrela terapija smēķētājiem saistās ar lielāku trombocītu inhibīciju un zemāku agregāciju, salīdzinot ar nesmēķētājiem [Bliden *et al.*, 2008].

Gremmel *et al.* pētījumā, kurā tika iekļauti 102 pacienti (40 aktīvi smēķētāji, 23 pacienti, kas iepriekš smēķējuši un 33 nesmēķētāji), mērot trombocītu agregāciju 24 stundas pēc PCI, lielāku ADF izraisītu trombocītu agregāciju konstatēja nesmēķētājiem, salīdzinot ar aktīvo smēķētāju grupu (14 pret 5; $p = 0,004$) [Gremmel *et al.*, 2009].

Citā pētījumā tika iekļauti 134 otrā tipa CD pacienti ar DAPT, kuri tika sadalīti atkarībā no seruma kotinīna līmeņa trīs sekojošās grupās: $< 3 \text{ ng/ml}$ (nesmēķētāji), $3\text{--}199 \text{ ng/ml}$ (neregulārie smēķētāji) un $\geq 200 \text{ ng/ml}$ (aktīvie smēķētāji). Pārbaudot trombocītu funkcijas analīzi ar trīs dažādām metodēm (LTA, *VerifyNow* P2Y₁₂ un VASP fosforilācijas metode), novēroja, ka seruma kotinīna līmenis ir pretēji proporcionāls trombocītu reaktivitātei, mērot ar visām metodēm, respektīvi, pieaugot kotinīna līmenim, samazinās trombocītu agregācija ($p < 0,0001$). Līdz ar to tika secināts, ka smēķēšana CD pacientiem samazina trombocītu reaktivitāti klopidoģrela terapijas laikā [Ueno *et al.*, 2012]. Tomēr nepieciešams veikt lielus prospektīvus pētījumus, kas apstiprinātu smēķēšanu kā cēloni klopidoģrela aktīvā metabolīta pastiprinātai produkcijai.

Cukura diabēts (CD)

Ņemot vērā pieaugošo CD prevalenci visā pasaulē, pieaug arī ar CD saistītās komplikācijas, kas bieži vien izpaužas kā KSS. Trombocītu disfunkcija tiek asociēta kā pieaugošo koronāro artēriju slimības riska centrālais veicinātājs. Līdz ar to klopidoģrels ir īpaši nozīmīgs nelabvēlīgo klīnisko iznākumu samazinātājs pacientiem ar AKS un pēc PCI [Hall *et al.*, 2011].

Pētījumos, kuros tiek analizēta klīnisko faktoru asociācija ar paaugstinātu trombocītu reaktivitāti, bieži vien kā viens no ietekmējošiem faktoriem tiek minēts arī CD [Bonello-Palot *et al.*, 2009]. Farmakodinamiskie pētījumi pierāda pastāvošu augstu trombocītu reaktivitāti pacientiem ar CD, neskatoties uz klopidoģrela terapiju. Pētījuma, kurā apkopojā dāņu reģistra datus laika posmā no 2002. līdz 2009. gadam, tika iekļauti 58 851 pacienti pēc hospitalizācijas MI dēļ, kas tika novēroti turpmāko vienu gadu. Kā nelabvēlīgi klīniski iznākumi tika vērtēta nāve (KV vai cits cēlonis) un atkārtots MI. Pacientiem ar CD klopidoģrela terapijai pēc MI tika konstatēta zemāka riska redukcija nāvei jebkura iemesla dēļ un nāvei KV cēloņa dēļ, salīdzinot ar pacientiem bez CD [Andersson *et al.*, 2012].

Citā pētījumā, kura mērķis bija identificēt riska faktorus samazinātai trombocītu reaktivitātei, tika iekļauti 157 pacienti ar KV slimību, kuri saņēma klopidoģrela terapiju (75 mg / dienā > vai = 7 dienas vai 600 mg PD > vai = 24 stundas pirms iekļaušanas). Nosakot trombocītu reaktivitāti ar *VerifyNow* metodi, zemāks trombocītu inhibīcijas līmenis bija pacientiem ar paaugstinātu plazmas fibrinogēna līmeni ($\geq 375\text{mg/dL}$), CD pacientiem un pacientiem ar palielinātu KMI ($\geq 25\text{ kg/m}^2$). Tā kā paaugstināts plazmas fibrinogēna līmenis bija saistīts ar CD, līdz ar to trombocītu inhibīcija CD pacientiem bija zemāka, salīdzinot ar pacientiem bez CD ($23,9\pm 3,9\%$ pret $45,1\pm 4,5\%$, $p<0,001$) [Ang *et al.*, 2008].

Singla *et al.* pētījumā, kurā tika meklēta saistība starp trombocītu reaktivitāti un glikēmijas kontroli DAPT laikā pēc PCI, tika mērīta trombocītu agregācija pacientiem ar CD ($n=36$) un pacientiem bez CD ($n=35$). Glikētā hemoglobīna (Hb_{A1C}) mērījumi tika sagrupēti divās grupās: $\text{Hb}_{\text{A1C}} < 7\text{g/dL}$ ($n=16$) un $\text{Hb}_{\text{A1C}} \geq 7\text{g/dL}$ ($n=20$). CD pacientiem ar $\text{Hb}_{\text{A1C}} \geq 7\text{g/dL}$ bija vērojama augstāka ADF izraisīta trombocītu agregācija, salīdzinot ar CD pacientiem, kuriem $\text{Hb}_{\text{A1C}} < 7\text{g/dL}$ (54 ± 15 pret 34 ± 14 , $p<0,001$). CD pacientiem ar $\text{Hb}_{\text{A1C}} \geq 7\text{g/dL}$ paaugstinātas trombocītu reaktivitātes prevalence bija 65%, bet CD pacientiem ar $\text{Hb}_{\text{A1C}} < 7\text{g/dL}$ – 19%. Pētījumā secināja, ka pastāv sakarība starp glikēmisko kontroli un trombocītu reaktivitāti otrā tipa CD pacientiem ar klopidoģrela terapiju, jo slikti kontrolēts CD izraisa palielinātu trombocītu reaktivitāti [Singla *et al.*, 2009].

Optimizējot antiagregantu terapiju CD pacientiem (OPTIMUS – *Optimizing anti-Platelet Therapy In diabetes Mellitus*), tika pierādīts, ka palielināta klopidoģrela UD (150 mg / dienā) CD pacientiem ir efektīvāka, salīdzinot ar standarta

UD (75 mg / dienā), tomēr vēl joprojām saglabājās augsta trombocītu agregācija [Angiolillo et al., 2007].

CD pacientiem ir raksturīga pastiprināta aktivācijas marķieru un trombocītu visrmas receptoru – purīnerģisko receptoru P2Y, G-proteīna, P2Y₁₂, GP Ib, GP IIb/IIIa, P-selektīna ekspresija. Palielinās arī trombocītu intracelulārā kalcija koncentrācija, kas izraisa pastiprinātu trombocītu degranulāciju un agregāciju. CD pacientiem trombocīti parasti ir arī ar lielāku virsmu, izmēru un tilpumu, tādējādi veicinot papildu agregāciju un aktivāciju [Galla et al., 2009, Yilmaz et al., 2008]. Šiem pacientiem raksturīga arī reaktīvā skābekļa un slāpekļa produkcija, samazināta trombocītu antioksidantu veidošanās, veicinot pastiprinātu trombocītu aktivāciju un samazinot endoteliālo šūnu slāpekļa oksīda un prostaciklīna sintēzi. Līdz ar to, pastāvot insulīna rezistencei, novēro saistību starp CD un pieaugošo KSS risku gan akūtām koronārām komplikācijām, gan ST pēc PCI [Ferreiro et al., 2010].

Ghannudi et al. pētījumā tika analizēta zemas trombocītu atbildes reakcijas uz P2Y₁₂ receptoru antagonistu terapiju, mērot VASP fosforilācijas līmeni ar plūsmas citometru, saistība ar nelabvēlīgu klīnisko iznākumu biežumu pacientiem ar vai bez CD pēc PCI. 436 pacienti tika iedalīti četrās grupās, balstoties uz CD esamību un trombocītu reaktivitāti (pazemināta, ja PRI >61%). Pēc 9±2 mēnešu FUP kopējās un kardiālās mirstības un ST biežums bija augstāks CD pacientiem ar samazinātu trombocītu atbildes reakciju [El Ghannudi et al., 2011].

Pasaulē starp pieaugušiem (20–79 gadi) CD prevalence 2010. gadā bija apmēram 6,4%, skarot aptuveni 285 miljonus pieaugušo, bet, pastāvot pieaugošai šīs slimības izplatībai, 2030. gadā jau tiek prognozēts lielāks CD pacientu skaits – 7,7% (439 miljoni) [Balasubramaniam et al., 2012]. Šī tendence aktualizē antiagregantu terapijas kontroli CD pacientiem, balstoties uz iepriekš minēto pētījumu rezultātiem.

Pacientu līdzestība

Pacienta līdzestības trūkums vai neadekvāta devas izvēle ir biežākie cēloņi klopidoģrela samazinātas efektivitātes attīstībai. Klopidoģrela rezistence bieži vien saistās arī ar aspirīna rezistenci. Pētījumā konstatēts, ka apmēram 50% no pacientiem ar aspirīna rezistenci novēro arī klopidoģrela rezistenci (tā var arī būt neatkarīgi). Šādai duālas antiagregantu rezistences grupai pacientu līdzestības trūkuma apstākļos ir īpaši paaugstināts risks trombotisko komplikāciju attīstībai pēc PCI [Lev et al., 2006].

1.5. Pacientu uzraudzība ar samazinātu klopidoģrela atbildes reakciju

Iepriekš veiktajos pētījumos pacientiem pēc PCI lielāka klopidoģrela PD (600 mg) asociējās ar lielāku trombocītu inhibīcijas pakāpi, zemāku vidējo reaktivitāti uz ADF terapijas laikā, mazāku nepietiekamas efektivitātes gadījumu skaitu, salīdzinot ar 300 mg PD [Gurbel *et al.*, 2005, Gurbel *et al.*, 2005]. ISAR-CHOICE (*Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose Between 3 High Oral Doses for Immediate Clopidogrel Effect*) pētījumā netika novērots lielāks klopidoģrela aktīvā metabolīta līmenis pie dažādām PD, attiecīgi 600 mg un 900 mg [von Beckerath *et al.*, 2005]. Pētījuma rezultāti liecina, ka klopidoģrela PD >600 mg laikā nenovēro papildu trombocītu funkcijas nomākumu, ko iespējams izskaidrot ar ierobežoto klopidoģrela absorbciju. Tomēr 600 mg PD raksturojas ar ātrāku trombocītu inhibīciju nekā 300 mg [Gurbel *et al.*, 2005].

OASIS-7 (*Optimal Antiplatelet Strategy for Interventions 7*) pētījumā tika iekļauti 25087 pacienti ar nestabilu stenokardiju vai akūtu MI, izmantojot divus atšķirīgus klopidoģrela devu režīmus. Viena grupa saņēma klopidoģrela terapijas standarta devas – 300 mg PD, 75 mg / dienā UD, bet otrai grupai tika nozīmētas paaugstinātas klopidoģrela devas – 600 mg PD, 150 mg / dienā UD vienu nedēļu. Pēc 30 dienām tika apsekots nelabvēlīgo iznākumu (KV nāve, MI, CI) biežums abās terapijas grupās. Netika novērotas iepriekš minēto notikumu atšķirības, attiecīgi 4,4% standarta terapijas grupā un 4,2% – paaugstinātu devu grupā. Apmēram divām trešdaļām pacientu, kuriem tika veikta PCI, tika novērots samazināts risks ST, par 30% un par 22% samazinājās MI risks pacientu grupā, kas saņēma augstākas klopidoģrela devas, salīdzinot ar standarta terapiju. Palielināto devu grupā biežāk novēroja asiņošanu, lai gan intrakraniālas vai fatālas asiņošanas risks šajā grupā nebija pieaudzis [Mehta *et al.*, 2010].

Lai gan paaugstinātas klopidoģrela PD un UD var uzlabot terapijas efektivitāti [Gladding *et al.*, 2008], tomēr vēl joprojām pacientu vidū pastāv atšķirības starp indivīdiem. Bonello *et al.* pētījumā, kurā nelielam pacientu skaitam, kam plānots veikt PCI, tika nozīmētas papildu PD līdz optimāla antiagregatīvā efekta sasniegšanai, veicot trombocītu funkciju monitorēšanu ar VASP metodi [Bonello *et al.*, 2008], pielietotā modificēto devu stratēģija tika atzīta par diezgan drošu metodi ar iespēju uzlabot klīnisko iznākumu pacientiem ar klopidoģrela rezistenci, neskatoties uz 600 mg PD saņemšanu pirms PCI. Devu pielāgošana, balstoties uz trombocītu funkciju

mērījumiem, izskatās daudzsolša pieeja optimālas pacientu aprūpes nodrošināšanai. Pretrunīgi rezultāti iegūti GRAVITAS (*The Gauging Responsiveness With a VerifyNow P2Y12 Assay: Impact on Thrombosis and Safety*) pētījumā, kas liecina, ka klopidoģrela terapijas korekcija, izvēloties paaugstinātas UD (150 mg / dienā) režīmu pacientiem pēc PCI ar klopidoģrela rezistenci, neuzrāda lielāku efektivitāti, salīdzinot ar standarta uzturošo devu (75 mg / dienā) [Wiviott et al., 2007].

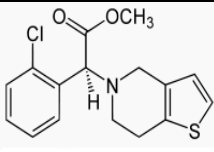
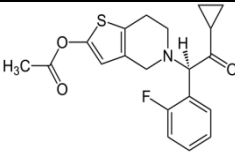
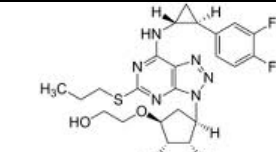
1.6. Jaunākie antiagreganti, to priekšrocības un trūkumi

Antiaģregantu hiporesponsivitātes un rezistences jautājums aktualizējis jaunu šīs grupas zāļu attīstību ar zināmām priekšrocībām attiecībā pret citiem pārstāvjiem: samazināta ģenētisko polimorfismu spēja izmainīt šo zāļu darbību organismā un retāk novērotas zāļu mijiedarbības reakcijas [Hochtl et al., 2012]. Antiaģregantu farmakokinētisko un farmakodinamisko īpašību salīdzinājums atspoguļots 1.4. tabulā.

1.4. tabula

Jaunāko antiagregantu salīdzinājums ar klopidoģrelu

[Siller-Matula et al., 2009, Damman et al., 2012, Toma, 2010, Kalyanasundaram et al., 2011]

Parametri	Klopidoģrels	Prasugrels	Tikagrelors
Ķīmiskā struktūrformula			
Zāļu grupa	Tienopiridīni	Tienopiridīni	Ciklopentiltriazolpirimīdīni (CTTP)
Darbības mehānisms	neatgriezeniski saistās ar P2Y ₁₂ receptoriem	neatgriezeniski saistās ar P2Y ₁₂ receptoriem	atgriezeniski saistās ar P2Y ₁₂ receptoriem
Devas	PD: 300–600 mg UD: 75 mg 1x dienā	PD: 60 mg UD: 10 mg 1x dienā	PD: 180 mg UD: 90 mg 2x dienā
Lietošanas veids	perorāli	Perorāli	perorāli
Farmakokinētiskās īpašības:			
Iedarbības sākums	2–4 h (300 mg)	0,5–1,5 h (60 mg)	1–3 h

Biopieejamība	>50%	≥79%	~36%
Eliminācijas puseperiods (t_{1/2})	~6–8 h	~ 7 h (2–15 h – aktīvs metabolīts)	~7–8,5 h (6–13 h)
Inhibīcijas apjoms (LTA/max – 5μM ADF)	~ 40%	~ 60-80%	~ 75-90%
Parametri	Klopidogrels	Prasugrels	Tikagrelors
Metabolisms	<i>CYP2C19</i> un <i>CYP3A4</i>	<i>CYP3A4</i> un <i>CYP2B6</i>	<i>CYP3A4</i> un <i>CYP3A5</i>
Eliminācija	40% ar urīnu, 35–60% izkārnījumos	~68% urīnā, 27% izkārnījumos	~57% izkārnījumos, 26% urīnā
Mijedarbība ar citiem medikamentiem	<i>CYP3A4</i> : Kalcija antagonisti (<i>verapamils</i> , <i>diltiazems</i> , mazākā mērā <i>felodipīns</i> , <i>nifedipīns</i> , <i>amlodipīns</i>); Statīni (<i>atorvastatīns</i> , <i>simvastatīns</i>); <i>CYP2C19</i> inhibitori: PSI (<i>omeprazols</i> , <i>esomeprazols</i>), pretepilepsijas līdzekļi (<i>karbamazepīns</i> , <i>okskarbamazepīns</i>); <i>CYP2C9</i> : NPL (naproksēns)	Zema mijiedarbības varbūtība: NPL Varfarīns	<u><i>CYP3A4</i> inhibitori:</u> a) spēcīgi inhibitori – ketokonazols, klaritromicīns, ritonavirs, atazanavirs; b) mēreni inhibitori: diltiazems, eritromicīns, flukonazols; <u><i>CYP3A4</i> induktori:</u> rifampicīns, deksametazons, fenitoīns, karbamazepīns, fenobarbitāls. <u>Medikamenti, kas paaugstina asiņošanas risku:</u> aspirīns, NPL; <u>Citi <i>CYP3A4</i> substrāti:</u> statīni (lovastatīns, simvastatīns).

PD – piesātinošā deva, UD – uzturošā deva, NPL – nesteroīdie pretiekaisuma līdzekļi.

Pēdējo gadu laikā vairāki pētījumi pierādījuši prasugrela efektivitāti, salīdzinot ar klopidogrelu. Randomizētā, dubultklā, divfāzu pētījumā (PRINCIPLE-TIMI 44 – *Prasugrel in Comparison to Clopidogrel for Inhibition of Platelet Activation and Aggregation–Thrombolysis in Myocardial Infarction 44*) salīdzināja terapijas efektivitāti pacientiem ar prasugrela standarta devām un klopidogrela palielinātām devām. Trombocītu agregācijas inhibīcija sešas stundas pēc antiagreganta PD saņemšanas

(60 mg prasugrela vai 600 mg klopidoģrela) pacientiem ar plāna PCI bija statistiski ticami augstāka prasugrela gadījumā, salīdzinot ar klopidoģrelu (attiecīgi, vidējais $\pm$ SD, $74,8 \pm 13,0\%$ vs $31,8 \pm 21,1\%$, $p < 0,0001$). Analizējot ilgtermiņa terapijas efektu pēc 28 dienām ar UD prasugrelam 10 mg / dienā un klopidoģrelam 150 mg / dienā, trombocītu agregācijas inhibīcija saglabāja iepriekšminēto tendenci ($61,3 \pm 17,8$ vs $46,1 \pm 21,3\%$, $p < 0,0001$). Šī pētījuma dati pierādīja, ka prasugrela UD un PD ir efektīvāka nekā klopidoģrela terapija paaugstinātās devās. Autori secināja, ka prasugrelam kā trešās paaudzes tienopiridīnu grupas līdzeklim raksturīga lielāka trombocītu inhibīcijas spēja ar mazāku interindividuālo variabilitāti, salīdzinot ar klopidoģrela terapiju [Wiviott *et al.*, 2007].

Wiviott *et al.* pētījumā, kur tika iekļauti 13608 pacienti ar AKS, kuriem indicēta PCI veikšana, salīdzināja prasugrela (60 mg PD un 10 mg UD) un klopidoģrela (300 mg PD un 75 mg UD) terapijas efektivitāti ilgtermiņā (6–15 mēneši). Kā primārie efektivitātes – riska rādītāji tika izvirzīti sekojoši nelabvēlīgie KV notikumi: nāve KV cēloņa dēļ, nefatāls MI un CI. Kā terapijas drošības rādītājs tika vērtēta asiņošanas attīstība. Pētījumā secināja, ka nelabvēlīgie KV notikumi biežāk novēroti klopidoģrela lietotāju grupā, salīdzinot ar prasugrela grupu (12,1% vs 9,9%, HR prasugrels vs klopidoģrels 0,81; 95% CI, 0,73–0,90, $p < 0,001$). Tomēr asiņošanas attīstības tendences bija pretējas – asiņošanu biežāk novēroja prasugrela lietotājiem (2,4%), salīdzinot ar klopidoģrelu (1,8%, $p = 0,03$), tajā skaitā arī dzīvību apdraudoša asiņošana (nefatāla un fatāla) prasugrela grupā bija biežāk (1,4% vs 0,9%, $p = 0,01$). Pētījuma rezultāti liecina, ka AKS pacientiem ar plāna PCI prasugrela terapija nodrošina samazinātu išēmisko notikumu attīstību, vienlaicīgi palielinot asiņošanas risku [Wiviott *et al.*, 2007]. Līdz ar to īpaši būtiski ir katra pacienta individuālā ieguvuma – riska attiecības noteikšana, lai izvēlētos konkrētam pacientam vispiemērotāko antiagregantu terapiju [Ivandić *et al.*, 2011].

2. DARBA METODES

2.1. Pētījuma izpildīšanas vieta

Pētījums veikts Paula Stradiņa Klīniskās universitātes slimnīcas (PSKUS) Latvijas Kardioloģijas centrā (LKC) un Latvijas Kardioloģijas zinātniskā institūtā sadarbībā ar Latvijas Biomedicīnas pētījumu un studiju centru (BMC) un PSKUS Šūnu transplantācijas centru.

2.2. Pētījuma dizains un kopējās pacientu grupas atlases principi

Prospektīvā pētījumā tika izmantoti LKC stacionēto pacientu dati, kuriem tika nozīmēta klopidoģrela terapija trombožu profilaksei pēc DES stenta implantācijas un pēc AKS. Pētījumu apstiprināja PSKUS Attīstības biedrības Klīniskās izpētes ētikas komiteja (atzinums Nr. 300610 – 2L, 2010. gada 30. jūnijs).

Iekļaušanas kritēriji:

- Pacientam stacionēšanas reizē veikta PCI ar vismaz viena DES stenta implantāciju.
- Pacients ne ilgāk kā pirms 24 stundām saņēmis klopidoģrela 300 mg vai 600 mg PD.
- Pacients rakstiski piekrīt piedalīties pētījumā, atkārtotai asins paraugu nodošanai, piekrīt ierasties uz FUP vizītēm un telefoniskām intervijām.

Izslēgšanas kritēriji:

- Pacients nevēlas piedalīties vai sagaidāma slikta līdzestība.
- Hroniska sirds mazspēja (HSM) IV funkcionālā klase pēc NYHA.
- Aktīva asiņošana vai hemorāģiskā diatēze. Zināma trombocitopātija. Trombocītu skaits zem 100 000/mm³.
- Perorālo antikoagulantu terapija.
- Zināma smaga aknu patoloģija (ciroze, hronisks hepatīts) vai kopējā bilirubīna koncentrācija asins serumā > 2 mg/dl (>34,2 μmol/l).
- Jebkurš hemorāģisks vai neprecizētas ģenēzes CI.

- Malignitāte un citas nopietnas patoloģijas ar sagaidāmo dzīvildzi zem 1 gada.
- Zināma alerģija pret pētījumā izmantojamiem medikamentiem.

2.3. Datu iegūšanas metodes

2.3.1. Apkopotā informācija par fenotipu

Informācija par katru pētījumā iesaistīto pacientu pēc personas rakstiskas piekrišanas tika ierakstīta speciāli izstrādātā pētījuma anketā, kurai piešķirts speciāls kods. Informācija par pacienta identitāti (koda atšifrējums) un anketas glabājas tikai LKC un netiek nodotas tālāk. Par visiem pacientiem tika iegūta fenotipiskā informācija, kā arī veiktas laboratoriskās un ģenētisko polimorfismu analīzes. Par katru pacientu tika reģistrēti konvencionālie riska faktori: vecums, dzimums, informācija par smēķēšanas statusu (nesmēķētājs, aktīvs vai izbijis smēķētājs, ja atmetis pirms > 1 mēneša, cik ilgi nesmēķē (< vai > 1 gadu)), AH (pakāpe, ilgums). Īpaša rūpīgi tika apkopoti dati par ST riska faktoriem: CD un tā tipu, CI un tā tipu, HSM un tās klasi, sirds kreisā kambara (KK) izsviedes frakciju (EF – *ejection fraction*), malignitāti, hronisku nieru slimību (HNS). Ievākti arī KSS anamnēzes dati: vai ir bijuši MI, to skaits, laiks kopš pēdējā MI (1 mēneša vai 1 gada laikā). MI diagnoze tika atzīmēta, ja tāda tika minēta iepriekšējos slimnīcu izrakstos. Tika apkopota informācija arī par revaskularizāciju anamnēzē (PCI skaits, ievietoto stentu skaits un veids, labotā artērija), koronāro artēriju šuntēšanas (CABG) reižu skaits, tips, balstoties uz iepriekšējo izrakstu datiem.

Lai uzlabot datu ticamību, katrā atbildē uz jautājumiem tika īpaši atzīmēts, ja informācija nebija pārliecinoša. Apkopoti dati par farmakoterapiju (klopidogrels (deva, lietošanas ilgums), aspirīns (deva, lietošanas ilgums), citi NPL, statīni, angiotenzīnu konvertējošā enzīma inhibitori (AKEI), angiotenzīna II receptoru blokatori (A2RB), beta blokatori (BB), KKB, nitrāti, antiaritmiskie līdzekļi, PSI (tips, deva), antibakteriālie līdzekļi, līdzekļi CD terapijai), ko pacients bija lietojis regulāri pēdējās nedēļas laikā, kā arī stacionārā nozīmētā terapija. Pacientam noteica svaru un augumu, aprēķināja KMI.

No laboratoriskiem raksturlielumiem serumā tika noteikts lipīdu (kopējā holesterīna (KH), augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīna (ABLH), zema blīvuma lipoproteīnu holesterīna (ZBLH), triglicerīdu (TG)), glikozes līmenis, aknu funkcionālie marķieri: alanīnaminotransferāze (ALAT), aspartātaminotransferāze (ASAT), kopējais

bilirubīns, kreatinīns, C reaktīvais olbaltums (CRO). Citrētā plazmā tika noteikts fibrinogēna līmenis, aktivētais parciālais tromboplastīna laiks (APTL), starptautiska normalizēta protrombīna laika attiecība (INR), kardioloģiskie marķieri: troponīns I un kreatīnkināzes MB frakcija (CK-MB). Asins paraugā etilēndiamīntetraacetāta (EDTA) klātbūtnē – hemoglobīns, hematokrīts un asins šūnu (eritrocītu, leukocītu, trombocītu) skaits, vidējais eritrocītu un trombocītu tilpums, eritrocītu grimšanas ātrums.

Vakutaineros ar EDTA tika ņemti arī pacientu plazmas paraugi, kas tūlīt pēc separācijas ar centrifūgu tika sasaldēti un glabāti -70 °C temperatūrā. Šādā temperatūrā tika glabāti arī pacientu urīna paraugi.

Pēc 40 dienām tika veikta pacientu FUP vizīte, kuras laikā tika veikta atkārtota VASP fosforilācijas analīze, nosakot PRI, kā arī reģistrēti dati par stacionēšanu pēdējo piecu nedēļu laikā (skaits, iemesls), balstoties uz slimnīcu izrakstu datiem, asiņošanas novērošanu, atzīmēta farmakoterapija.

Telefonintervijas tika nodrošinātas šādos termiņos kopš iekļaušanas brīža – 3 mēneši, 6 mēneši, 1 gads.

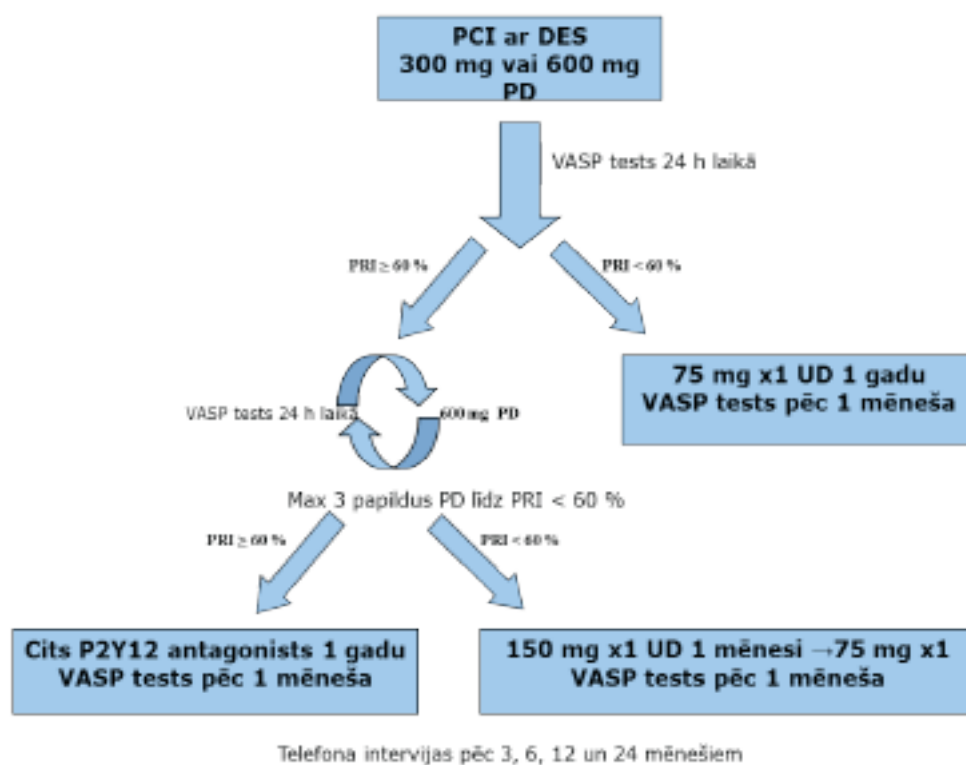
2.3.2. Ģenētiskās analīzes

Visi pacienti pēc piekrišanas saņemšanas tika iekļauti Latvijas Genomu datu bāzē, kam ir saņemta Ētikas komisijas atļauja (atbildīgais *Dr. biol. J. Klovīņš*). Ģenētiskām analīzēm domātie asiņu paraugi (divi stobriņi ar EDTA (10ml, BD Vacutainer, Franklin Lakes, NJ, ASV) un viens SST stobriņš (BD Vacutainer SSTTM Gel Separator Tube, 5ml, BD Vacutainer, Franklin Lakes, NJ, ASV) tika marķēti ar pacienta kodu un nogādāti Latvijas BMC. Personāls, kurš veica dezoksiribonukleīnskābes (DNS) analīzes, nezina kļuvis par slimniekiem. DNS izdalīšana tika veikta pēc standarta fenola-izopropanola metodes. Tika noteikti septiņi polimorfismi: *CYP2C19*2*, *CYP2C19*3*, *CYP2C19*5*, *CYP2C19*17*, *CYP2C9*2*, *CYP2C9*3*, *ABCB1*, kuru kārtas numuri Nacionālajā Biotehnoloģiju Informācijas centra SNP (*single-nucleotide polymorphism*) datubāzē (bdSNP) ir attiecīgi rs4244285, rs4986893, rs56337013, rs12248560, rs1799853, rs1057910, rs1045642. DNS paraugi tika ievietoti 96 bedrīšu polimerāzes ķēdes reakcijas (*angl. polymerase chain reaction – PCR*) platēs, izmantojot daudzkanālu pipetes (*Tecan Freedom Evo system, Tecan, Männedorf, Switzerland*) ar maināmiem filtru saturošiem uzgaļiem. DNS koncentrācija tika normalizēta līdz 7ng/μL. Genotipēšana tika veikta ar *Applied Biosystems TaqMan*

SNP Genotyping Assay, izmantots *Vii7 Real-Time PCR system (Life Technologies)*. Paraugu genotipu signālu reģistrēšana tika veikta ar *AutoCaller 1.1 (Applied Biosystems)* programmu.

2.3.3. Klopidoģrela rezistences analīze

Rezistences izvērtēšanai tika izmantots asins plūsmas citometrs “*Cytomics FC-500*” (*Beckman Coulter FC Flow Cytometer Series, Beckman Coulter, Miami, Florida, ASV*). Klopidoģrela rezistence definēta kā $PRI \geq 60\%$ pēc pirmās klopidoģrela PD 300 mg (plānveida PCI ar DES) vai 600 mg (primāra vai akūta PCI ar DES) saņemšanas. Pētījuma gaitā pacientiem tika noteikta trombocītu reaktivitāte, izmantojot VASP testu (PLT VASP/P2Y12) – stacionārā (1–4 reizes), ambulatori – pēc 10 (ja konstatēta klopidoģrela samazināta efektivitāte) un pēc 40 dienām (skat. 2.1. attēlu).



2.1. att. Pētījuma dizains

PCI – perkutāna koronāra intervence, PRI – trombocītu reaktivitātes indekss, VASP – vazodilatatorstimulējošais fosfoproteīns, PD – piesātinošā deva, UD – uzturošā deva.

VASP fosforilācijas analīze, nosakot PRI, tika veikta 24 stundu laikā pēc klopidoģrela PD saņemšanas. Ja PRI bija $\geq 60\%$, tad pacients saņēma papildu līdz 3 PD (3×600 mg), ar mērķi iegūt PRI $< 60\%$. Ja šo mērķi neizdevās sasniegt ar papildu PD, tad pacientam tika nozīmēta klopidoģrela terapija 150 mg / dienā pirmo mēnesi, turpinot ar standarta UD (75 mg / dienā), VASP fosforilācijas analīze pēc 10 un pēc 40 dienām. Ja ar šīm papildu PD PRI saglabājās $\geq 60\%$, tad pacientam tika nozīmēta cita antiagreganta (tikagrelors) terapija, PRI kontrole pēc 40 dienām. Ja PRI $< 60\%$ jau pirmās analīzes laikā, tad pacients saņēma klopidoģrela standarta UD (75 mg / dienā), VASP fosforilācijas analīze pēc 40 dienām.

Analīzes veikšanai tika izmantoti vairāki reaģenti (ADF, PGE1, anti-VASP peles monoklonālā antivielā). VASP fosforilācija (VASP-P) ir atkarīga no trombocītu P2Y₁₂ receptoru aktivācijas līmeņa, kas ir mērķis klopidoģrela darbībai. VASP fosforilācija tiek regulēta ar cAMP kaskādes tipa reakciju palīdzību. PGE1 šīs reakcijas aktivē, turpretī ADF bloķē, iedarbojoties uz trombocītu P2Y₁₂ receptoriem. PRI, izteikts procentuālā izteiksmē, raksturo VASP fluorescences intensitātes atšķirību starp trombocītiem, iedarbojoties ar PGE1 vai PGE1 un ADF vienlaicīgi. Zināms, ka PRI korelē ar trombocītu agregācijas inhibīciju, ko izraisījusi P2Y₁₂ receptoru blokāde. Pētījumos biežāk minētā robežvērtība atbilstošai reakcijai uz klopidoģrela terapiju ir tādā gadījumā, ja PRI $< 50\%$, bet neadekvātai – PRI $> 50\%$ [Varenhorst *et al.*, 2009, Bonello *et al.*, 2008, Pampuch *et al.*, 2006].

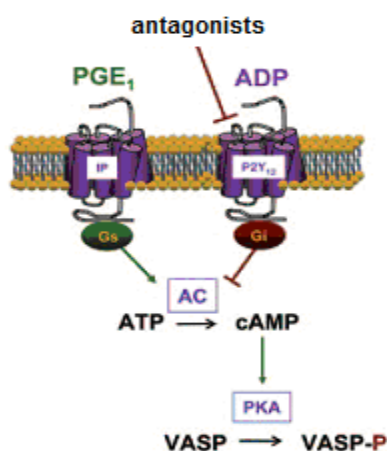
Darbības princips un ietekmējošie faktori

Plūsmas citometrija balstās uz specifisku antivielu saistīšanos ar attiecīgo šūnu receptoriem. Šīs antivielas ir konjugētas ar fluorohromu, kas fluoriscē pie noteikta viļņa garuma, kad tiek ierosināts. Dati tiek nolasīti un pārveidoti digitālā veidā, attēlojot tos CXP programmā. Ar antivielām saistītie fluorohromi ir jūtīgi pret gaismu, tāpēc jāseko ražotāja norādījumiem un inkubēšanas reakcijas jāveic tumsā.

VASP fosforilācijas analīzes teorētiskais pamatojums, izmantojot asins plūsmas citometru

PLT VASP/P2Y₁₂ kits ir paredzēts specifiskai trombocītu ADF receptoru (P2RY₁₂) antagonistu efektivitātes konstatēšanai. VASP ir intracelulārais trombocītu proteīns, kas normā sastopams nefosforilētā stāvoklī. VASP fosforilācija tiek regulēta ar

cAMP kaskādes tipa reakciju. PGE₁ aktivē šo reakciju, bet ADF caur P2Y₁₂ receptoriem inhibē šo kaskādi (skat. 2.2. attēlu).



2.2.att. Intracelulārā trombocītu proteīna (VASP) fosforilācijas mehānisms

[Michelson, 2008]

PGE₁ – prostaglandīns E₁, ADP – adenoīna difosfāts, AC – adenilciklāze, ATP – adenoīna trifosfāts, cAMP – cikliskais adenoīna monofosfāts, PKA – proteīnkināze A, VASP vazodilatatorstimulējošais fosfoproteīns, VASP-P – vazodilatatorstimulējošā fosfoproteīna fosforilācijas pakāpe.

Veicot testu, VASP-P korelē ar P2Y₁₂ receptoru inhibīcijas pakāpi, savukārt VASP nefosforilētais stāvoklis korelē ar P2Y₁₂ receptoru aktīvo formu.

Tienopiridīnu grupas medikamentu interindividuālā variabilitāte un rezistence tiek plaši pētīta. Šīs grupas medikamentu efekts var tikt pārbaudīts ar PLT VASP/P2Y₁₂, nosakot VASP-P pakāpi, paraugus apstrādājot ar PGE₁ vai ar PGE₁ un ADF vienlaicīgi.

Lai gan asins plūsmas citometrs pagaidām nepieder pie analīzes metodēm, ko izmanto ikdienas praksē, bet tas ir bieži sastopams literatūrā, lai definētu medikamentu rezistenci [Pampuch *et al.*, 2006]. VASP noteikšana pieder pie bioķīmisko testu metodēm, mērot antiagregantu inhibīcijas aktivitāti (klopidogrela gadījumā).

VASP līmenis ir marķieris trombocītu P2Y₁₂ receptoru aktivitātei, kas savukārt liecina par klopidogrela izraisīto inhibīcijas pakāpi. VASP ir nozīmīga loma GP receptoru IIb/IIIa aktīvās formas izveidē. Fosforilētā VASP forma ir neaktīva. Piesaistoties P2Y₁₂ trombocītu receptoram, ADF nodod intracelulāro signālu, kas nomāc fosforilētās VASP formas veidošanos. ADF inhibīcija ar klopidogrelu sekmē

VASP pārveidi fosforilētā formā [Williams *et al.*, 2009]. PGE1 palielina VASP fosforilācijas līmeni, stimulējot adenilciklāzi. ADF piesaistīšanās pie P2Y₁₂ receptoriem caur Gi izraisa adenilciklāzes inhibīciju. Tādējādi papildus pievienojot ADF pie ar PGE1 stimulētiem trombocītiem samazinās PGE1 izraisītas VASP fosforilācijas apjoms [Papathanasiou *et al.*, 2007, Michelson, 2008].

Ja P2Y₁₂ receptori tiek veiksmīgi inhibēti ar klopidoģrelu, pēc ADF papildu pievienošanas nesamazinās PGE1 stimulētais VASP fosforilācijas līmenis. Šis princips tiek izmantots metodes pamatā, kur fosforilētais VASP tiek iezīmēts ar monoklonālām antivielām.

P2Y₁₂ receptoru aktivitāte tiek aprēķināta, nosakot vidējo fluorescences intensitāti (MFI) paraugos ar PGE1 un PGE1+ADF [Cayla *et al.*, 2008, Aleil *et al.*, 2005]. Plūsmas citometra izmantošana ir dārga metode, bet tajā pašā laikā raksturo trombocītu aktivācijas specifisku ceļu caur P2Y₁₂ receptoriem, kurus inhibē klopidoģrels, līdz ar to samērā specifiska trombocītu agregācijas analīze [Kuliczowski *et al.*, 2009].

Metodes raksturojums

Asins paraugs tiek inkubēts ar PGE1 vai ar PGE1 un ADF. Pēc šūnu permeabilizācijas fosforilētais VASP tiek iezīmēts ar netiešo imunofluorescences metodi, izmantojot specifisku monoklonālo antivielu (16C2). Duāla krāsu plūsmas citometra analīze ļauj salīdzināt rādītāju divos testēšanas apstākļos un palielināt katra parauga ADF kapacitāti, inhibējot VASP fosforilāciju.

PRI tiek matemātiski aprēķināts, izmantojot iegūto MFI, inkubējot tikai ar PGE1 vai vienlaicīgi kopā ar ADPF.

VASP fosforilācijas analīze tika veikta, izmantojot PLT VASP/P2Y₁₂ reaģentu komplektu (BIOCYTEX, Francija).

Reaģenti:

Reaģents 1 – šķīdinātājs, 60 ml;

Reaģents 2a – PGE1;

Reaģents 2b – PGE1+ADF;

Reaģents 3 – fiksators;

Reaģents 4a – anti VASP-P peles monoklonālā antivielā + permeabilizācijas aģents;

Reaģents 4b – negatīvā izotopu kontrole (peles monoklonālā antivielā) + permeabilizācijas aģents;

Reaģents 5 – reaģents iezīmēšanai (iekrāsošanai), poliklonāla antivielā pret peles IgG-FITC + iezīmēto trombocītu skaitītājs.

Papildu nepieciešamie materiāli

1. Maisītājs (*vortex*);
2. Hronometrs;
3. Citometrs;
4. Atbilstošas pipetes (10µl, 1 un 2ml);
5. Hemolīzes caurulītes citometram;
6. Destilēts, dejonizēts vai injekciju ūdens.

Reaģentu sagatavošana un uzglabāšana

Neatvērtu analīžu kitu sastāvs ir nemainīgs līdz uz iepakojuma norādītajam derīguma termiņa beigām, uzglabājot 2–8°C temperatūrā. Nedrīkst sasaldēt! Reaģenti 1, 3, 4a, 4b un 5 – gatavi lietošanai, pēc atvēršanas stabilitāte saglabājas 2 mēnešus temperatūrā 2–8°C. Reaģenti 2a un 2b – pirms lietošanas jāatšķaida ar 400µl destilēta ūdens un jāveic homogenizācija, izmantojot maisītāju 5 sekundes. Pēc šādas sagataves reaģenti derīgi 1 mēnesi temperatūrā 2–8°C.

Asins parauga iegūšana PRI noteikšanai

Darbam tika izmantotas perifērās venozās asinis. Ne vēlāk kā 24 stundas pēc klopidoģrela PD saņemšanas asins paraugus savāca sertificēta medmāsa saskaņā ar sterilitātes noteikumiem, veicot jaunu vēnas punkciju, izmantojot vienreizējās lietošanas adatas un rezervuārus. Pirmie vismaz 5ml asiņu tika eliminēti, nākamās 5ml savācot plastikāta stobriņā ar 0,109M nātrija citrāta šķīdumu (*BD Vacutainer, Franklin Lakes, NJ, ASV*). Stobriņi ar asins paraugu līdz testēšanas sākumam aizvērtā veidā tika uzglabāti istabas temperatūrā (18–25°C). Asins paraugu analīzes rekomendēts veikt

48 stundu laikā pēc parauga paņemšanas. Šajā pētījumā mēs pieturējamies pie 12 stundu robežas.

Paraugu sagatavošanas procedūra

Paraugi analīzei tika sagatavoti atbilstoši ražotāja instrukcijām, paralēli veicot negatīvās kontroles. Ievērojot standarta laboratorijas prakses principus, no pacienta asins parauga ar mikropipeti, izmantojot maināmus uzgaļus ar filtriem, trīs plastikāta stobriņos ievadīti 10µl asiņu. Stobriņi marķēti ar pacienta kodu un kārtas numuriem T1, T2, T3.

1. Paraugu sagatavošanas sākumposms:

- T1 pievieno 10µl PGE1 šķīduma;
- T2 un T3 pievieno 10µl PGE1+ADF šķīduma;
- stobriņus 1–2 sekundes homogenizē ar maisītāju, izmantojot mazu ātrumu;
- inkubē paraugus 10 minūtes istabas temperatūrā.

2. Fiksācija:

- visiem stobriņiem pievieno 10µl paraformaldehīda šķīduma;
- stobriņus 1–2 sekundes homogenizē ar maisītāju;
- inkubē paraugus 5 minūtes istabas temperatūrā.

3. Šūnu membrānas permeabilizācija un imunoiezīmēšana:

- T1 un T2 pievieno 10µl šķīdumu ar monoklonālajām peļu anti-VASP-P antivielām un šūnu membrānu permeabilizācijas aģentu;
- T3 pievieno 10µl šķīdumu ar negatīvām izotipiskām kontroles antivielām (monoklonālās peļu antivielas) un šūnu permeabilizācijas aģentu;
- stobriņus 1–2 sekundes homogenizē ar maisītāju;
- inkubē paraugus 5 minūtes istabas temperatūrā.

4. Iezīmēšana ar fluorescentu aģentu:

- Visiem stobriņiem pievieno 10µl šķīduma ar poliklonālām anti-peļu IgG-FITC (fluorescēna izotiocianāta) iezīmētām antivielām, trombocītus iezīmējošām anti-CD61-PE (fikoeritrīna) antivielām, kā arī šūnu membrānu permeabilizācijas aģentu;
- stobriņus 1–2 sekundes homogenizē ar maisītāju;
- inkubē 5 minūtes istabas temperatūrā.

5. Šķīdinātāja pievienošana:

- Visiem stobriņiem pievieno 2ml šķīdinātāja;
- stobriņus 1–2 sekundes homogenizē ar maisītāju;
- inkubē 5 minūtes istabas temperatūrā.

Ja šādi sagatavoti paraugi netika analizēti uzreiz, atbilstoši instrukcijām tos uzglabāja 2–8 °C temperatūrā ne ilgāk par 2 stundām.

Analīze ar plūsmas citometru

Paralēli paraugu sagatavošanai, tika sagatavots darbam arī plūsmas citometrs (*Beckman Coulter FC Flow Cytometer Series, Beckman Coulter, Miami, Florida, ASV*), veikta plūsmas citometra kvalitātes kontrole pēc noteikta protokola. Apstarojot paraugus ar argona lāzera stariem, no ar fluorohromu FITC un PE iezīmētajām antivielām ieguva starojumu attiecīgi 495–521nm un 565–585nm frekvences diapazonā. FITC fluorohromu starojuma intensitāte korelē ar VASP-P koncentrāciju paraugā. T1 stobriņā, kam pievienots PGE1, fluorescence ir visaugstākā. T2 sagaidāma zemāka fluorescence, jo tika pievienots gan PGE1, gan ADF, kas inhibē VASP-P veidošanos. T3 stobriņš bija kontrole, tajā novērota viszemākā fluorescence intensitāte, jo tam papildu pievienotas negatīvās izotopiskās kontroles antivielas.

Katra pacienta parauga analīze tika veikta piecas reizes, katru reizi nosakot PRI, kā gala rezultātu aprēķinot vidējo rādītāju: $PRI_{vid} = (PRI_1 + PRI_2 + PRI_3 + PRI_4 + PRI_5)/5$.

Īegūto rezultātu interpretācija

PRI tika aprēķināts, izmantojot vidējās fluorescences intensitāti (MFI – *angl. mean fluorescence intensity*). Precīzu datu iegūšanai izmantoti koriģēti MFI (MFI_c – *angl. mean fluorescence intensity corrected*), ko aprēķināja no T1 (ar PGE_1) un T2 ($PGE_1 + ADP$) atņemot T3 MFI. MFI_c T1 un T2 stobriņiem aprēķina pēc formulas: $MFI_c(PGE_1) = MFI_{c(T1)} = MFI_{(T1)} - MFI_{(T3)}$; $MFI_c(PGE_1+ADP) = MFI_{c(T2)} = MFI_{(T2)} - MFI_{(T3)}$. PRI aprēķināja pēc šādas formulas: $PRI = (MFI_c(PGE_1) - MFI_c(PGE_1 + ADP)) / MFI_c(PGE_1) \times 100$.

PRI būtībā parāda, par cik procentiem ADF spēj samazināt maksimālo VASP-P koncentrāciju trombocītā.

VASP analīzei ar plūsmas citometra palīdzību ir būtiska priekšrocība, salīdzinot ar citām analīzes metodēm. Jau iepriekš minēts, ka *VerifyNow* kitus klopidoģrela noteikšanai nevar izmantot pacientu analīzei, kas pēdējo 48 stundu laikā saņēmuši GP IIb/IIIa receptoru antagonistus (piemēram, tirofibāns, eptifibatīds) vai pēdējo 14 dienu laikā abiciksimabu. Iemesls šim metodes trūkumam ir fibrinogēna saistīšanās pie GP IIb/IIIa receptoriem, kas ir pēdējais agregācijas posms, līdz ar to GP IIb / IIIa receptoru antagonistu klātbūtne var izraisīt mijiedarbību ar klopidoģrela analīzei paredzēto kitu sastāvu [Williams et al., 2009].

2.3.4. Datu statistiskās apstrādes metodes

Datu statistiskā apstrāde tika veikta ar SPSS programmu (*IBM SPSS Statistics Version 17, SPSS inc., ASV*). Par statistiski ticamiem rezultātiem tika uzskatīti dati ar p vērtību $<0,05$. Kvantitatīvie mainīgie tika aprakstīti ar aritmētisko vidējo un standartdeviāciju (SD). Gadījumos, kad sadalījums krasi atšķīrās no normālā, tika aprēķināta mediānā vērtība un standartklūda vai starpkvartiļu intervāls. Kategoriskie jeb kvalitatīvie mainīgie tika raksturoti kā skaits un procentuāla proporcija. Mainīgie, kuru dispersija krasi atšķīrās no normālās, tika transformēti, tuvinot dispersiju normālai, un tālākos aprēķinos tika izmantotas tikai transformētās vērtības. Normāli sadalīto kvantitatīvo mainīgo salīdzinājumi tika veikti ar Stjūdenta t-testu starp divām grupām vai ANOVA metodi starp trīs un vairāk grupām. Saistība starp diviem kvantitatīvajiem mainīgajiem, kā arī starp ģenētisko variāciju grupām un kvantitatīvo mainīgo tika analizēta ar lineārās regresijas metodi. Kategoriskie mainīgie tika salīdzināti ar Pīrsona (Pearson) χ^2 testu vai Fišera (Fisher) eksakto testu atbilstoši testu lietošanas

nosacījumiem. Ģenētisko faktoru ietekmes analīzei tika veiktas daudzmainīgās analīzes. Kvantitatīvo mainīgo analīzei tika izmantota multiplā lineārā regresija un ANCOVA metode. Kategoriskie mainīgie tika analizēti ar loģistiskās regresijas analīzi.

Novēroto genotipu atbilstība Hārdija-Veinberga līdzsvaram tika pārbaudīta ar χ^2 atbilstības testu (*Chi-square Goodness of Fit test*), salīdzinot novēroto un sagaidāmo genotipu biežumu. Sagaidāmais genotipu biežums tika aprēķināts pēc novēroto alēļu biežuma un to kombināciju varbūtības, lietojot formulu: $(p \times q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$, kur p – izplatītākās alēles sastopamības biežums, q – retākās alēles sastopamības biežums, pp , pq , qq – abu alēļu kombinācijas, kas veido attiecīgos genotipus.

3. REZULTĀTI

3.1. Pacientu vispārējs raksturojums

Laika posmā no 2010. gada septembra līdz 2012. gada decembrim notika PSKUS LKC stacionēto pacientu iekļaušana pētījumā atbilstoši pētījuma iekļaušanas un izslēgšanas kritērijiem. Šajā laika posmā pētījumā iekļauti 118 pacienti, no kuriem pēc pētījuma protokola atbilst 94 pacienti, kas izmantoti tālākai pētījuma rezultātu analīzei. No pētījuma tika izslēgti 24 pacienti, jo neatbilda pētījuma protokolam dažādu iemeslu dēļ, piemēram, nelietoja klopidoģrelu paredzētajā devā ($n=12$), ārstējošais ārsts nomainīja terapiju uz citu antiagregantu ($n=8$), atteicās no dalības pētījumā pēc sākotnējas piekrišanas vai neieradās uz paredzētajām apsekojuma vizītēm ($n=4$).

Pētījuma personu kopas fenotipiskais raksturojums (demogrāfiskie un riska faktori, laboratoriskie raksturlielumi un prehospitālā terapija) apkopots 3.1. tabulā. No pētījuma pacientiem lielākā daļa (75 pacienti; 79,8%) tika stacionēti plāna kārtā un tikai 19 pacienti (20,2%) akūtā kārtā PCI ar DES veikšanai. Pētījuma populācijā bija 50 vīrieši (53,2%). Vidējais pacientu vecums bija $63,0 \pm 9,7$ gadi, robežās no 37 līdz 81 gadiem. Izmantojot neatkarīgo izlašu t-testu, tika secināts, ka vidējais vecums starp dzimumiem atšķīrās statistiski ticami, attiecīgi sievietēm $65,6 \pm 9,4$ un vīriešiem $60,7 \pm 9,4$ ($t=2,504$; $p=0,014$). Vidējais KMI pacientiem bija $29,7 \pm 4,6$ kg/m^2 un tas statistiski ticami neatšķīrās starp dzimumiem, attiecīgi sievietēm $29,8 \pm 4,8$ kg/m^2 un vīriešiem $29,7 \pm 4,5$ kg/m^2 ($t=0,097$; $p=0,923$). Arī adipozitāte sastopama līdzīgi bieži starp abiem dzimumiem, attiecīgi 20 sievietēm (45,5%) un 20 vīriešiem (40,0%) ($p=0,677$). Vidējais vidukļa apkārtmērs pētāmajā populācijā bija $103,5 \pm 11,0$ cm un būtiski neatšķīrās starp dzimumiem, attiecīgi sievietēm $101,7 \pm 12,0$ cm un vīriešiem $105,2 \pm 10,1$ cm ($t=1,521$; $p=0,132$). CD bija 28 (29,8%) pacientiem. Stacionēšanas brīdī aspirīnu lietoja 71 (75,5%) pacients, klopidoģrela terapiju saņēma 6 (6,4%) pacienti.

Pētījuma personu kopas (n=94) neģenētisko parametru raksturojums

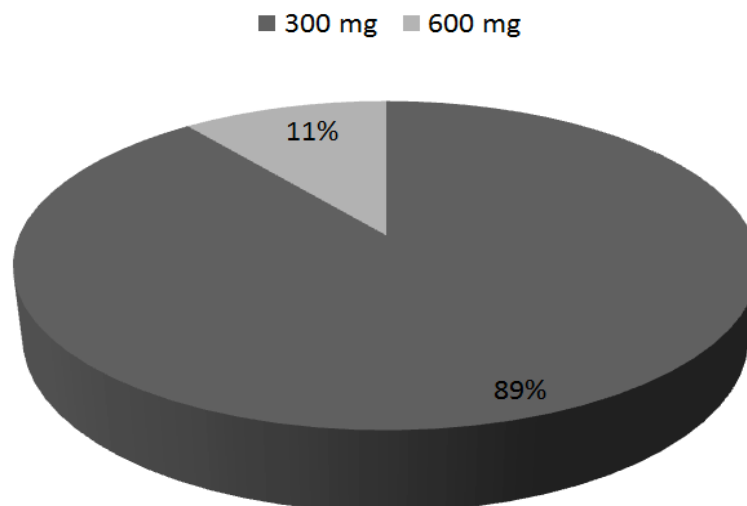
Parametrs	
Vecums (gadi), vidējais±SD	63,0±9,7
Dzimums – vīrieši, n (%)	50 (53,2)
ĶMI (kg/m ²), vidējais±SD	29,7±4,6
Adipozitāte (ĶMI >30kg/m ²), n (%)	40 (42,6)
Vidukļa apkārtmērs (cm), vidējais±SD	103,5±11,0
Aktīvs smēķētājs, n (%)	11 (11,7)
CD, n (%)	28 (29,8)
AH, n (%)	84 (89,4)
I pakāpe	14 (18,2)
II pakāpe	58 (75,3)
III pakāpe	5 (6,5)
HSM, n (%)	59 (64,1)
NYHA I	18 (30,5)
NYHA II	38 (64,4)
NYHA III	3 (5,1)
CABG anamnēzē, n (%)	2 (2,1)
PCI anamnēzē, n (%)	30 (31,9)
PCI indikācija, n (%)	
Stabila KSS	75 (79,8)
Nestabila stenokardija	9 (9,6)
STEMI	8 (8,5)
NSTEMI	2 (2,1)
Prehospitalā medikamentozā terapija, n (%)	
Aspirīns	71 (75,5)
Aspirīna deva: 50 mg/dienā	1 (1,5)
75 mg/dienā	15 (22,4)
100 mg/dienā	45 (67,1)
150 mg/dienā	6 (9,0)
Klopidogrels	6 (6,4)
PSI	12 (13,3)
PSI tips:	
Pantoprazols	6 (50,0)
Omeprazols	6 (50,0)
Statīni	68 (75,6)
BB	65 (72,2)
AKEI un A2RB	64 (71,1)
KKB	35 (38,9)
Nitrāti	17 (18,9)
Antiaritmiskie līdzekļi	1 (1,1)
Benzodiazepīni	3 (3,4)
Omega-3	16 (18,0)

Parametrs	
Laboratoriskie raksturlielumi, vidējais $\pm$ SD	
Leikocītu skaits, $10^9/l$	7,7 $\pm$ 2,2
Hemoglobīns, g/l	1,4 $\pm$ 0,2
Trombocītu skaits, $10^3/l$	224,7 $\pm$ 52,4
Fibrinogēns, g/l	3,4 $\pm$ 1,3
Kreatinīns, $\mu\text{mol/l}$	83,8 $\pm$ 23,7
Nieru filtrācijas ātrums, ml/min	63,2 $\pm$ 23,9
KH, mmol/l	4,6 $\pm$ 1,4
ABLH, mmol/l	1,2 $\pm$ 0,4
ZBLH, mmol/l	2,7 $\pm$ 1,1
TG, mmol/l	1,4 $\pm$ 0,9

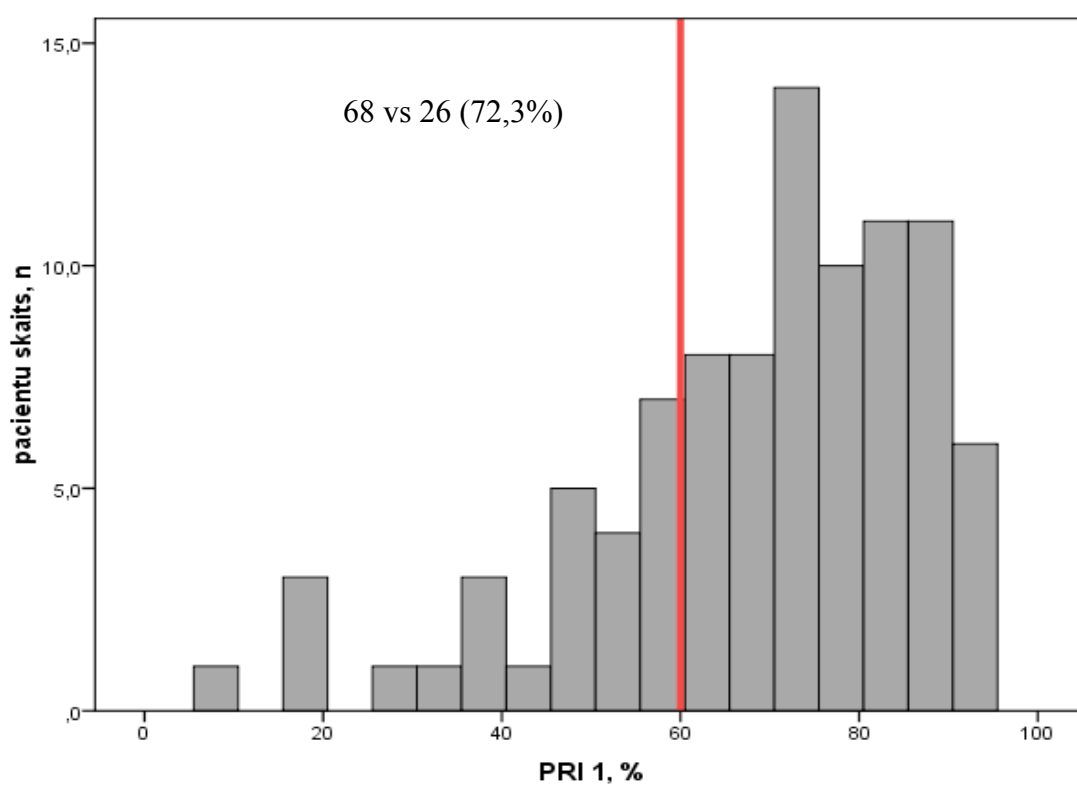
ķMI – ķermeņa masas indekss, CABG – koronāro artēriju šuntēšana, STEMI – miokarda infarkts ar ST segmenta elevācijām, NSTEMI – miokarda infarkts bez ST segmenta elevācijām, CD – cukura diabēts, MI – miokarda infarkts, PCI – perkutāna koronāra intervence, HSM – hroniska sirds mazspēja, AH – arteriāla hipertensija, PSI – protonu sūkņa inhibitori, BB – beta blokatori, KKB – kalcija kanālu blokatori, AKEI – angiotenzīna konvertējošā enzīma inhibitori, A2RB – angiotenzīna II receptoru blokatori, KH – kopējais holesterīns, ABLH – augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns, ZBLH – zema blīvuma lipoproteīnu holesterīns, TG – triglicerīdi, SD – standartdeviācija.

3.2. PRI variabilitāte pēc pirmās klopidoģrela PD

Pacienti pirms PCI saņēma klopidoģrela PD, attiecīgi 89,4% pacientu saņēma 300 mg, savukārt 10,6% – 600 mg (skat. 3.1. attēlu). Vidējais PRI1 pēc pirmās klopidoģrela standarta PD bija 68,4 $\pm$ 18,8%. Plāna pacientiem, kuri bija saņēmuši 300 mg klopidoģrela PD, PRI1 nebija statistiski ticami zemāks, salīdzinot ar akūtiem pacientiem, kuri saņēma lielāku (600 mg) klopidoģrela PD atbilstoši vadlīnijām (67,7 $\pm$ 19,6 vs 74,0 $\pm$ 8,0; $p=0,321$). Tika novērota liela PRI1 interindividuālā variabilitāte pētījuma pacientu vidū pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas, attiecīgi no 8% līdz 94%. Lielākai daļai no pacientiem pēc pirmās PD PRI bija virs 60% ($n=68$; 72,3%) (skat. 3.2. attēlu). Visiem pacientiem ar pirmo PD 600 mg PRI1 $\geq 60\%$.



3.1.att. Klopidoģrela standarta piesātinošās devas analīze



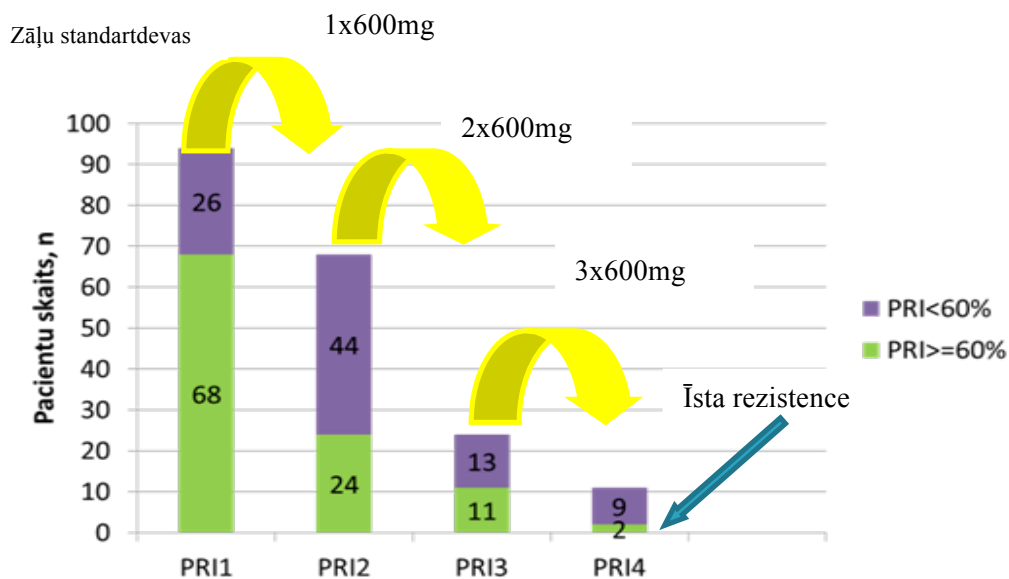
3.2.att. Trombocītu reaktivitātes indeksa variabilitāte pacientiem pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas

PRI1 – pirmā VASP PRI analīze, PRI – trombocītu reaktivitātes indekss.

3.3. Klopidoģrela papildu PD efekts pacientiem ar PRI1 $\geq 60\%$

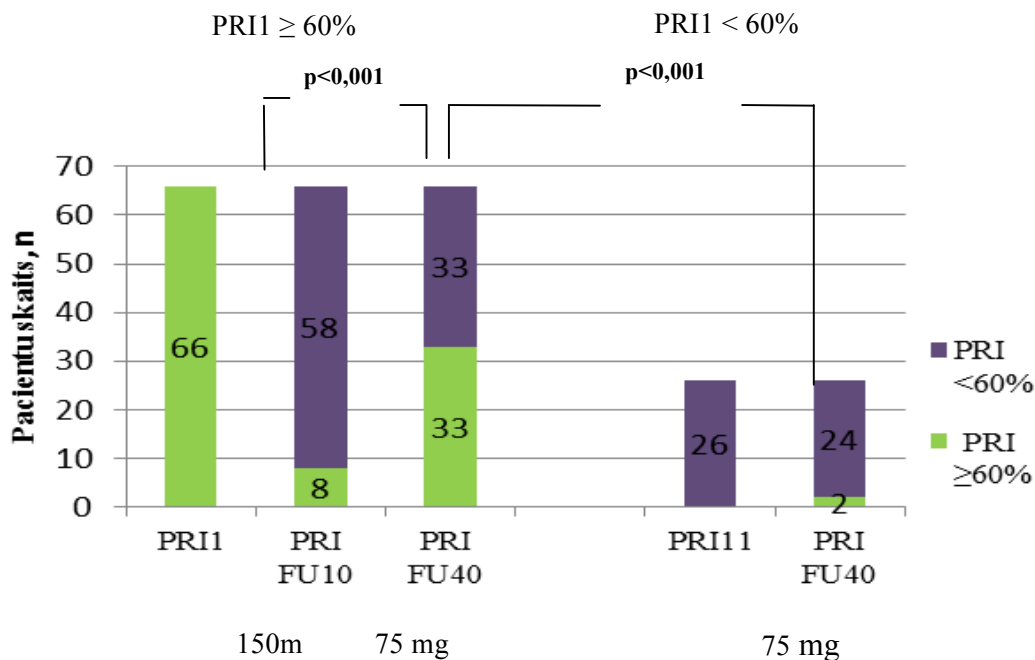
Pacienti saņēma papildu PD, lai iegūtu PRI $< 60\%$. Papildu PD efektivitāte redzama 3.3. attēlā. Mērķa PRI tika sasniegts pēc vienas, divām vai trīs papildu PD, attiecīgi 44 (46,8%), 13 (13,8%) un 9 (9,6%) pacientiem. Atbilstoši pētījuma protokolam biežāk pacienti saņēma vienu klopidoģrela papildu PD (n=42), retāk divas (n=12) vai trīs (n=10) papildu PD (skat. 3.5. attēlu). Pēc maksimālā papildu PD skaita saņemšanas tikai 2 pacientiem neizdevās iegūt PRI $< 60\%$, kuriem tika nozīmēta cita antiagreganta (tikagrelora) terapija, kura FUP analīzē pēc 40 dienām uzrādīja pārliecinošu efektivitāti, salīdzinot ar PRI4 ($73,0 \pm 4,2$ vs $12,0 \pm 1,4$; $p=0,042$) (skat. 3.6. attēlu).

Pilnas novērošanas analīzes laikā pacientiem ar pirmo PRI $\geq 60\%$ tika pārbaudīta dažādu UD efektivitāte, attiecīgi pēc 10 dienām – UD 150 mg / dienā un pēc 40 dienām – UD 75 mg / dienā, savukārt pacientiem ar pirmo PRI $< 60\%$ – kontrole tikai pēc 40 dienām (UD 75 mg / dienā). Rezultāti par PRI variabilitāti atkarībā no dažādām UD apkopoti 3.4. attēlā. Tikai 8 (12,1%) pacientiem ar PRI1 $\geq 60\%$ paaugstinātas UD (150 mg / dienā) lietošanas laikā novēroja neapmierinošu atbildes reakciju uz klopidoģrela terapiju (PRI FU10 $\geq 60\%$), kas bija statistiski ticami retāk, salīdzinot ar standarta UD atbilstoši vadlīnijām (75 mg / dienā), kad PRI FU40 $\geq 60\%$ konstatēja 33 (50,0%) pacientiem ($p < 0,001$). Pacientiem ar PRI1 $< 60\%$ statistiski ticami retāk (n=2; 7,7%) novēroja neapmierinošu klopidoģrela atbildes reakciju standarta UD lietošanas laikā pēc 40 dienām nekā pacientiem ar PRI1 $\geq 60\%$ ($p < 0,001$).



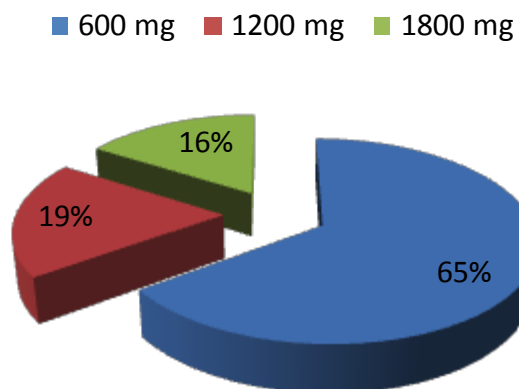
3.3.att. PRI rezultāti pacientiem, kam pielietotas papildu PD (600mg) (n=94)

PRI1 – pirmā VASP PRI analīze, PRI2, PRI3, PRI4 – attiecīgi PRI pēc pirmās, otrās un trešās klopidoģrela papildu PD saņemšanas.

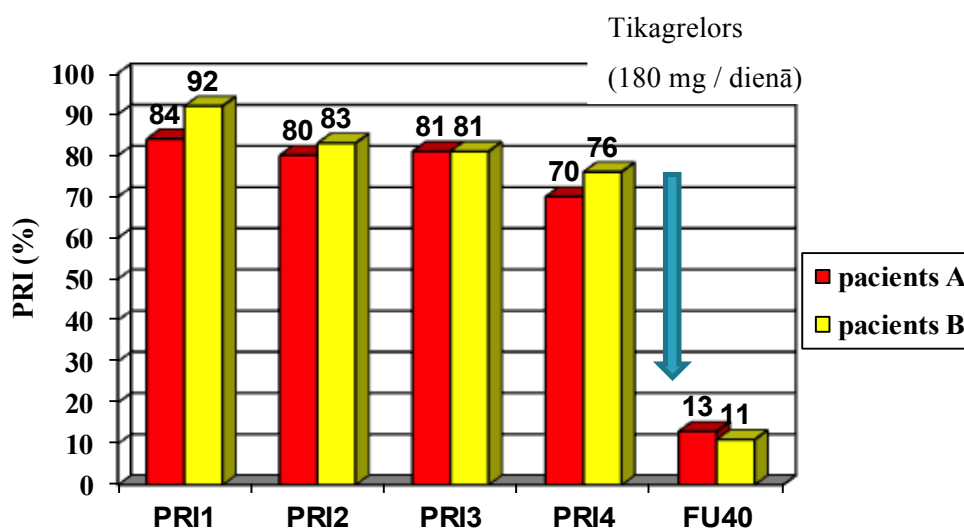


3.4.att. VASP PRI rezultāti pacientiem ar pirmo PRI ≥ 60% un PRI < 60% un pilnu novērojumu (n=66 vs 26)*

*Izņemot pacientus ar tikagrelora terapiju. Aprēķinos izmantots *Chi-square* tests. PRI1 – pirmā VASP PRI analīze, PRI FU10 – 10. dienas apsekošanas vizītes PRI analīze, PRI FU40 – 40. dienas apsekošanas vizītes PRI analīze.



3.5. att. Klopidoġrela papildu PD raksturojums pacientiem ar PRI1 $\geq 60\%$



3.6.att. Pacienti ar klopidoġrela rezistenci

PRI1 – pirmā VASP PRI analīze, PRI2, PRI3, PRI4 – attiecīgi PRI pēc pirmās, otrās un trešās klopidoġrela papildu PD saņemšanas. PRI FU40 – 40. dienas apsekošanas vizītes PRI analīze.

3.4. Rezistentu pacientu raksturojums

Pacients A

Sieviete, 69 g.v. Stacionēta plāna kārtā ar diagnozi stabila stenokardija, saņēmusi klopidoģrelu 300mg PD. ŖMI 40,0 kg/m², nesmēķē. Arteriāla hipertensija 40 gadus, HSM II FK (NYHA). MI, CD, CI, HNS anamnēzē noliedz, PCI un CABG iepriekš nav veikta.

Lietotie medikamenti: aspirīns, statīni, BB, AKEI/A2RB, KKB; klopidoģrelu iepriekš nav lietojusi. Stacionārā KH 7,2 mmol/l, ABLH 1,17 mmol/l, ZBLH 4,8 mmol/l, TG 2,6 mmol/l. Genotips CYP2C19*2 – AG, CYP2C19*17 – CT, CYP2C9*2 – CC, CYP2C9*3 – AA.

VASP rezultāti: PRI = 84%, 80%, 81%, 70%; uzsākts tikagrelors (FU40 VASP PRI = 13%).

Pacients B

Sieviete, 48 g.v. Stacionēta plāna kārtā ar diagnozi stabila stenokardija, saņēmusi klopidoģrelu 300 mg PD. ŖMI 33,0 kg/m², bijusi smēķētāja (35 pac.g.), pārtraukusi mazāk kā pirms gada. Primāra AH 2. pakāpe 10 gadus, HSM I FK (NYHA), neinsulinējams CD 10 gadus. MI, CI, HNS anamnēzē noliedz, PCI un CABG iepriekš nav veikta.

Lietotie medikamenti: aspirīns, statīni, BB, AKEI/A2RB; klopidoģrelu iepriekš nav lietojusi. Stacionārā KH 3,7 mmol/l, ABLH 1,01 mmol/l, ZBLH 2,0 mmol/l, TG 1,4 mmol/l, glikoze 7,9 mmol/l. Genotips CYP2C19*2 – AG, CYP2C19*17 – CC, CYP2C9*2 – CC, CYP2C9*3 – AA.

VASP rezultāti: PRI = 92%, 83%, 81%, 76%; uzsākts tikagrelors (FU40 VASP PRI = 11%).

3.5. Pacientu kopas ģenētiskais raksturojums

Ģenētisko analīžu rezultāti un alēļu biežums pacientu kopā parādīts 3.2. tabulā. CYP2C19*5 polimorfismam atkārtoti nebija izdevies noteikt genotipu trīs pacientiem. Tā kā šajā polimorfismā nenovēroja genotipu variācijas, turpmāki šī genotipa noteikšanas mēģinājumi šiem pacientiem netika veikti. Analizētie polimorfismi bija

Hārdija-Veinberga līdzsvarā. Ģenētiskās analīzes tika veiktas 93 pacientiem, jo viens pacients no tām attiecās pētījuma laikā.

3.2. tabula

Ģenētiskās variācijas pacientu kopā

Polimorfisms	Genotips	Pacientu skaits, n (%)	p	Alēle	Alēles prevalence
CYP2C19					
CYP2C19*2	GG (wt/wt)	71 (76,3)	0,686	G	0,876 (163)
(G681A/	AG (wt/*2)	21 (22,6)		A	0,124 (23)
rs4244285) ‡	AA (*2/*2)	1 (1,1)			
CYP2C19*3	GG (wt/wt)	92 (98,9)	0,958	G	0,995 (185)
(G636A/	AG (wt/*3)	1 (1,1)		A	0,005 (1)
rs4986893)					
CYP2C19*5	CC (wt/wt)	90 (100,0)	NA	C	1,000 (90)
(C1297T/	CT (wt/*5)				
rs56337013)					
CYP2C19*17	CC (wt/wt)	36 (38,7)	0,523	C	0,634 (118)
(C806T/	CT (wt/*17)	46 (49,5)		T	0,366 (68)
rs12248560)	TT (*17/*17)	11 (11,8)			
CYP2C9					
CYP2C9*2	CC (wt/wt)	86 (92,5)	0,706	C	0,962 (179)
(C430T/	CT (wt/*2)	7 (7,5)		T	0,038 (7)
rs1799853)					
CYP2C9*3	AA (wt/wt)	79 (84,9)	0,433	A	0,925 (172)
(A1075C/	CA (wt/*3)	14 (15,1)		C	0,075 (14)
rs1057910)					
ABCB1					
ABCB1	CC	17 (18,2)	0,410	C	0,452 (84)
(C3435T/	CT	50 (53,8)		T	0,548 (102)
rs1045642)	TT	26 (28,0)			

‡Iekavās kursīvā norādītas nukleotīdu izmaiņas un kārtas numuri Nacionālajā Biotehnoloģiju Informācijas centra SNP (*single-nucleotide polymorphism*) datubāzē (bdSNP). NA – nav piemērojams (*angl. non-applicable*). Ar wt apzīmēta biežāk sastopamā (*wild-type*) neizmainītas funkcijas citohroma alēle.

3.6. PRI variabilitāte atkarībā no genotipa

3.6.1. PRI1 rezultāti atkarībā no *CYP2C19*, *CYP2C9* un *ABCB1* genotipiem

Vidējie PRI1 rezultāti katrā polimorfismu grupā apkopoti 3.3. tabulā. PRI1 bija augstāks gan *CYP2C19*2* alēles homozigotam (*2/*2), gan heterozigotiem (wt/*2), salīdzinot ar neizmainītas funkcijas alēles nēsātājiem (wt/wt), attiecīgi $89,0 \pm 0$, $77,7 \pm 13,2$ un $65,3 \pm 19,5$ ($p=0,016$). Vismaz vienas *CYP2C19*2* alēles nēsātāji (wt/*2 un

*2/*2) uzrādīja statistiski ticami augstāku PRI1, salīdzinot ar normālu genotipu (wt/wt), attiecīgi 78,2±13,1 un 65,3±19,5; p=0,005 (skat. 3.7. attēlu).

*CYP2C19**17 paaugstinātas funkcijas alēles nēsātājiem (wt/*17 un *17/*17) novēroja tendenci uz samazinātu PRI, salīdzinot ar neizmainītas funkcijas alēles nēsātājiem (wt/wt), attiecīgi 64,7±20,7; 68,7±20,8 un 73,0±15,0. *ABCB1* genotipam TT homozigoti uzrādīja augstāku PRI, salīdzinot ar šīs alēles heterozigotiem, attiecīgi 72,8±16,9 un 66,5±18,7. Pārējiem polimorfismiem nenovēro būtisku ietekmi uz PRI.

Pirmās klopidogrela piesātinošās devas efektivitāte genotipu grupās attēlota 3.4. tabulā. Pacientu prevalence ar vismaz vienu *CYP2C19**2 samazinātas funkcijas alēli bija statistiski ticami augstāka grupā ar PRI1 ≥60%, salīdzinot ar neizmainītas funkcijas alēles nēsātājiem, attiecīgi 86,4% (19/22) un 67,6% (48/71); p=0,087 (skat. 3.8. attēlu).

3.3. tabula

Vidējās PRI1 vērtības polimorfismu genotipu grupās (n = 93)		
Polimorfisms	PRI1, % (SD)	p
<i>CYP2C19</i> *2		
wt/wt	65,3 (19,5)	0,016
wt/*2	77,7 (13,2)	
*2/*2	89,0 (-)	
<i>CYP2C19</i> *3		
wt/wt	68,2 (19,0)	0,472
wt/*3	82,0 (-)	
<i>CYP2C19</i> *17		
wt/wt	73,0 (15,0)	0,140
wt/*17	64,7 (20,7)	
*17/*17	68,7 (20,8)	
<i>CYP2C9</i> *2		
wt/wt	68,6(18,9)	0,687
wt/*2	65,6 (20,6)	
<i>CYP2C9</i> *3		
wt/wt	69,1 (17,7)	0,385
wt/*3	64,3 (25,2)	
<i>ABCB1</i>		
CC	67,0 (22,5)	0,379
CT	66,5 (18,7)	
TT	72,8 (16,9)	

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests (2 grupām) un one-way ANOVA variācijas analīze (3 grupām), attēloti vidējie rezultāti. PRI1 – pirmā VASP PRI analīze pēc pirmās klopidogrela standarta PD saņemšanas.

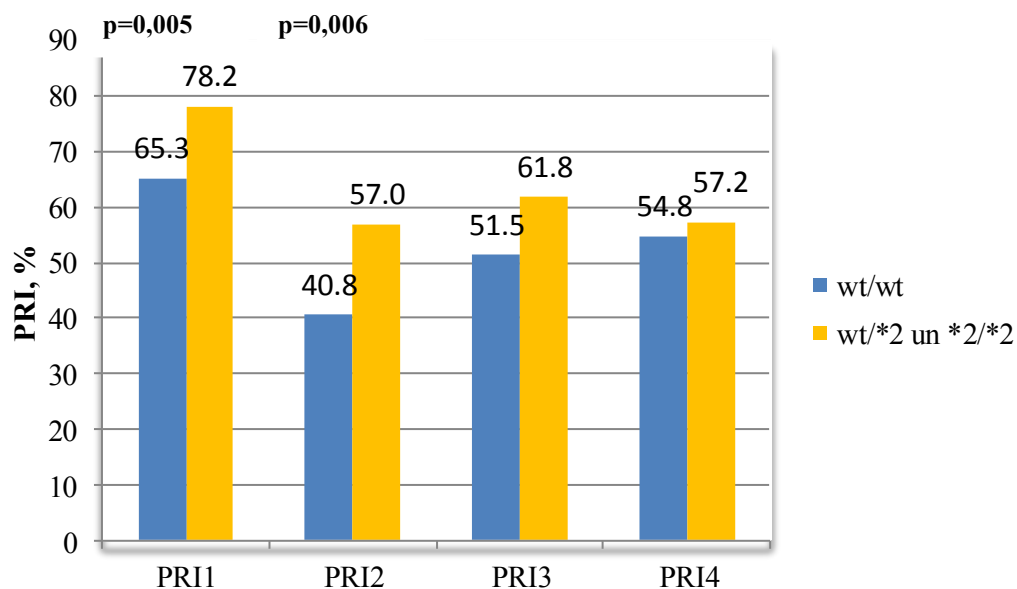
Pacientu procentuālais sadalījums pēc PRI1 atkarībā no *CYP2C19**17 genotipa attēlots 3.9. attēlā. Pacienti ar *CYP2C19**17 neizmainītas funkcijas alēlēm (wt/wt) biežāk bija grupā ar PRI $\geq 60\%$ nekā pacientu grupā ar PRI $< 60\%$, attiecīgi 80,6% un 19,4% ($p=0,146$).

3.4. tabula

Pirmās klopidoģrela piesātinošās devas efekts genotipu grupās (n = 93)

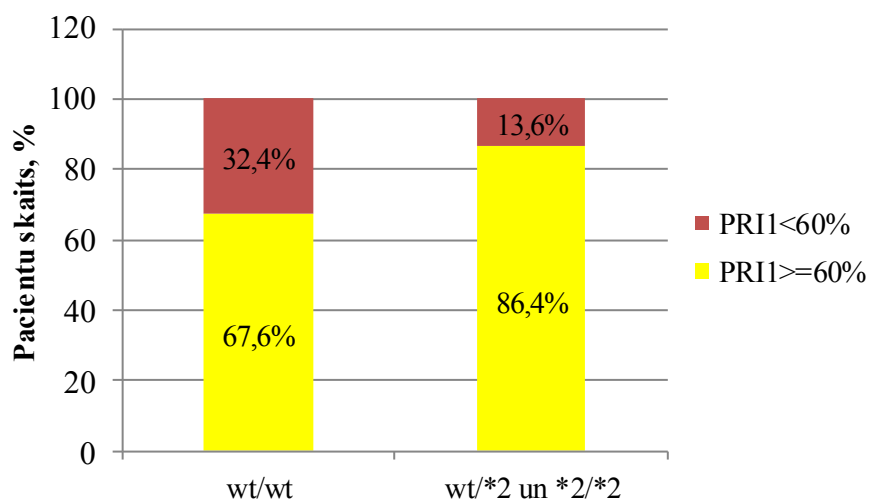
Polimorfisms	PRI1 ≥60%, n (%)	p
<i>CYP2C19</i> *2		
wt/wt	48/71 (67,6)	0,220
wt/*2	18/21 (85,7)	
*2/*2	1/1 (100,0)	
<i>CYP2C19</i> *3		
wt/wt	66/92 (71,7)	1,000
wt/*3	1/1 (100,0)	
<i>CYP2C19</i> *17		
wt/wt	29/36 (80,6)	0,307
wt/*17	30/46 (65,2)	
*17/*17	8/11 (72,7)	
<i>CYP2C9</i> *2		
wt/wt	63/86 (73,4)	0,361
wt/*2	4/7 (57,1)	
<i>CYP2C9</i> *3		
wt/wt	58/79 (73,4)	0,488
wt/*3	9/14 (64,3)	
<i>ABCB1</i>		
CC	11/17 (64,7)	0,683
CT	36/50 (72,0)	
TT	20/26 (76,9)	

Aprēķinos izmantots *Chi-square* tests. PRI1 – pirmā VASP PRI analīze pēc pirmās klopidoģrela standarta PD saņemšanas. Iekavās norādīti procenti no kopējā pacientu skaita ar šādu genotipu.



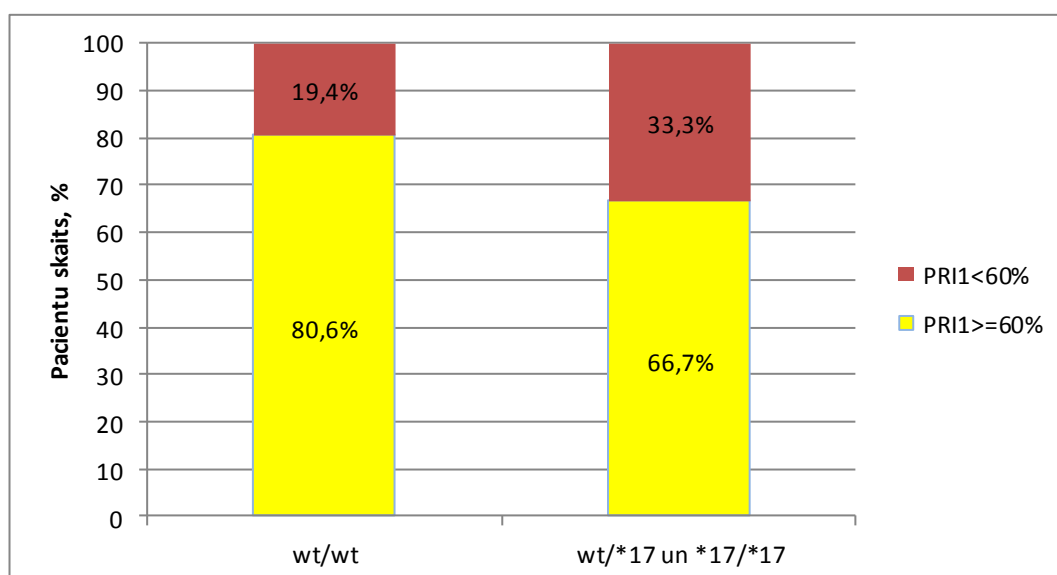
3.7. att. PRI variabilitāte atkarībā no *CYP2C192 genotipa pēc klopidoģrela papildu PD (n=93)**

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests, attēloti vidējie rezultāti. PRI1 – pirmā VASP PRI analīze, PRI2, PRI3, PRI4 – attiecīgi PRI pēc pirmās, otrās un trešās klopidoģrela papildu PD saņemšanas.



3.8. att. Pirmās klopidoģrela PD efektivitātes atšķirības no *CYP2C192 genotipa**

Aprēķinos izmantots *Chi-square* tests. PRI1 – pirmā VASP PRI analīze pēc pirmās klopidoģrela standarta PD saņemšanas. Attēloti procenti no kopējā pacientu skaita ar šādu genotipu.



3.9. att. Pirmās klopidoģrela PD efektivitātes atšķirības no *CYP2C19**17 genotipa

Aprēķinos izmantots *Chi-square* tests. PRI1 – pirmā VASP PRI analīze pēc pirmās klopidoģrela standarta PD saņemšanas. Attēloti procenti no kopējā pacientu skaita ar šādu genotipu.

3.6.2. PRI2 rezultāti atkarībā no *CYP2C19*, *CYP2C9* un *ABCB1* genotipiem

Pacientu rezultāti, kuriem pēc klopidoģrela standarta PD $PRI \geq 60\%$ ($n=67$) un kuri saņēmuši pirmo klopidoģrela papildu PD, apkopoti 3.5. un 3.6. tabulā.

*CYP2C19**2 vismaz vienas samazinātas funkcijas alēles nēsātājiem vidējais PRI2 bija statistiski ticami augstāks, salīdzinot ar neizmainītas funkcijas alēles nēsātājiem, attiecīgi $57,0 \pm 19,1$ un $40,8 \pm 21,5$; $p=0,006$. Pēc pirmās klopidoģrela papildu PD novēroja statistiski ticami mazāku PRI samazinājumu *CYP2C19**2 vismaz vienas samazinātas funkcijas alēles nēsātājiem, salīdzinot ar normāla genotipa pacientiem ($25,5 \pm 15,6$ un $35,5 \pm 16,8$; $p=0,025$). Pēc pirmās klopidoģrela papildu PD pacientu grupā ar novērotu hiporesponsivitāti ($PRI2 \geq 60\%$) statistiski ticami biežāk bija pacienti ar *CYP2C19**2 alēli, salīdzinot ar pacientiem bez šī polimorfisma, attiecīgi *2/*2 – 100%, wt/*2 – 55,6% un wt/wt – 27,1%; $p=0,040$ (skat. 3.6.tabulu). Šāda tendence pacientiem ar *CYP2C19**2 genotipu saglabājās arī pēc otrās un trešās papildu PD saņemšanas (skat. 3.7. līdz 3.10. tabulu).

*CYP2C19**17 vismaz vienas pastiprinātas funkcijas alēles nēsātājiem novēroja mazāku PRI2, salīdzinot ar neizmainītas funkcijas alēles nēsātājiem, attiecīgi $43,9 \pm 22,9$ un $47,4 \pm 20,9$; $p=0,517$. Šīs alēles ietekme vērojama arī pēc pirmās klopidoģrela papildu

PD, kad PRI samazinājums bija lielāks pacientiem ar *CYP2C19**17, salīdzinot ar neizmainītas funkcijas alēles nēsātājiem ($33,3 \pm 17,8$ un $31,7 \pm 16,2$; $p=0,705$).

Citu apskatīto genotipu grupās šādas atšķirības netika novērotas.

3.5. tabula

Vidējās PRI2 un vidējās Δ PRI1-2 vērtības katrā genotipa grupā (n=67)*

Polimorfisms	n	Vid. PRI2, % (SD)	p	Vid. ΔPRI-PRI2, %p (SD)	p
<i>CYP2C19</i> *2					
wt/wt	48	40,8 (21,5)	0,006	35,5 (16,8)	0,025
wt/*2 un *2/*2	19	57,0 (19,1)		25,2 (15,6)	
<i>CYP2C19</i> *17					
wt/wt	29	47,4 (20,9)	0,517	31,7 (16,2)	0,705
wt/*17un *17/*17	38	43,9 (22,9)		33,3 (17,8)	
<i>CYP2C19</i> *3					
wt/wt	66	45,1 (22,0)	0,398	32,8 (17,1)	0,392
wt/*3	1	64,0 (-)		18,0 (-)	
<i>CYP2C9</i> *2					
wt/wt	63	45,5 (21,9)	0,878	32,3 (17,1)	0,659
wt/*2	4	43,8 (27,3)		36,3 (17,4)	
<i>CYP2C9</i> *3					
wt/wt	58	44,7 (22,5)	0,525	32,9 (17,5)	0,691
wt/*3	9	49,8 (19,2)		30,4 (14,3)	
<i>ABCB1</i>					
CC	11	49,6 (21,9)	0,504	32,9 (17,1)	0,719
CT/TT	56	44,6 (22,1)		30,8 (17,3)	

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests, attēloti vidējie rezultāti (SD). PRI2 – VASP PRI otrā analīze, %p – procentpunkti, Δ PRI1-2 – izmaiņas PRI rādītājos pēc pirmās klopidogrela papildu PD saņemšanas.

Pirmās klopidoģrela papildu PD efekts katrā genotipa grupā (n=67)

Polimorfisms	PRI2 ≥60%, n (%)	p
<i>CYP2C19</i> *2		
wt/wt	13/48 (27,1)	0,040
wt/*2	10/18 (55,6)	
*2/*2	1/1 (100,0)	
<i>CYP2C19</i> *3		
wt/wt	23/66 (34,8)	0,358
wt/*3	1/1 (100,0)	
<i>CYP2C19</i> *17		
wt/wt	11/29 (37,9)	0,789
wt/*17	11/30 (36,7)	
*17/*17	2/8 (25,0)	
<i>CYP2C9</i> *2		
wt/wt	22/63 (34,9)	0,614
wt/*2	2/4 (50,0)	
<i>CYP2C9</i> *3		
wt/wt	21/58 (36,2)	1,000
wt/*3	3/9 (33,3)	
<i>ABCB1</i>		
CC	5/11 (45,5)	0,597
CT	11/36 (30,6)	
TT	8/20 (40,0)	

Aprēķinos izmantots *Chi-square* tests. PRI2 – VASP PRI analīze pēc pirmās klopidoģrela papildu PD saņemšanas. Iekavās norādīti procenti no kopējā pacientu skaita ar šādu genotipu.

3.6.3. PRI3 rezultāti atkarībā no *CYP2C19*, *CYP2C9* un *ABCB1* genotipiem

Pacientu rezultāti, kuriem pēc klopidoģrela standarta PD un pirmās papildu PD PRI ≥60% (n=24) un kuri saņēmuši otro klopidoģrela papildu PD, apkopoti 3.7. un 3.8. tabulā. *CYP2C19**2 alēles nēsātājiem PRI atšķirības saglabājas arī pēc otrās klopidoģrela papildu PD saņemšanas, attiecīgi *CYP2C19**2 alēles klātbūtnē PRI bija augstāks nekā pacientiem bez šī polimorfisma ($61,8 \pm 11,6$ un $51,5 \pm 15,2$; $p=0,078$). Lai gan vidējais PRI šī genotipa grupās statistiski ticami neatšķīrās, tomēr PRI

samazinājums pēc otrās klopidoģrela papildu PD saglabāja statistiski ticamu atšķirību, attiecīgi $9,0 \pm 5,9$ pacientiem ar vismaz vienu *CYP2C19**2 samazinātas funkcijas alēli un $18,9 \pm 10,2$ pacientiem ar neizmainītas funkcijas (wt/wt) alēlēm ($p=0,009$). *CYP2C9**2 heterozigoti biežāk bija hiporesponsivitātes grupā, salīdzinot ar pacientiem bez šī polimorfisma (skat. 3.8. tabulu). *CYP2C19**17 alēles nēsātājiem bija vērojama tendence uz mazāku vidējo PRI3 un izteiktāku PRI samazinājumu pēc otrās klopidoģrela papildu PD saņemšanas (skat. 3.7. tabulu). *CYP2C19**17 polimorfismu vidū netika novērotas statistiski ticamas prevalences atšķirības hiporesponsivitātes grupā pēc otrās klopidoģrela papildu PD (skat. 3.8. tabulu).

3.7. tabula

Vidējās PRI3 un vidējās Δ PRI2-3 vērtības katrā genotipa grupā (n=24)

Polimorfisms	n	Vid. PRI3, % (SD)	p	Vid. Δ PRI2- PRI3, %p (SD)	p
<i>CYP2C19</i> *2					
wt/wt	13	51,5 (15,2)	0,078	18,9 (10,2)	0,009
wt/*2 un */2/*2	11	61,8 (11,6)		9,0 (5,9)	
<i>CYP2C19</i> *17					
wt/wt	11	59,6 (13,1)	0,293	11,1 (7,6)	0,131
wt/*17 un */17/*17	13	53,3 (15,3)		17,2 (10,8)	
<i>CYP2C19</i> *3					
wt/wt	23	56,7 (14,5)	0,398	14,1 (9,9)	0,567
wt/*3	1	44,0 (-)		20,0 (-)	
<i>CYP2C9</i> *2					
wt/wt	22	56,8 (14,3)	0,503	14,1 (9,9)	0,729
wt/*2	2	49,5 (19,1)		17,5 (10,6)	
<i>CYP2C9</i> *3					
wt/wt	21	55,6 (14,8)	0,607	14,9 (10,1)	0,533
wt/*3	3	60,3 (12,3)		11,0 (7,8)	
<i>ABCB1</i>					
CC	5	50,2 (9,8)	0,304	20,6 (5,0)	0,110
CT/TT	19	57,8 (15,2)		12,7 (10,1)	

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests, attēloti vidējie rezultāti (SD). PRI3 – VASP PRI trešā analīze, %p – procentpunkti, Δ PRI2-3 – izmaiņas PRI rādītājos pēc otrās klopidoģrela papildu PD saņemšanas.

Otrās klopidoģrela papildu PD efekts katrā genotipa grupā (n=24)

Polimorfisms	PRI3 ≥60%, n (%)	p
<i>CYP2C19</i> *2		
wt/wt	5/13 (38,5)	0,464
wt/*2	5/10 (50,0)	
*2/*2	1/1 (100,0)	
<i>CYP2C19</i> *3		
wt/wt	11/23 (47,8)	1,000
wt/*3	0/1 (0,0)	
<i>CYP2C19</i> *17		
wt/wt	6/11 (54,5)	0,688
wt/*17	4/11 (36,4)	
*17/*17	1/2 (50,0)	
<i>CYP2C9</i> *2		
wt/wt	10/22 (45,5)	1,000
wt/*2	1/2 (50,0)	
<i>CYP2C9</i> *3		
wt/wt	10/21 (47,6)	1,000
wt/*3	1/3 (33,3)	
<i>ABCB1</i>		
CC	1/5 (20,0)	0,420
CT	6/11 (54,5)	
TT	4/8 (50,0)	

Aprēķinos izmantots *Chi-square* tests. PRI3 – trešā VASP PRI analīze pēc otrās klopidoģrela papildu PD saņemšanas. Iekavās norādīti procenti no kopējā pacientu skaita ar šādu genotipu.

3.6.4. PRI4 rezultāti atkarībā no *CYP2C19*, *CYP2C9* un *ABCB1* genotipiem

Pacientu rezultāti, kuriem pēc klopidoģrela standarta PD un divām papildu PD PRI ≥60% (n=11) un kuri bija saņēmuši trešo klopidoģrela papildu PD, apkopoti 3.9. un 3.10. tabulā.

Gan *CYP2C19**2, gan *CYP2C19**17 alēles nēsātājiem iepriekš esošās tendences praktiski bija izzudušas. To var izkaidrot ar nelielo pacientu skaitu, kuriem bija nepieciešama trešā klopidoģrela papildu PD atbilstoši pētījuma devu stratēģijai.

3.9. tabula

Vidējās PRI4 un vidējās ΔPRI3-4 vērtības katrā genotipa grupā (n=11)

Polimorfisms	n	Vid. PRI4, % (SD)	p	Vid. ΔPRI3- PRI4, %p (SD)	p
<i>CYP2C19</i> *2					
wt/wt	5	54,8 (2,0)	0,731	11,0 (5,7)	0,814
wt/*2 un *2/*2	6	57,2 (14,7)		12,3 (11,1)	
<i>CYP2C19</i> *17					
wt/wt	6	57,0 (10,4)	0,775	11,5 (6,7)	0,930
wt/*17 un *17/*17	5	55,0 (11,8)		12,0 (11,4)	
<i>CYP2C9</i> *2					
wt/wt	10	57,2 (10,4)	0,292	11,1 (8,8)	0,476
wt/*2	1	45,0 (-)		18,0 (-)	
<i>CYP2C9</i> *3					
wt/wt	10	55,9 (11,1)	0,860	11,3 (9,0)	0,630
wt/*3	1	58,0 (-)		16,0 (-)	
<i>ABCB1</i>					
CC	1	55,0 (-)	0,920	6,0 (-)	0,516
CT/TT	10	56,2 (11,1)		12,3 (8,9)	

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests, attēloti vidējie rezultāti (SD). PRI4 – VASP PRI ceturtā analīze, %p – procentpunkti, ΔPRI3-4 – izmaiņas PRI rādītājos pēc trešās klopidoģrela papildu PD saņemšanas.

Trešās klopidoģreļa papildu PD efekts katrā genotipa grupā (n=11)

Polimorfisms	PRI4 ≥60%, n (%)	p
<i>CYP2C19*2</i>		
wt/wt	0/5 (0,0)	0,231
wt/*2	2/5 (40,0)	
*2/*2	0/1 (0,0)	
<i>CYP2C19*17</i>		
wt/wt	1/6 (16,7)	0,837
wt/*17	1/4 (25,0)	
*17/*17	0/1 (0,0)	
<i>CYP2C9*2</i>		
wt/wt	2/10 (20,0)	1,000
wt/*2	0/1 (0,0)	
<i>CYP2C9*3</i>		
wt/wt	2/10 (20,0)	1,000
wt/*3	0/1 (0,0)	
<i>ABCB1</i>		
CC	0/1 (0,0)	0,837
CT	1/6 (16,7)	
TT	1/4 (25,0)	

Aprēķinos izmantots *Chi-square* tests. PRI4 – ceturtā VASP PRI analīze pēc trešās klopidoģreļa papildu PD saņemšanas. Iekavās norādīti procenti no kopējā pacientu skaita ar šādu genotipu.

**3.6.5. 10. un 40. dienas apsekošanas vizītes PRI rezultāti atkarībā no *CYP2C19*,
CYP2C9 un *ABCB1* genotipiem**

*CYP2C19*2* vismaz vienas samazinātas funkcijas alēles nēsātājiem (wt/*2 un *2/*2), kuriem PRI1 $\geq 60\%$, desmit dienu FUP vizītē PRI bija statistiski ticami augstāks, saņemot klopidoģreļa palielinātu UD (150 mg/dienā), salīdzinot ar šī genotipa neizmainītas funkcijas alēles homozigotiem (53,3 $\pm$ 12,1 un 40,3 $\pm$ 13,5; p=0,001). Šī tendence saglabājās arī 40. dienas FUP vizītes laikā, lietojot klopidoģreli devā 75 mg/dienā, attiecīgi 65,5 $\pm$ 10,4 un 56,3 $\pm$ 14,5; p=0,020 (skat. 3.11. un 3.13. tabulu). Gan 10. dienas, gan 40. dienas apsekošanas vizīšu laikā klopidoģreļa hiporesponsivitātes

grupā biežāk bija pacienti ar vismaz vienu *CYP2C19**2 samazinātas funkcijas alēli. (skat. 3.12. līdz 3.14. tabulu). Pārējo genotipu starpā netika novērotas statistiski ticamas PRI atšķirības (skat. 3.11. līdz 3.14. tabulu).

3.11. tabula

Klopidogrela 150mg UD efekts polimorfismu genotipu grupās (n=65)**

Polimorfisms	PRI FU10, % (SD)	p
<i>CYP2C19</i> *2		
wt/wt	40,3 (13,5)	0,001
wt/*2	51,9 (10,9)	
*2/*2	76,0 (-)	
<i>CYP2C19</i> *3		
wt/wt	43,1 (14,6)	0,362
wt/*3	47,8 (11,8)	
<i>CYP2C19</i> *17		
wt/wt	45,5 (15,1)	0,665
wt/*17	42,1 (14,6)	
*17/*17	43,3 (9,7)	
<i>CYP2C9</i> *2		
wt/wt	43,8 (13,8)	0,805
wt/*2	42,0 (23,0)	
<i>CYP2C9</i> *3		
wt/wt	43,1 (14,6)	0,362
wt/*3	47,8 (11,8)	
<i>ABCB1</i>		
CC	45,6 (12,0)	0,595
CT	42,1 (15,1)	
TT	46,2 (14,2)	

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests (2 grupām) un one-way ANOVA variācijas analīze (3 grupām), attēloti vidējie rezultāti (SD). PRI FU10 – 10. dienas apsekošanas PRI analīze; ** – analīzē nav iekļauti pacienti, kuri saņēma tikagrelora terapiju.

Klopidogrela 150mg UD efekts polimorfismu genotipu grupās

Polimorfisms	PRI FU10 ≥60%, n (%)	p
<i>CYP2C19*2</i>		
wt/wt	3/48 (6,3)	0,004
wt/*2	4/16 (25,0)	
*2/*2	1/1 (100,0)	
<i>CYP2C19*3</i>		
wt/wt	8/64 (12,5)	1,000
wt/*3	0/1 (0,0)	
<i>CYP2C19*17</i>		
wt/wt	5/28 (17,9)	0,363
wt/*17	3/29 (10,3)	
*17/*17	0/8 (0,0)	
<i>CYP2C9*2</i>		
wt/wt	7/61 (11,5)	0,417
wt/*2	1/4 (25,0)	
<i>CYP2C9*3</i>		
wt/wt	7/56 (12,5)	1,000
wt/*3	1/9 (11,1)	
<i>ABCB1</i>		
CC	1/11 (9,1)	0,842
CT	4/35 (11,4)	
TT	3/19 (15,8)	

Aprēķinos izmantots *Chi-square* tests, iekavās norādīti procenti no kopējā pacientu skaita ar šādu genotipu, PRI FU10 – 10. dienas apsekošanas PRI analīze; ** – analīzē nav iekļauti pacienti, kuri saņēma tikagrelora terapiju.

**Klopidogrela 75mg UD efekts polimorfismu genotipu grupās pacientiem ar
PRI_I≥60% (n=65)****

Polimorfisms	PRI FU40, % (SD)	p
<i>CYP2C19*2</i>		
wt/wt	56,3 (14,5)	0,043
wt/*2	64,7 (10,2)	
*2/*2	78,0 (-)	
<i>CYP2C19*3</i>		
wt/wt	59,5 (13,7)	0,247
wt/*3	53,7 (15,8)	
<i>CYP2C19*17</i>		
wt/wt	58,7 (11,8)	0,982
wt/*17	59,0 (16,2)	
*17/*17	57,9 (14,3)	
<i>CYP2C9*2</i>		
wt/wt	59,0 (14,3)	0,588
wt/*2	55,0 (9,6)	
<i>CYP2C9*3</i>		
wt/wt	59,5 (13,7)	0,247
wt/*3	53,7 (15,8)	
<i>ABCB1</i>		
CC	62,1 (13,6)	0,688
CT	58,1 (14,0)	
TT	57,9 (14,8)	

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests (2 grupām) un one-way ANOVA variācijas analīze (3 grupām), attēloti vidējie rezultāti (SD). PRI FU40 – 40. dienas apsekošanas PRI analīze; ** – analīzē nav iekļauti pacienti, kuri saņēma tikagrelora terapiju.

**Klopidogrela 75mg UD efekts polimorfismu genotipu grupās pacientiem ar PRI $\geq$ 60%
(n=65)****

Polimorfisms	PRI FU40 $\geq$60%, n (%)*	p
<i>CYP2C19</i> *2		
wt/wt	20/48 (41,7)	0,042
wt/*2	12/16 (75,0)	
*2/*2	1/1 (100,0)	
<i>CYP2C19</i> *3		
wt/wt	32/64 (50,0)	1,000
wt/*3	1/1 (100,0)	
<i>CYP2C19</i> *17		
wt/wt	13/28 (46,4)	0,803
wt/*17	16/29 (55,2)	
*17/*17	4/8 (50,0)	
<i>CYP2C9</i> *2		
wt/wt	32/61 (52,5)	0,355
wt/*2	1/4 (25,0)	
<i>CYP2C9</i> *3		
wt/wt	30/56 (53,6)	0,303
wt/*3	3/9 (33,3)	
<i>ABCB1</i>		
CC	5/11 (45,5)	0,532
CT	20/35 (57,1)	
TT	8/19 (42,1)	

Aprēķinos izmantots *Chi-square* tests, iekavās norādīti procenti no kopējā pacientu skaita ar šādu genotipu, PRI FU10 – 10. dienas apsekošanas PRI analīze; ** – analīzē nav iekļauti pacienti, kuri saņēma tikagrelora terapiju.

Analizējot visu pētījumā iekļauto pacientu PRI atšķirības atkarībā no genotipa 40. dienas FUP vizītes laikā, redzams, ka *CYP2C19**2 samazinātas funkcijas alēles nēsātājiem tendence PRI būt augstākam saglabājas statistiski ticama ($p=0,006$), ko nenovēro pārējo analizēto genotipu polimorfismu grupās (skat. 3.15. un 3.16. tabulu). Visā pētījuma pacientu grupā PRI FU40 bija augstāks pacientiem ar vismaz vienu *CYP2C19**2 samazinātas funkcijas alēli, lietojot klopidogrela UD 75 mg/dienā ($63,1\pm 11,3$ un $50,3\pm 17,1$; $p=0,002$). Mērķa PRI $<60\%$ gan ar klopidogrela palielinātu

UD, gan ar standarta UD statistiski ticami retāk tika sasniegts *CYP2C19**2 samazinātas funkcijas alēles nēsātājiem, salīdzinot ar neizmainītas funkcijas alēles nēsātājiem, attiecīgi ar UD 150 mg/dienā 70,6% un 93,8%; $p=0,024$ un ar UD 75 mg/dienā 23,5% un 58,5%; $p=0,014$.

3.15. tabula

Klopidogrela 75mg UD efekts polimorfismu genotipu grupās (n=91)**

Polimorfisms	PRI FU40, % (SD)	p
<i>CYP2C19*2</i>		
wt/wt	50,3 (17,1)	0,006
wt/*2	62,3 (11,0)	
*2/*2	78,0 (-)	
<i>CYP2C19*3</i>		
wt/wt	52,8 (16,6)	0,095
wt/*3	81,0 (-)	
<i>CYP2C19*17</i>		
wt/wt	53,4 (15,4)	0,984
wt/*17	52,8 (18,6)	
*17/*17	53,5 (14,6)	
<i>CYP2C9*2</i>		
wt/wt	53,7 (17,0)	0,228
wt/*2	45,7 (13,5)	
<i>CYP2C9*3</i>		
wt/wt	53,9 (16,8)	0,299
wt/*3	48,8 (17,0)	
<i>ABCB1</i>		
CC	57,7 (16,1)	0,404
CT	51,3 (17,2)	
TT	53,6 (16,5)	

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests (2 grupām) un one-way ANOVA variācijas analīze (3 grupām), attēloti vidējie rezultāti (SD). PRI FU40 – 40. dienas apsekošanas PRI analīze; ** – analīzē nav iekļauti pacienti, kuri saņēma tikagrelora terapiju.

Klopidogrela 75mg UD efekts polimorfismu genotipu grupās (n=91)**

Polimorfisms	PRI FU40 ≥60%, n (%)	p
<i>CYP2C19*2</i>		
wt/wt	22/71 (31,0)	0,017
wt/*2	12/19 (63,2)	
*2/*2	1/1 (100,0)	
<i>CYP2C19*3</i>		
wt/wt	34/90 (37,8)	0,385
wt/*3	1/1 (100,0)	
<i>CYP2C19*17</i>		
wt/wt	13/35 (37,1)	0,955
wt/*17	18/45 (40,0)	
*17/*17	4/11 (36,4)	
<i>CYP2C9*2</i>		
wt/wt	34/84 (40,5)	0,243
wt/*2	1/7 (14,3)	
<i>CYP2C9*3</i>		
wt/wt	31/77 (40,3)	0,554
wt/*3	4/14 (28,6)	
<i>ABCB1</i>		
CC	6/17 (35,3)	0,882
CT	20/49 (40,8)	
TT	9/25 (36,0)	

Aprēķinos izmantots *Chi-square* tests, iekavās norādīti procenti no kopējā pacientu skaita ar šādu genotipu, PRI FU40 – 40. dienas apsekošanas PRI analīze; ** – analīzē nav iekļauti pacienti, kuri saņēma tikagrelora terapiju.

Veicot daudzmainīgo analīzi (MVA – *multivariate analysis*), ABLH abu FUP vizīšu laikā bija statistiski ticami saistīts ar klopidogrela efektu atkarībā no *CYP2C19*2* genotipa (skat. 3.17. un 3.18. tabulu).

10. dienas FUP PRI rezultātu saistība ar *CYP2C192, ņemot vērā citus riska faktorus**

Mainīgais	B	p
<i>CYP2C19</i> *2	9,674	0,002
PRI1	0,168	0,308
Δ PRI1-2	-0,351	<0,001
ĶMI	-0,005	0,985
TG	1,894	0,236
Glikoze	-0,426	0,532
ABLH	-8,553	0,019

Analīzē izmantota multiplās lineārās regresijas metode. PRI1 – pirmā VASP PRI analīze pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas, Δ PRI1-2 – izmaiņas PRI rādītājos pēc pirmās klopidoģrela papildu PD saņemšanas (%p), ĶMI – ķermeņa masas indekss (kg/m^2), TG – triglicerīdi (mmol/l), ABLH – augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns.

40. dienas FUP PRI rezultātu saistība ar *CYP2C192, ņemot vērā riska faktorus**

Mainīgais	B	p
<i>CYP2C19</i> *2	1,892	0,658
PRI1	0,244	0,322
Δ PRI1-2	-0,050	0,711
ĶMI	-0,024	0,956
TG	-1,304	0,556
Glikoze	-0,721	0,477
ABLH	-14,198	0,011

Analīzē izmantota multiplās lineārās regresijas metode. PRI1 – pirmā VASP PRI analīze pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas, Δ PRI1-2 – izmaiņas PRI rādītājos pēc pirmās klopidoģrela papildu PD saņemšanas (%p), ĶMI – ķermeņa masas indekss (kg/m^2), TG – triglicerīdi (mmol/l), ABLH – augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns.

3.6.6. PD skaits atkarībā no *CYP2C19*, *CYP2C9* un *ABCB1* genotipiem

PD skaita atkarība no ģenētiskā polimorfisma analizēta 3.19. tabulā. Pacientiem ar vismaz vienu *CYP2C19**2 samazinātas funkcijas alēli (wt/*2 un */*2) biežāk nepieciešamas vairākas atkārtotas papildu PD pētījuma mērķa sasniegšanai (PRI <60%), salīdzinot ar neizmainītas funkcijas alēles nēsātājiem (wt/wt), attiecīgi PRI1, PRI2,

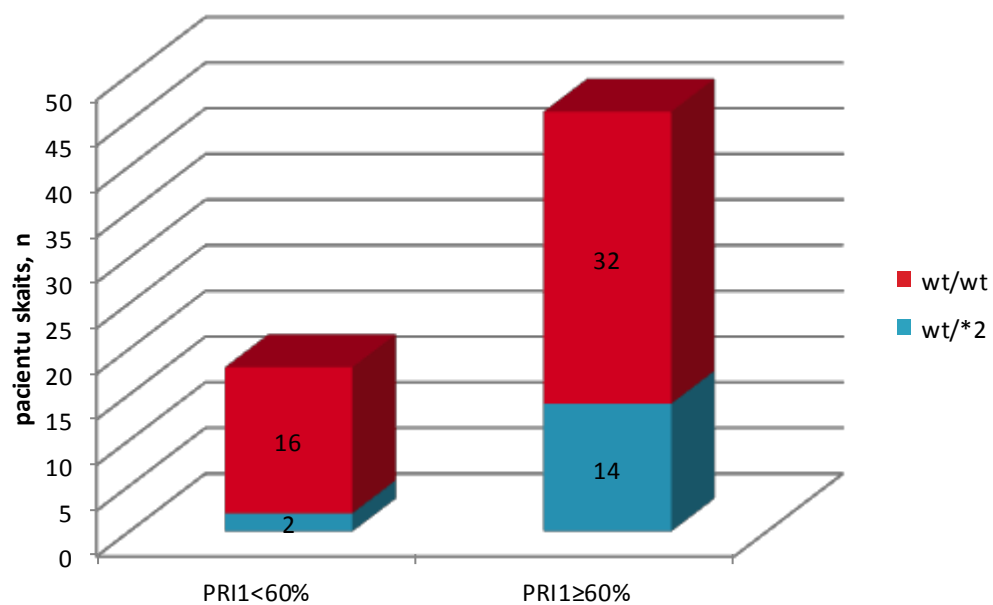
PRI3, PRI4: 18,2%, 36,4%, 22,7%, 22,7% un 36,6%, 46,5%, 9,9%, 7,0%; $p=0,043$. Pacienti ar *CYP2C19**2 normālu genotipu (wt/wt) visbiežāk nepieciešama tikai viena klopidoģrela papildu PD (46,5%), salīdzinot ar pacientiem ar šī genotipa samazinātas funkcijas alēlēm, kuriem bieži nepieciešama vēl trešā un ceturrtā klopidoģrela PD. Kopumā pacienti ar pētījumā analizēto genotipu gan samazinātas, gan neizmainītas funkcijas alēlēm biežāk bija grupā ar novērotu hiporesponsivitāti pēc standarta klopidoģrela PD saņemšanas (skat. 3.10 līdz 3.13. attēlu), kas pamato klopidoģrela papildu PD izmantošanu atbilstoši pētījuma stratēģijai.

3.19. tabula

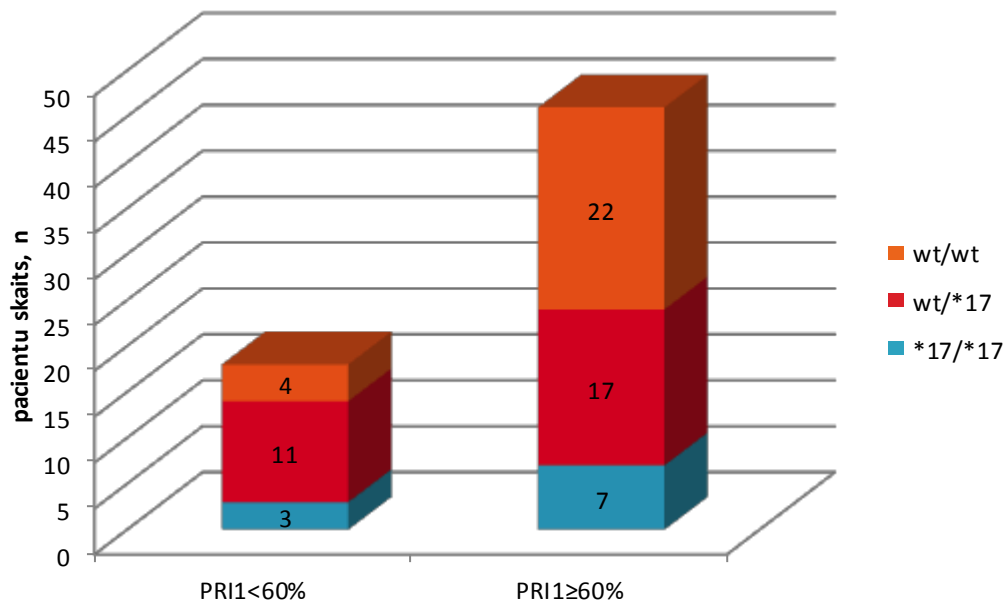
Saņemto klopidoģrela PD skaita salīdzinājums starp genotipiskām pacientu grupām (n=93)

Polimorfisms	Genotips (n)	PD1,	PD2,	PD3,	PD4,	p
		n (%)*	n (%)	n (%)	n (%)	
<i>CYP2C19</i> *2	GG (71)	26 (36,6)	33 (46,5)	7 (9,9)	5 (7,0)	0,072
	AG (21)	3 (14,3)	8 (38,1)	5 (23,8)	5 (23,8)	
	AA (1)	1 (100,0)	-	-	-	
<i>CYP2C19</i> *2	GG (71)	26 (36,6)	33 (46,5)	7 (9,9)	5 (7,0)	0,043
	AG/AA (22)	4 (18,2)	8 (36,4)	5 (22,7)	5 (22,7)	
<i>CYP2C19</i> *17	CC (36)	9 (25,0)	14 (47,2)	5 (13,9)	5 (13,9)	0,852
	CT (46)	18 (39,1)	18 (39,1)	6 (13,0)	4 (8,7)	
	TT (11)	3 (32,3)	6 (54,5)	1 (9,1)	1 (9,1)	
<i>CYP2C19</i> *17	CC (36)	9 (25,0)	17 (47,2)	5 (13,9)	5 (13,9)	0,643
	CT/TT (57)	21 (36,8)	24 (42,1)	7 (12,3)	5 (8,8)	
<i>CYP2C9</i> *2	CC (86)	27 (31,4)	39 (45,3)	11 (12,8)	9 (10,5)	0,855
	CT (7)	3 (42,9)	2 (28,6)	1 (14,3)	1 (14,3)	
<i>CYP2C9</i> *3	AA (79)	25 (31,6)	35 (44,3)	10 (12,7)	9 (11,4)	0,962
	CA (14)	5 (35,7)	6 (42,9)	2 (14,3)	1 (7,1)	
<i>ABCB1</i>	CC (17)	7 (41,2)	6 (35,3)	3 (17,6)	1 (5,9)	0,786
	CT (26)	17 (34,0)	23 (46,0)	5 (10,0)	5 (10,0)	
	TT (50)	6 (23,1)	12 (46,2)	4 (15,4)	4 (15,4)	
<i>ABCB1</i>	CC (17)	7 (41,2)	6 (35,3)	3 (17,6)	1 (5,9)	0,637
	CT/TT (76)	23 (30,3)	35 (46,1)	9 (11,8)	9 (11,8)	

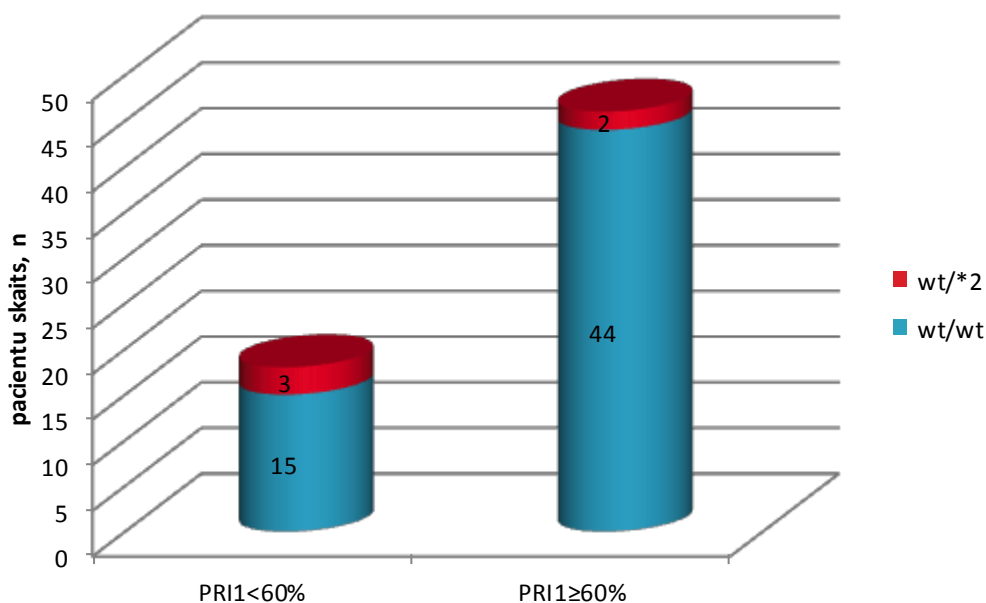
Aprēķinos izmantots *Chi-square* tests, iekavās norādīti procenti no kopējā pacientu skaita ar šādu genotipu. PD1 – klopidoģrela standarta piesātinošā deva; PD2, PD3, PD4 – attiecīgi pirmā, otrā, trešā klopidoģrela papildu piesātinošā deva.



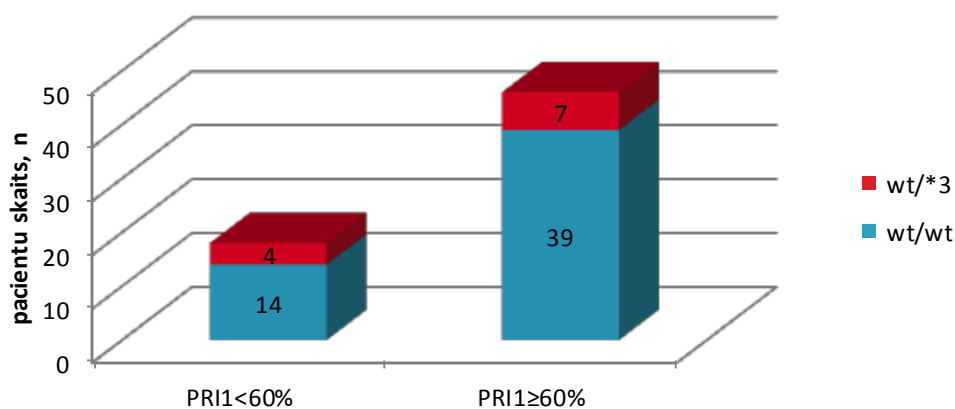
3.10. att. Pirmās klopidogrela PD atšķirības no *CYP2C19**2 genotipa



3.11. att. Pirmās klopidogrela PD atšķirības no *CYP2C19**17 genotipa



3.12.att. Pirmās klopidoģrela PD atšķirības no *CYP2C92 genotipa**



3.13.att. Pirmās klopidoģrela PD atšķirības no *CYP2C93 genotipa**

3.7. Prehospitālās farmakoterapijas un esošu slimību ietekme uz PRI

Analizējot pacientu prehospitāli lietoto zāļu saistību ar PRI, novēroja, ka pacientiem, kuri iepriekš bija lietojuši klopidoģrelu, bija raksturīgs zemāks vidējā PRI1 rezultāts $\pm$ SD, salīdzinot ar pacientiem bez iepriekš saņemtas klopidoģrela terapijas, attiecīgi $49,8 \pm 16,0$ un $69,7 \pm 18,4$. Izmantojot atkarīgo izlašu t-testu, tika secināts, ka vidējais PRI1 rezultāts pacientiem ar un bez klopidoģrela terapijas prehospitālajā

periodā atšķīrās statistiski ticami ($t=2,568$; $p=0,012$). Starp citu saņemto zāļu prehospitālo terapiju un PRI1 rezultātu netika novērotas statistiski ticamas atšķirības (skat. 3.20. tabulu). Izmantojot dispersiju analīzi (ANOVA), tika secināts, ka PRI1 rezultāts statistiski ticami atšķīrās pie dažādām aspirīna devām ($F=4,668$; $p=0,005$), savukārt pie dažādiem PSI tiptiem netika novērota PRI1 rezultāta statistiski ticama atšķirība ($F=4,365$; $p=0,063$).

3.20. tabula

PRI1 vidējā rezultāta variabilitāte atkarībā no prehospitālās farmakoterapijas

Prehospitālā terapija		Pacientu skaits (n)	Vidējais PRI1	SD	t	p
Klopidogrels	jā	6	49,8	16,0	2,568	0,012
	nē	88	69,7	18,4		
Aspirīns	jā	71	67,1	19,9	1,337	0,187
	nē	23	72,3	14,8		
(acetilsalicilskābe)						
PSI	jā	12	72,6	21,0	0,774	0,441
	nē	78	68,1	18,5		
BB	jā	65	70,1	19,2	1,181	0,244
	nē	25	65,0	17,6		
Statīni	jā	68	68,8	20,0	0,145	0,885
	nē	22	68,2	15,0		
KKB	jā	35	71,8	17,1	1,296	0,199
	nē	55	66,7	19,7		
AKEI un A2RB	jā	64	67,9	20,2	0,679	0,499
	nē	26	70,5	15,0		
Nitrāti	jā	17	69,7	21,4	0,238	0,813
	nē	73	68,4	18,3		

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests, attēloti vidējie rezultāti (SD). PSI – protonu sūkņa inhibitori, BB – beta blokatori, KKB – kalcija kanālu blokatori, AKEI – angiotenzīna konvertējošā enzīma inhibitori, A2RB – angiotenzīna II receptoru blokatori.

Tika veikta arī PRI1 vidējo rezultātu analīze atkarībā no pacientu slimībām anamnēzē. Izmantojot atkarīgo izlašu t-testu, tika secināts, ka vidējais PRI1 rezultāts pacientiem ar un bez insulta atšķīrās statistiski ticami ($t=2,106$; $p=0,038$). Starp citām pacientiem esošām slimībām un PRI1 rezultātu netika novērotas statistiski ticamas atšķirības (skat. 3.21. tabulu).

PRI1 vidējā rezultāta variabilitāte atkarībā no pacientu klīniskām diagnozēm

Klīniskā diagnoze		Pacientu skaits (n)	Vidējais PRI1	SD	t	p
CD	jā	28	66,5	21,9	0,629	0,531
	nē	66	69,2	17,5		
MI	jā	33	68,3	17,9	0,030	0,976
	nē	61	68,4	19,5		
PCI	jā	30	65,8	19,2	0,898	0,372
	nē	64	69,6	18,7		
HSM	jā	59	70,2	18,8	1,278	0,204
	nē	33	65,0	19,2		
AH	jā	84	68,9	19,2	0,705	0,482
	nē	8	63,9	17,9		
HNS	jā	2	67,5	12,0	0,052	0,958
	nē	89	68,2	19,2		
CI	jā	6	53,0	24,6	2,106	0,038
	nē	88	69,4	18,1		

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests, attēloti vidējie rezultāti (SD). CD – cukura diabēts, MI – miokarda infarkts, PCI – perkutāna koronāra intervence, HSM – hroniska sirds mazspēja, AH – arteriāla hipertensija, HNS – hroniska nieru slimība, CI – cerebrāls infarkts.

3.8. Vispārējo un anamnēzes datu salīdzinājums atkarībā no PRI1

Atsevišķu pamata demogrāfisko faktoru, anamnēzes un lietoto medikamentu ziņā vērojamas statistiski ticamas atšķirības starp pacientiem ar paaugstinātu PRI1 $\geq 60\%$ un pacientiem ar PRI1 $< 60\%$ pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas (skat. 3.22. tabulu). Pacientiem ar PRI1 $\geq 60\%$ novēroja lielāku KMI, attiecīgi $30,7 \pm 4,8 \text{ kg/m}^2$ un $27,1 \pm 2,8 \text{ kg/m}^2$ ($p=0,001$), statistiski ticami biežāk novēroja arī adipozitāti, attiecīgi 35 (51,5%) un 5 (19,2%) pacientiem ($p=0,005$). Pacientu grupā ar PRI1 $< 60\%$ biežāk bija pacienti, kuri jau pirms PCI ambulatori bija lietojuši klopidoģrelu, attiecīgi 5 (19,2%) un 1 (1,5%) pacients ($p=0,006$). Pacientu grupā ar PRI1 $\geq 60\%$ novēroja statistiski ticamu tendenci biežākai PSI lietošanai ($p=0,046$). Lai gan pantoprazola lietotāju skaits abās grupās bija vienāds ($n=3$), visi pacienti, kuri ambulatori bija saņēmuši omeprazolu, bija grupā ar PRI1 $\geq 60\%$. Omega-3 taukskābes biežāk ambulatori bija lietojuši pacienti no grupas ar PRI1 $< 60\%$ ($n=8$; 33,3%), salīdzinot ar pacientu grupu ar PRI $\geq 60\%$ ($n=8$; 12,3%) ($p=0,022$). Starp citiem ambulatori lietotiem medikamentiem un PRI grupām

nenovēroja būtiskas atšķirības. Citas statistiski ticamas atšķirības starp trombocītu reaktivitāti un intrahospitālo terapiju, laboratoriskiem raksturlielumiem netika novērotas.

3.22. tabula

Vispārējie un anamnēzes dati pacientiem ar PRI1 $\geq 60\%$ un PRI1 $< 60\%$

	PRI1$<60\%$ (n=26)	PRI1$\geq 60\%$ (n=68)	p
Vecums (gadi), vidējais $\pm$ SD	63,6 $\pm$ 10,9	62,8 $\pm$ 9,2	0,713
Vīrieši, n (%)	13 (50,0)	37 (54,4)	0,701
ĶMI (kg/m ²), vidējais $\pm$ SD	27,1 $\pm$ 2,8	30,7 $\pm$ 4,8	0,001
Adipozitāte (ĶMI >30 kg/m ²), n (%)	5 (19,2)	35 (51,5)	0,005
MI anamnēzē, n (%)	8 (30,8)	25 (36,8)	0,586
HSM, n (%)	15 (57,7)	44 (66,7)	0,473
NYHA I	7 (46,7)	11 (25,0)	
NYHA II	8 (53,3)	30 (68,2)	0,209
NYHA III	-	3 (6,8)	
CABG, n (%)	1 (3,8)	1 (1,5)	0,643
Kardiovaskulārie riska faktori, n (%)			
Aktīvs smēķētājs	2 (7,7)	9 (13,4)	0,556
CD	9 (34,6)	19 (27,9)	0,527
AH	24 (92,3)	60 (89,6)	0,803
I pakāpe	5 (23,8)	9 (16,1)	
II pakāpe	16 (76,2)	42 (75,0)	0,304
III pakāpe	-	5 (8,9)	
PCI indikācija, n (%)			
Stabila KSS	23 (88,5)	52 (76,5)	0,258
Nestabila stenokardija	2 (7,7)	7 (10,3)	
STEMI	-	8 (11,8)	
NSTEMI	1 (3,8)	1 (1,5)	

	PRI1<60% (n=26)	PRI1≥60% (n=68)	p
Lietoto zāļu terapija, n (%): prehospitāli			
Aspirīns	22 (84,6)	49 (72,1)	0,205
Aspirīna deva:			
50 mg/dienā	1 (5,0)	-	
75 mg/dienā	3 (15,0)	12 (25,5)	0,098
100 mg/dienā	16 (80,0)	29 (61,7)	
150 mg/dienā	-	6 (12,8)	
Klopidogrels	5 (19,2)	1 (1,5)	0,006
PSI	3 (12,5)	9 (13,6)	0,888
PSI tips:			
Pantoprazols	3 (100,0)	3 (33,3)	0,046
Omeprazols	-	6 (66,7)	
Statīni	18 (75,0)	50 (75,8)	0,941
BB	17 (70,8)	48 (72,7)	0,859
AKEI un A2RB	19 (79,2)	45 (68,2)	0,309
KKB	7 (29,2)	28 (42,4)	0,254
Nitrāti	4 (16,7)	13 (19,7)	0,745
Antiaritmiskie līdzekļi	-	1 (1,5)	0,544
Benzodiazepīni	1 (4,2)	2 (3,1)	0,800
Omega-3	8 (33,3)	8 (12,3)	0,022
Intrahospitāli			
PSI	18 (69,2)	51 (76,1)	0,496
PSI tips: Pantoprazols	16 (88,9)	41 (80,4)	0,662
Omeprazols	2 (11,1)	9 (17,6)	
Statīni	25 (96,2)	65 (97,0)	0,833
BB	23 (88,5)	59 (88,1)	0,957
AKE un A2RB	22 (84,6)	62 (92,5)	0,246
KKB	12 (46,2)	32 (47,8)	0,889
Nitrāti	8 (30,8)	23 (34,3)	0,744
Antiaritmiskie līdzekļi	1 (3,8)	3 (4,5)	0,893
Benzodiazepīni	5 (19,2)	7 (10,4)	0,257
Omega-3	1 (9,1)	6 (20,7)	0,389
Laboratoriskie raksturlielumi, vidējais ± SD			
Leikocītu skaits, 10 ⁹ /l	7,5±1,5	7,8±2,4	0,445
Hemoglobīns, g/l	1,4±1,2	1,4±2,2	0,591
Trombocītu skaits, 10 ³ /l	239,1±48,8	219,1±53,0	0,090
Fibrinogēns, g/l	3,2±0,8	3,4±1,4	0,573
Kreatinīns, μmol/l	80,2±16,2	84,5±26,1	0,440
Nieru filtrācijas ātrums, ml/min	55,8±15,3	66,0±26,0	0,063

	PRI<60% (n=26)	PRI≥60% (n=68)	p
Laboratoriskie raksturlielumi, vidējais ± SD			
KH, mmol/l	4,3±1,1	4,6±1,4	0,297
ABLH, mmol/l	1,3±0,4	1,2±0,4	0,649
ZBLH, mmol/l	2,5±0,9	2,1±1,2	0,404
TG, mmol/l	1,2±0,7	1,5±0,9	0,179
Angiogrāfija and perkutāna koronāra intervence			
Laboto asinsvadu skaits pacientam, vidējais±SD	1,1±0,3	1,0±0,2	0,531
Stentu skaits pacientam, vidējais±SD	1,4±0,6	1,4±0,6	0,987
DES skaits pacientam, vidējais±SD	1,2±0,4	1,2±0,5	0,920
GP IIb/IIIa inhibitoru lietošana, n (%)	12 (46,2)	32 (47,8)	0,889

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests, attēlojot vidējos rezultātus(SD); Chi-square tests, iekavās norādīti procenti no kopējā pacientu skaita konkrētā faktora grupā. $\dot{Q}MI$ – ķermeņa masas indekss, CABG – koronāro artēriju šuntēšana, KSS – koronārā sirds slimība, STEMI – miokarda infarkts ar ST segmenta elevācijām, NSTEMI – miokarda infarkts bez ST segmenta elevācijām, CD – cukura diabēts, MI – miokarda infarkts, PCI – perkutāna koronāra intervence, HSM – hroniska sirds mazspēja, AH – arteriāla hipertensija, HNS – hroniska nieru slimība, CI – cerebrāls infarkts, PSI – protonu sūkņa inhibitori, BB – beta blokatori, KKB – kalcija kanālu blokatori, AKEI – angiotenzīna konvertējošā enzīma inhibitori, A2RB – angiotenzīna II receptoru blokatori, KH – kopējais holesterīns, ABLH – augsta blīvuma lipoproteīnu holesterīns, ZBLH – zema blīvuma lipoproteīnu holesterīns, TG – triglicerīdi, DES – ar zālēm pārklāts stents, GP – glikoproteīns, SD – standartdeviācija.

3.8.1. $\dot{Q}MI$ ietekme uz klopidoģrela papildu PD saņemšanas pacientiem ar hiporesponsivitāti novēroja lielāku vidējo $\dot{Q}MI$, attiecīgi $32,8 \pm 3,9 \text{ kg/m}^2$ un $29,6 \pm 4,9 \text{ kg/m}^2$ ($p=0,007$) (skat. 3.23. tabulu). Pacientiem pēc otrās un trešās klopidoģrela papildu PD saņemšanas šī tendence saglabājās, lai gan nebija statistiski ticama. Pacientiem ar $PRI_{FU10} \geq 60\%$ un $PRI_{FU40} \geq 60\%$ bija augstāks $\dot{Q}MI$, salīdzinot ar otru grupu ($PRI_{FU10} < 60\%$ un $PRI_{FU40} < 60\%$) abu apsekošanas vizīšu laikā.

Pēc pirmās klopidoģrela papildu PD saņemšanas pacientiem ar hiporesponsivitāti novēroja lielāku vidējo $\dot{Q}MI$, attiecīgi $32,8 \pm 3,9 \text{ kg/m}^2$ un $29,6 \pm 4,9 \text{ kg/m}^2$ ($p=0,007$) (skat. 3.23. tabulu). Pacientiem pēc otrās un trešās klopidoģrela papildu PD saņemšanas šī tendence saglabājās, lai gan nebija statistiski ticama. Pacientiem ar $PRI_{FU10} \geq 60\%$ un $PRI_{FU40} \geq 60\%$ bija augstāks $\dot{Q}MI$, salīdzinot ar otru grupu ($PRI_{FU10} < 60\%$ un $PRI_{FU40} < 60\%$) abu apsekošanas vizīšu laikā.

Pacientiem ar adipozitāti ($\dot{Q}MI \geq 30 \text{ kg/m}^2$) biežāk novēroja neatbilstošu PRI pēc katras klopidoģrela papildu PD saņemšanas, attiecīgi 19 (79,2%), 9 (81,8%) un 2 (100%) pacientiem (skat. 3.24. tabulu). Pacientiem ar adipozitāti visas klopidoģrela devu stratēģijas laikā tika novērots augstāks PRI, salīdzinot ar pacientiem, kuriem $\dot{Q}MI < 30 \text{ kg/m}^2$. Statistiski ticama atšķirība starp pacientu grupām ar adipozitāti vai bez tās tika novērota pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas, attiecīgi

62,7 vs 72,1 ($p<0,001$), kā arī pēc pirmās klopidoģrela papildu PD, respektīvi 34,4 vs 55,5 ($p<0,001$) (skat. 3.14. attēlu). Vidējais PRI samazinājums pēc pirmās klopidoģrela papildu PD saņemšanas (vid. $\Delta PRI1-PRI2$) bija statistiski ticami zemāks pacientu grupā ar $\text{KMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$, attiecīgi $26,0 \pm 15,8\%$ un $39,6 \pm 15,3\%$ ($p=0,001$). Gan augstāka, gan standarta UD šajā grupā bija mazāk efektīva, attiecīgi 62,5% un 51,4% pacientu, salīdzinot ar grupu, kur $\text{KMI} < 30 \text{ kg/m}^2$.

Balstoties uz to, ka palielināts ķermeņa svars bieži vien saistās arī ar vidukļa apkārtmēra pieaugumu, tika analizēta tā saistība ar PRI. Lielāku vidējo vidukļa apkārtmēru pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas novēro pacientu grupā ar hiporesponsivitāti, attiecīgi $105,1 \pm 12,0 \text{ cm}$ un $99,4 \pm 6,8 \text{ cm}$ ($p=0,027$) (skat. 3.15. attēlu).

3.23. tabula

Vidējas KMI atšķirības pacientiem pēc klopidoģrela papildu PD un abu UD saņemšanas

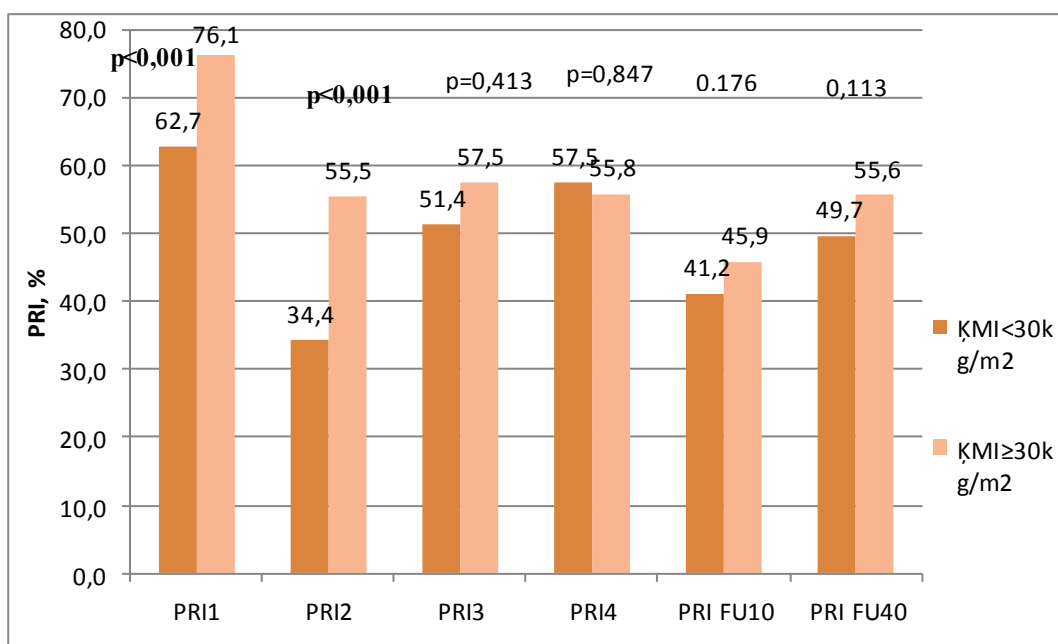
PRI, %	n	Vid. KMI, kg/m^2 (SD)	p
PRI2			
<60%	44	29,6 (4,9)	0,007
$\geq 60\%$	24	32,8 (3,9)	
PRI3			
<60%	13	32,4 (3,9)	0,580
$\geq 60\%$	11	33,3 (4,0)	
PRI4			
<60%	9	32,5 (3,7)	0,224
$\geq 60\%$	2	36,5 (5,0)	
PRI FU10			
<60%	58	30,2 (4,6)	0,097
$\geq 60\%$	8	33,1 (4,9)	
PRI FU40			
<60%	59	29,0 (4,7)	0,058
$\geq 60\%$	35	30,9 (4,3)	

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests, attēloti vidējie rezultāti (SD). PRI2, PRI3, PRI4 attiecīgi VASP PRI analīze pēc pirmās, otrās un trešās klopidoģrela papildu PD saņemšanas. PRI FU10 – 10. dienas apsekošanas PRI analīze, PRI FU40 – 40. dienas apsekošanas PRI analīze.

Papildu klopidoģrela PD un augstākas UD efektivitāte pacientiem ar adipozitāti

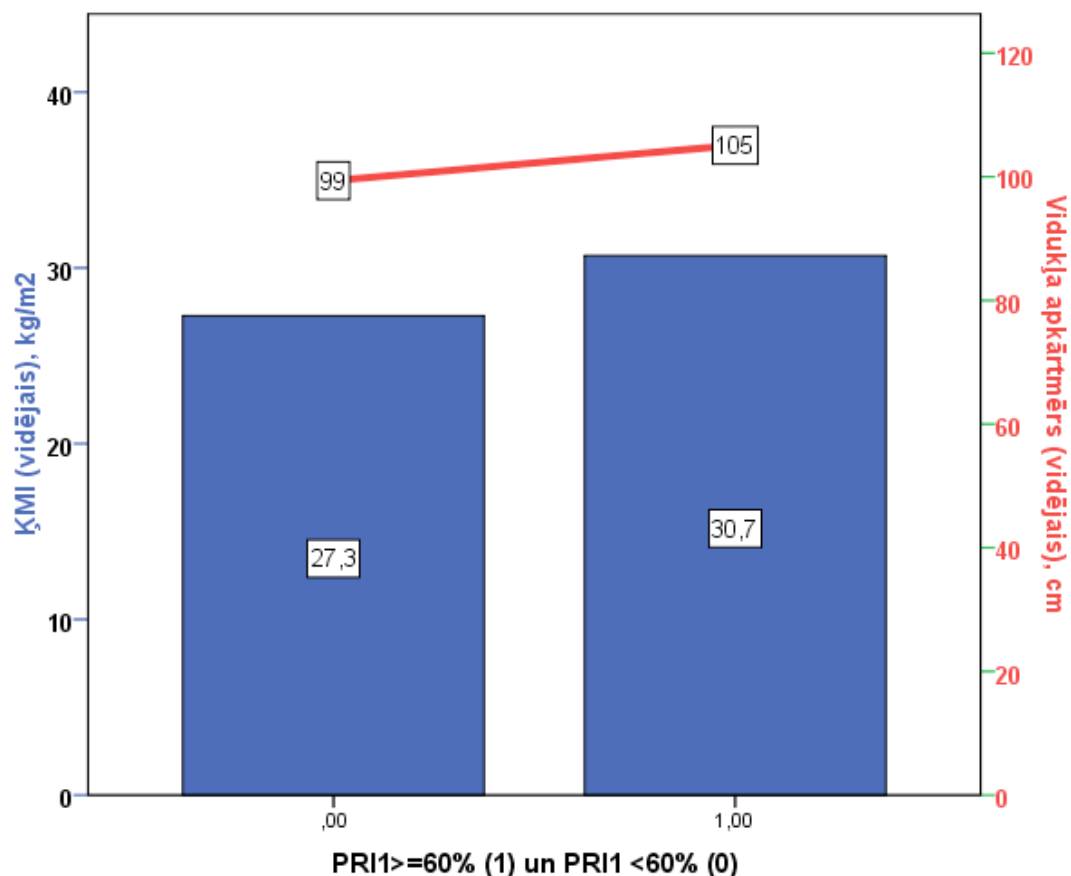
PRI, %	ķMI ≥ 30 kg/m ² , n(%)	ķMI < 30 kg/m ² , n(%)	p
PRI2			
<60%	16 (36,4)	28 (63,6)	0,001
$\geq 60\%$	19 (79,2)	5 (20,8)	
PRI3			
<60%	10 (52,6)	3 (23,1)	1,000
$\geq 60\%$	9 (81,8)	2 (18,2)	
PRI4			
<60%	7 (77,8)	2 (22,2)	1,000
$\geq 60\%$	2 (100,0)	-	
PRI FU10			
<60%	28 (48,3)	30 (51,7)	0,708
$\geq 60\%$	5 (62,5)	3 (37,5)	
PRI FU40			
<60%	22 (37,3)	37 (62,7)	0,201
$\geq 60\%$	18 (51,4)	17 (48,6)	

Aprēķinos izmantots *Chi-square* tests, attēlojot pscientu skaitu un % konkrētā grupā. ķMI – ķermeņa masas indekss, PRI2, PRI3, PRI4 attiecīgi VASP PRI analīze pēc pirmās, otrās un trešās klopidoģrela papildu PD saņemšanas. PRI FU10 – 10. dienas apsekošanas PRI analīze, PRI FU40 – 40. dienas apsekošanas PRI analīze.



3.14. att. Adipozītātes ietekme uz klopidoģrela devu stratēģiju

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests, attēloti vidējie rezultāti (SD). PRI2, PRI3, PRI4 attiecīgi VASP PRI analīze pēc pirmās, otrās un trešās klopidoģrela papildu PD saņemšanas. PRI FU10 – 10. dienas apsekošanas PRI analīze, PRI FU40 – 40. dienas apsekošanas PRI analīze.

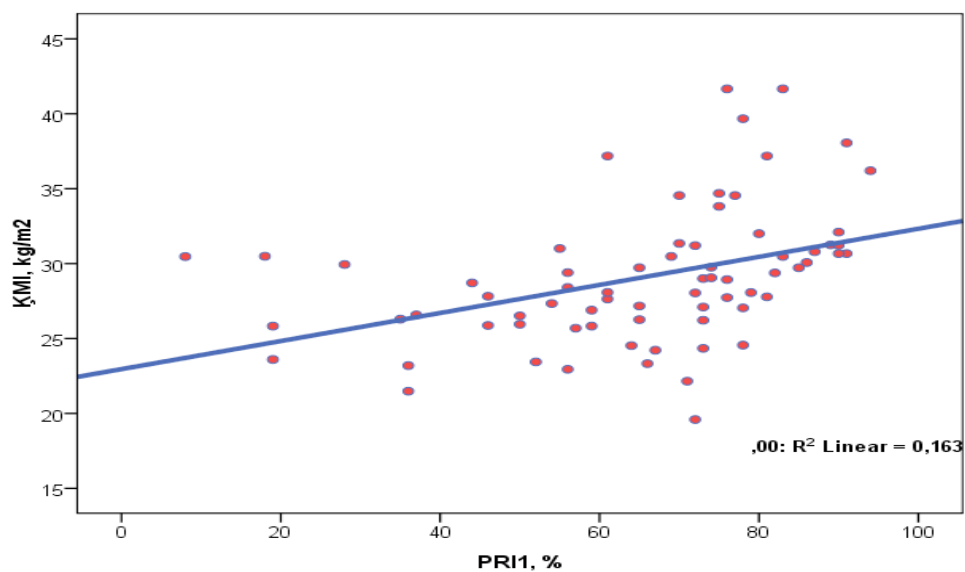


3.15.att. KMI un vidukļa apkārtmēra ietekme uz klopidoģrela efektivitāti pēc standarta PD saņemšanas

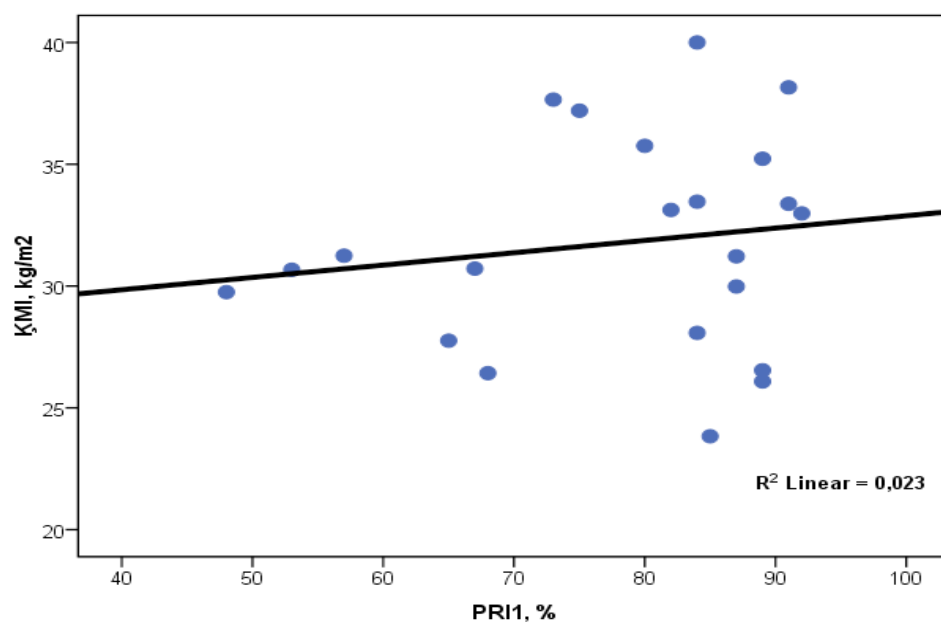
KMI – ķermeņa masas indekss, PRI1 – pirmās VASP PRI analīze pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas.

Analizējot KMI ietekmi uz PRI1 atkarībā no CYP2C19^*2 ģenotipa, novēroja vidēji stipru statistiski ticamu pozitīvu korelāciju pacientiem ar neizmainītas funkcijas alēlēm (wt/wt) ($r=403$; $p<0,001$), kas liecina par augstākām PRI1 vērtībām pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas pacientiem ar lielāku KMI (skat. 3.16. A attēlu). Savukārt pacientiem ar šī ģenotipa vismaz vienu samazinātas funkcijas alēli ($*2/^*2$ un $*2/\text{wt}$) statistiski ticamu korelāciju nenovēro ($r=0,152$; $p=0,499$) (skat. 3.16. B attēlu).

A



B



3.16. att. PRI1 atkarība no ĶMI pacientiem ar *CYP2C192 genotipu: ar neizmainītas funkcijas alēlēm wt/wt (n=71) (A) un ar vismaz vienu samazinātas funkcijas alēli *2/*2 un wt/*2 (n=22) (B)**

ĶMI – ķermeņa masas indekss, PRI1 – pirmās VASP PRI analīze pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas.

3.8.2. PSI ietekme uz klopidoģreļa papildu PD un augstāku UD efektivitāti

Stacionārā PSI terapiju saņēma 69 (73,4%) pacienti, no kuriem 1 (1,5%) pacients lietoja esomeprazolu, 11 (15,9%) pacienti – omeprazolu un 57 (82,6%) pacienti – pantoprazolu. Pēc pirmās klopidoģreļa papildu PD saņemšanas pacientu grupā ar hiporesponsivitāti vairāk bija PSI lietotāju, salīdzinot ar pacientiem, kuri nesaņēma PSI terapiju, attiecīgi 16 (69,6%) un 7 (30,4%) ($p=0,381$) (skat. 3.25. tabulu). Šī tendence nesaglabājās pēc trešās klopidoģreļa papildu PD saņemšanas. Pie abām klopidoģreļa UD PSI lietotāju skaits bija procentuāli lielāks grupās ar $PRI \geq 60\%$, attiecīgi 87,5% un 76,5%.

Pētījuma klopidoģreļa devu stratēģijas laikā novēroja palielinātas vidējās PRI vērtības pacientiem, kuri lietoja omeprazolu vai esomeprazolu, salīdzinot ar pacientu grupu ar pantoprazola terapiju (skat. 3.26.tabulu). Citi vienlaicīgi saņemtie medikamenti būtiski neietekmēja PRI.

3.25. tabula

Papildu klopidoģreļa PD un dažādu UD efektivitātes atšķirības atkarībā no PSI vienlaicīgas terapijas

PRI, %	PSI (+), n(%)	PSI (-), n(%)	p
PRI2			
<60%	35 (79,5)	9 (20,5)	0,381
≥60%	16 (69,6)	7 (30,4)	
PRI3			
<60%	10 (83,3)	2 (16,7)	0,193
≥60%	6 (54,5)	5 (45,5)	
PRI4			
<60%	6 (66,7)	3 (33,3)	0,182
≥60%	-	2 (100,0)	
PRI FU10			
<60%	44 (77,2)	13 (22,8)	0,675
≥60%	7 (87,5)	1 (12,5)	
PRI FU40			
<60%	43 (72,9)	16 (27,1)	0,808
≥60%	26 (76,5)	8 (23,5)	

Aprēķinos izmantots *Chi-square* tests, attēlojot psientu skaitu un % konkrētā grupā. KMI – ķermeņa masas indekss, PRI2, PRI3, PRI4 attiecīgi VASP PRI analīze pēc pirmās, otrās un trešās klopidoģreļa papildu PD saņemšanas. PRI FU10 – 10. dienas apsekošanas PRI analīze, PRI FU40 – 40. dienas apsekošanas PRI analīze.

**Vidējas PRI atšķirības pacientiem pēc klopidoģrela papildu PD un abu UD saņemšanas
atkarībā no saņemtā PSI tipa**

Vid. PRI, % (SD)	n	Omeprazola un esomeprazola lietotāju grupa	n	Pantoprazola lietotāju grupa	p
PRI1	12	75,5 (13,6)	57	68,0 (19,0)	0,199
PRI2	10	52,3 (41,3)	41	41,3 (19,8)	0,124
PRI3	4	63,0 (4,1)	12	50,8 (11,0)	0,052
PRI4	4	50,5 (9,1)	2	58,0 (0,0)	0,366
PRI FU10	10	51,1 (16,8)	41	42,2 (12,0)	0,060
PRI FU40	12	55,5 (17,2)	57	52,0 (16,9)	0,534

Aprēķinos izmantots neatkarīgo izlašu t-tests, attēloti vidējie rezultāti (SD). PRI1 – VASP PRI pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas, PRI2, PRI3, PRI4 attiecīgi VASP PRI analīze pēc pirmās, otrās un trešās klopidoģrela papildu PD saņemšanas. PRI FU10 – 10. dienas apsekošanas PRI analīze, PRI FU40 – 40. dienas apsekošanas PRI analīze.

3.9. Pacientu ilgtermiņa apsekošanas rezultāti

Ilgtermiņa apsekošana tika veikta visiem 94 (100%) pacientiem ar vidējo apsekošanas laiku $20,9 \pm 8,2$ mēneši. Tika konstatēta viena kardiāla nāve 9 mēnešus pēc PCI pacientam, kas sākotnēji tika iedalīts grupā ar PRI <60%, ko var uzskatīt par iespējamu stenta trombozi (1,1%).

Tika konstatēti 2 (2,2%) MI, kas abi bija grupā ar klopidoģrela hiporesponsivitāti. 1 (1,1%) pacientam no šīs grupas tika veikta CABG, savukārt 22 (23,7%) pacientiem tika veikta PCI, no kurām 2 bija mērķa asinsvada revaskularizācija (TVR), 1 (1,1%) TLR, 21 (22,8%) pacientam cita asinsvada PCI.

Kopējā apsekošanas laikā asiņošana tika konstatēta 5 (5,4%) pacientiem, no kuriem 2 (2,2%) bija nepieciešams veikt operāciju un asins elementu transfūziju. Savukārt pirmo 12 mēnešu laikā nozīmīga asiņošana bija 1 (1,1%) pacientam no grupas ar PRI <60%.

DISKUSIJA

Darbā iegūtie rezultāti norāda uz *CYP2C19*2* alēles nozīmīgu negatīvu ietekmi uz klopidoģrela papildu PD un augstāku UD efektivitāti. Šīs alēles nēsātājiem PRI samazinās mazāk pēc pirmās klopidoģrela papildu PD saņemšanas, kā arī augstāka UD ir retāk efektīva, salīdzinot ar pacientiem bez šī polimorfisma. Tendence uz mazāku PRI samazinājumu saglabājas arī turpmāko papildu PD stratēģijas laikā, neiegūstot statistisko ticamību skaitliski mazo pacientu grupu dēļ. Pēc mums pieejamās informācijas starptautiski citējamā literatūrā pašreiz nav atrodami pētījumi, kuros vieniem un tiem pašiem pacientiem būtu analizēta iepriekš minēto ģenētisko polimorfismu ietekme gan uz papildu PD, gan uz dažādu UD efektivitāti. Tā kā lielākā daļa no pacientiem bija stacionēti plāna PCI ar DES veikšanai, līdz ar to mūsu pētījuma dati liecina par šo polimorfismu ietekmi arī uz standarta klopidoģrela PD (300 mg) šo pacientu grupai atbilstoši vadlīnijām.

Darba rezultāti norāda, ka pacientiem ar vismaz vienu samazinātas funkcijas *CYP2C19*2* alēli ir statistiski ticami augstāks PRI pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas, salīdzinot ar pacientiem bez šī polimorfisma. Šī atrade sakrīt ar literatūras datiem [Bonello *et al.*, 2010, Bonello *et al.*, 2012], kur *CYP2C19*2* heterozigotiem novēroja augstākas PRI vērtības pēc klopidoģrela PD saņemšanas, salīdzinot ar pacientu grupu bez samazinātas funkcijas alēles. Savukārt pacientiem ar vismaz vienu *CYP2C19*17* paaugstinātas funkcijas alēli mēs pētījumā novērojām tendenci uz labāku klopidoģrela efektivitāti, ko apstiprina arī zinātniskā literatūra, kur šīs alēles nēsātājiem novēro zemākas PRI vērtības pēc klopidoģrela PD saņemšanas [Sibbing *et al.*, 2010].

Mūsu pētījumā nenovērojām citu *CYP2C19* un *CYP2C9* analizēto ģenotipu ietekmi uz PRI pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas. Jāatzīmē, ka šiem ģenotipiem samazinātas funkcijas alēles bija reti sastopamas, kas var kavēt līdzīgas asociācijas atrades kā *CYP2C19*2* gadījumā.

Pēc mūsu pētījuma rezultātiem vidējais PRI pēc pirmās klopidoģrela standarta piesātinošās devas bija statistiski ticami ($p=0,005$) augstāks *CYP2C19*2* alēles nēsātājiem. Arī papildu PD stratēģija *CYP2C19*2* samazinātas funkcijas alēles nēsātājiem bija mazāk efektīva, attiecīgi novēroja mazāku PRI samazinājumu, lielāku nepieciešamo PD skaitu, salīdzinot ar pacientiem bez samazinātas funkcijas alēles. Tomēr lielākai daļai pacientu, neskatoties uz *CYP2C19*2* samazinātas funkcijas alēles klātbūtni, izdevās sasniegt mūsu pētījuma PRI robežmērķi. Arī *CYP2C19*2*

homozigotam mūsu pētījumā šī devu stratēģija izrādījās sekmīga. Jāpiebilst, ka pacientiem ar īstu rezistenci bija tikai viena *CYP2C19**2 samazinātas funkcijas alēle, kas norāda uz iespējamu citu faktoru ietekmi hiporesponsivitātes predispozīcijai. Citu *CYP2C19* un *CYP2C9* genotipu gadījumā PD efekti bija līdzīgi polimorfismu grupās. *CYP2C19**2 genotipa ietekme ir plaši pētīta un aprakstīta arī zinātniskajā literatūrā [Trenk et al., 2008, Simon et al., 2009, Wallentin et al., 2010], kur šo samazinātas funkcijas alēli saista ar palielinātu išēmisko notikumu un ST risku. Lai gan pētījumos VASP analīze biežāk tiek veikta pacientiem pirms PCI, saistot hiporesponsivitāti ar risku agrīno ST attīstībai [Gurbel et al., 2005, Blindt et al., 2007]. Arī Bonello et al. veiktajā pētījumā 88% pacientu ar vismaz vienu *CYP2C19**2 samazinātas funkcijas alēli 3 klopidoģrela papildu PD stratēģija apliecināja efektivitāti, sasniedzot PRI<50% [Bonello et al., 2010]. Var secināt, ka gan *CYP2C19**2 heterozigotiem, gan homozigotiem var sasniegt pietiekamu klopidoģrela aktīvā metabolīta līmeni, izmantojot lielas klopidoģrela devas. Tā kā bieži pētījumos šo pacientu ar abām *CYP2C19**2 samazinātas funkcijas alēlēm skaits ir mazs, tādēļ nepieciešama plašāka izpēte šai pacientu grupai.

Mūsu pētījuma rezultāti neapstiprina *ABCB1* C3435T genotipa ietekmi uz klopidoģrela terapijas efektivitāti. Balstoties uz mūsu iegūtajiem datiem, varam runāt par tendenci uz augstākām PRI1 vērtībām pacientiem ar TT genotipu pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas, lai gan netika sasniegta statistiski ticama atšķirība. Lai gan nesen publicētajā meta-analīzē *ABCB1* genotipa T alēle bija asociēta ar KV notikumu risku tiem pacientiem, kuri bija saņēmuši 300 mg klopidoģrela PD, pretēji pacientiem pēc 600 mg PD [Su et al., 2012], citu publikāciju rezultāti par šī genotipa lomu ir pretrunīgi. Piemēram, PLATO pētījumā ziņots par *ABCB1* 3435CC genotipa korelāciju ar paaugstinātu KV nāves, MI un CI notikumu attīstību [Wallentin et al., 2010], savukārt TRITON-TIMI 38 pētījuma rezultāti liecina par augstāku iepriekš minēto KV notikumu risku pacientiem ar pretēju (3535TT) *ABCB1* genotipu [Mega et al., 2010].

Mūsu pētījumā iegūtie dati neapstiprināja *ABCB1* genotipa pārliecinošu ietekmi uz papildu PD stratēģiju. Citā pētījumā šis genotips demonstrēja statistiski ticamu asociāciju ar klopidoģrela papildu PD stratēģijas neefektivitāti [Bonello et al., 2012]. Tā kā zinātnisko publikāciju dati par šī genotipa lomu uz PRI pēc klopidoģrela standarta PD ir pretrunīgi [Mega et al., 2010], tad nepieciešami papildu pētījumi šīs ietekmes precizēšanai atkarībā no pacientu etniskās piederības.

Pēc pirmās VASP analīzes, kas tika veikta pēc klopidoģrela standarta PD saņemšanas, neapmierinošu klopidoģrela darbību mūsu pētījuma pacientu grupā novērojām lielākai daļai pacientu. Neskatoties uz palielinātu PRI robežvērtību, hiporesponsivitātes prevalence pacientu vidū pēc standarta PD saņemšanas bija augstāka (72,3%) nekā bija sagaidāms. Maz ticams, ka pacientu ar samazinātu reakciju uz klopidoģrelu skaits Latvijā ir vidēji lielāks nekā līdzīgos iepriekš publicētos pētījumos [O'Donoghue et al., 2006, Angiolillo et al., 2007, Bonello et al., 2010], kur biežāk hiporesponsivitāti konstatē 50–60% gadījumu. Ja mēs pielietotu pētījumos biežāk izmantoto hiporesponsivitātes definīciju ar $PRI \geq 50\%$, tad mūsu pētījumā būtu nedaudz vairāk pacientu ar samazinātu reakciju uz klopidoģrelu – 86,2%. Iespējams, ka augstāku PRI vērtību pētījuma pacientu grupā varēja netieši provocēt klopidoģrela 300 mg PD izmantošana, lai gan pacientiem pēc plāna PCI novēroja zemāku PRI nekā pēc 600 mg PD saņemšanas, kas ir indicēta AKS gadījumā. Iemesls šādiem pētījuma rezultātiem varētu būt tāds, ka AKS pacientiem vērojama augstāka trombocītu reaktivitāte trombocītu aktivācijas pamatslimības dēļ. Šiem pacientiem mēdz būt arī citi nekoriģēti riska faktori, kamēr pacientiem ar plāna PCI KSS diagnoze noteikta jau agrāk un jau tiek lietoti medikamenti sekundārai profilaksei. Iespējams, ka ticamāks skaidrojums PRI augstajām vērtībām varētu būt tas, ka iekļaušanas kritērijs bija DES stentu izvēle, ko invazīvais kardiologs biežāk izvēlās pacientiem ar CD un sarežģītākiem asinsvadu bojājumiem. Arī tas, ka veica VASP pēc PCI nevis pirms varētu paaugstināt PRI, lai gan tam pierādījumu nav.

Mūsu pētījumā stratēģija par papildu PD izmantošanu pacientiem ar hiporesponsivitāti būtu vērtējama kā diezgan sekmīga, respektīvi, lielākai daļai pacientu izdevās sasniegt PRI mērķi ar klopidoģrela papildu PD, izņemot 2 pacientus, kuriem PRI saglabājās virs 60%. Pielietotās papildu PD stratēģijas pārlicinošā efektivitāte liecina par klopidoģrela īstas rezistences samērā reto sastopamību, kas netieši norāda uz augstāku PRI mērķa izvēli pacientiem ar samazinātu reakciju uz klopidoģrelu, lai atlasītu pacientu grupu ar augstāku ST un KV notikumu risku. Arī citu autoru dati apstiprina šo papildu PD pozitīvo efektu klopidoģrela hiporesponsivitātes pārvarēšanai [Bonello et al., 2010, Bonello et al., 2009]. Ņemot vērā literatūrā minētos datus par plašu hiporesponsivitātes prevalences variabilitāti starp pacientiem ar mērķa PRI <50% (16–50%), ST pirmā gada laikā tomēr sastop salīdzinoši reti (<1%) [Bonello et al., 2009, Mallouk et al., 2012, Sudhir et al., 2013], kas savukārt varētu liecināt par īstas klopidoģrela rezistences kā viena no trombozi veicinošiem faktoriem reto izplatību.

Jāatzīmē, ka mūsu pētījuma 2 pacientiem ar īstu klopidoģrela rezistenci antiagregantu terapijas nomaiņa uz jaunākas paaudzes medikamentu tikagreloru izrādījās pārliecinoši veiksmīga. Apsekojuma vizītē pēc 40 dienām PRI iegūtās skaitliskās vērtības samazinājumā novēroja strauju kritumu, attiecīgi par 57%p un 65%p. Tikagrelors kā jaunās paaudzes P2Y12 receptoru inhibitors arī citos pētījumos uzrāda lielāku trombocītu inhibīcijas pakāpi gan PD, gan UD lietošanas laikā, salīdzinot ar klopidoģrelu [Wallentin et al., 2009, James et al., 2012]. Līdz ar to īstas klopidoģrela rezistences gadījumā tā ir laba medikamentozā alternatīva, ja nav kontrindicēts.

Mūsu pētījumā pirmo reizi Latvijā tika pielietota VASP analīze trombocītu reaktivitātes noteikšanai. Šo metodi izvēlējamies, balstoties uz šī testa priekšrocībām, no kurām kā būtiskākās jāatzīmē tās, ka analīzi neietekmē citi vienlaicīgi saņemtie medikamenti (piemēram, aspirīns, GP IIb/IIIa receptoru inhibitori) un ka analīzei nepieciešams mazs asiņu daudzums (4ml), ko var nepieciešamības gadījumā uzglabāt līdz analīzes veikšanai istabas temperatūrā līdz pat 48 stundām [Bonello et al., 2010]. Kā galvenais šīs metodes trūkums jāatzīmē darbietilpīgs un laukietilpīgs parauga sagatavošanas un analīzes process.

Ņemot vērā to, ka vēl joprojām nav vienotas nostādnes par PRI robežvērtību VASP analīzes gadījumā, kas definētu samazinātu klopidoģrela darbību un ietekmētu klīnisko iznākumu, palielinot KV notikumu risku, mūsu izvēlētais PRI mērķis bija <60%. Pārbaudot šī mērķa drošību un efektivitāti ilgtermiņā, pirmā gada laikā stenta trombozi konstatēja 1 (1,1%) pacientam no mūsu pētījuma grupas ar atbilstošu klopidoģrela darbību – PRI1 bija 52%. Iespējams, ka PRI mērķis <50% šim pacientam būtu drošāks, lai gan 40 dienu apsekojuma vizītē šim pacientam PRI bija pat zem šīs normas – 46%. Biežāk citos zinātniskos pētījumos izmantotās PRI robežvērtības svārstās no 50 līdz 70% [Blindt et al., 2007, Aradi et al., 2012, Bonello et al., 2012]. Jāatzīmē, ka nav arī vienotas pieejas, kad un kuriem pacientiem pārbaudīt klopidoģrela darbību, lai gan vairāku klīnisko pētījumu rezultāti liecina par VASP metodes saistību ar klīnisko iznākumu, īpaši pacientiem pēc PCI [Aleil et al., 2005, Angiolillo et al., 2007, Bonello et al., 2009]. Būtiski atzīmēt, ka stenta trombozi var veicināt arī ar klopidoģrelu nesaistīti faktori, piemēram, PCI suboptimāls rezultāts ar nepietiekamu stenta apozīciju, kas šajā pētījumā netika analizēts, jo prasītu invazīvas attēldiagnostikas metodes pielietošanu visiem pacientiem.

Mūsu pētījumā novērojām augstākas PRI vērtības pacientiem ar CYP2C19*2 samazinātas funkcijas alēli abu UD lietošanas laikā. Jāatzīmē, ka paaugstināta UD (150

mg / dienā) šīs alēles nēsātājiem bija efektīvāka, salīdzinot ar standarta UD (75 mg / dienā). Citu mūsu pētījumā analizēto genotipu gadījumā statistiski ticamas klopidoģrela UD efektivitātes atšķirības netika novērotas. Literatūrā sastop datus, ka *CYP2C19*2* heterozigotiem trīskāršota UD (225 mg / dienā) sasniedz to pašu efektu kā klopidoģrela standarta UD pacientiem bez samazinātas funkcijas alēles [Mega et al., 2011]. Šāda sakarība par augstākas klopidoģrela UD efektivitāti *CYP2C19*2* alēles nēsātājiem novērota arī citos iepriekš publicētos ziņojumos [Aleil et al., 2008, Price et al., 2011, Price et al., 2012], lai gan vēl joprojām nav datu par KV notikumu samazinājumu pēc šādas terapeitiskās stratēģijas izmantošanas.

Mūsu pētījuma rezultāti atspoguļo KMI , kā arī vēdera apkārtmēra asociāciju ar PRI gan klopidoģrela PD, gan UD statēģijas laikā, kura uzrāda statistisko ticamību pēc standarta un pirmās papildu PD. Ļoti spilgti tas vērojams pacientiem ar adipozitāti ($\text{KMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$). Citu kardiovaskulāro riska faktoru (CD, smēķēšana) gadījumā statistiskas atšķirības uz pētījuma terapijas stratēģiju nenovēro. Arī citos pētījumos tiek novērota KMI statistiski ticama asociācija ar PRI pēc klopidoģrela PD, ko saista ar nepietiekamu klopidoģrela devu šiem pacientiem [Bonello-Palot et al., 2009].

Ņemot vērā vienlaicīgi lietotos medikamentus klopidoģrela terapijas laikā, mūsu pētījuma rezultāti norāda uz tendenci augstākām PRI vērtībām visā pētījuma devu stratēģijas laikā, vienlaicīgi lietojot omeprazolu vai esomeprazolu. Gan papildu klopidoģrela PDs, gan augstāka UD bija mazāk efektīvas omeprazola un esomeprazola lietotāju grupā, salīdzinot ar pantoprazola lietotāju grupu. Šīs PRI grupu atšķirības nerasniedza statistisko ticamību mazā pacientu skaita dēļ, kas bija lietojuši omeprazolu un esomeprazolu ambulatori. Arī stacionārā biežāk tika nozīmēta pantoprazola terapija. Citu vienlaicīgi saņemto zāļu ietekme uz klopidoģrela terapiju mūsu pētījumā netika novērota. Vēl joprojām veikto klīnisko pētījumu rezultāti par PSI un klopidoģrela mijiedarbību ir pretrunīgi [Fernando et al., 2011, D'Ugo et al., 2013]. Nepieciešami prospektīvi, dubultakli, randomizēti, placebo kontrolēti pētījumi ar ilgtermiņa novērojumu un lielu pacientu skaitu. Lai gan par klopidoģrela un PSI mijiedarbību nav pārliecinošu datu, tomēr ieteicams izvairīties no šo zāļu vienlaicīgas lietošanas. PSI rekomendēts nozīmēt tikai pacientiem ar augstu kuņģa – zarnu trakta asiņošanas risku atsevišķos gadījumos, piemēram, anamnēzē asiņošana no kuņģa – zarnu trakta, vecums, vienlaicīga varfarīna, NPL terapija. Šādos gadījumos rekomendē izvairīties no omeprazola un esomeprazola lietošanas, kas ir PSI ar pastiprinātu afinitāti uz *CYP2C19* enzīmu.

Kā galvenās atšķirības no citiem līdzīgiem pētījumiem, piemēram, Bonello et al. pētījuma [Bonello et al., 2012] var atzīmēt to, ka pacientu skaits mūsu pētījumā bija mazāks, lielākā daļa no pacientiem bija stacionēti plāna PCI veikšanai, saņemot klopidoģrela 300 mg PD atbilstoši vadlīnijām [Wijns et al., 2010], arī PRI mērķis bija augstāks. Jāpiebilst, ka PRI noteikšana pacientiem tika veikta pēc PCI.

Kā mūsu pētījuma priekšrocību var minēt to, ka PRI noteikšanai izmantojām tieši VASP metodi, kuras rezultātu nevar ietekmēt aspirīna un GP IIb/IIIa inhibitoru vienlaicīga lietošana, atšķirībā no tādām bieži lietotām metodēm kā *Verify Now* tests un *PlateletWorks*. Pie galveniem pētījuma trūkumiem var minēt relatīvi mazo pacientu skaitu, nevienlīdzīgu pacientu grupu (iekļauti gan plāna, gan akūtie pacienti).

PRAKTISKAIS PIELIETOJUMS

Mūsu pētījuma rezultāti var veicināt sekmīgas terapeitiskās stratēģijas izvēli pacientiem ar samazinātu atbildes reakciju uz klopidoģrela terapiju. Vienlaicīga trombocītu reaktivitātes un *CYP2C19*2* alēles klātbūtnes noteikšana var būt pārāka nekā tikai trombocītu funkcionālo testu izmantošana atsevišķi, lai sasniegtu optimālu P2Y₁₂ inhibīcijas pakāpi katram pacientam.

Pēc mūsu pētījuma datiem *CYP2C19*2* samazinātas funkcijas alēles noteikšana ļautu prognozēt, ka standarta PD un UD būs mazāk efektīvas, īpaši pacientiem ar citiem hiporesponsivitāti provocējošiem faktoriem – palielinātu KMI, kā arī vienlaicīgu PSI, īpaši omeprazola vai esomeprazola terapiju.

SECINĀJUMI

1. Pacientiem ar vismaz vienu *CYP2C19**2 samazinātas funkcijas alēli klopidoģrela standarta piesātinošās devas spēja nomākt trombocītu reaktivitāti ir zemāka. Hiporesponsivitātes gadījumā *CYP2C19**2 alēles klātbūtne ir asociēta ar papildu PD samazinātu efektivitāti.
2. Gandrīz divām trešdaļām pacientu ar klopidoģrela hiporesponsivitāti jau pēc pirmās papildu PD izdodas sasniegt mērķa PRI<60%, kas liecina par klopidoģrela papildu PD efektivitāti vairumā gadījumu.
3. Īstu klopidoģrela rezistenci novēro reti – 2,1% pacientu, kam nav iespējams sasniegt PRI <60% pat ar trīs papildu PD. Klopidoģrela rezistences gadījumā tikagrelors ir pārliecinoši efektīvs.
4. Pacientiem, kas ir *CYP2C19**2 alēles nēsātāji, ar standarta UD (75 mg) trīs ceturtdaļās gadījumu netiek novērota atbilstoša trombocītu inhibīcija. Augstāka 150 mg klopidoģrela UD šiem pacientiem ir efektīvāka, bet joprojām nav pietiekama 29% gadījumu.
5. Adipozitāte ir svarīgs fenotipisks faktors, kas pasliktina gan papildu PD, gan augstāku UD efektivitāti pacientiem ar klopidoģrela hiporesponsivitāti.
6. Protonu sūkņu inhibitoru lietotājiem ir tendence uz samazinātu klopidoģrela efektivitāti gan pēc papildu PD, gan abu UD lietošanas laikā. Omeprazola un esomeprazola lietotājiem klopidoģrela efektivitāte ir zemāka visā klopidoģrela devu stratēģijas laikā, salīdzinot ar pantoprazola lietotājiem.
7. Viena gada laikā tika konstatēta tikai viena iespējama stenta tromboze, kas liek domāt par piesātinošo devu stratēģijas relatīvu drošību ilgtermiņā atbilstoši PRI mērķim <60%. Tomēr PRI mērķi <60% nepieciešams apstiprināt lielākos prospektīvos pētījumos.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Aksu K., Donmez A., Keser G. Inflammation-induced thrombosis: mechanisms, disease associations and management // *Curr Pharm Des*, 2012; 18 (11): 1478–1493.
2. Aleil B., Jacquemin L., De Poli F., et al. Clopidogrel 150 mg/day to overcome low responsiveness in patients undergoing elective percutaneous coronary intervention: results from the VASP-02 (Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein-02) randomized study // *JACC Cardiovasc Interv*, 2008; 1 (6): 631–638.
3. Aleil B., Ravanat C., Cazenave J. P., et al. Flow cytometric analysis of intraplatelet VASP phosphorylation for the detection of clopidogrel resistance in patients with ischemic cardiovascular diseases // *J Thromb Haemost*, 2005; 3 (1): 85–92.
4. Alstrom U., Granath F., Oldgren J., et al. Platelet inhibition assessed with VerifyNow, flow cytometry and PlateletMapping in patients undergoing heart surgery // *Thromb Res*, 2009; 124 (5): 572–577.
5. Ancrenaz V., Daali Y., Fontana P., et al. Impact of genetic polymorphisms and drug-drug interactions on clopidogrel and prasugrel response variability // *Curr Drug Metab*, 2010; 11 (8): 667–677.
6. Andersson C., Lyngbaek S., Nguyen C. D., et al. Association of clopidogrel treatment with risk of mortality and cardiovascular events following myocardial infarction in patients with and without diabetes // *Jama*, 2012; 308 (9): 882–889.
7. Ang L., Palakodeti V., Khalid A., et al. Elevated plasma fibrinogen and diabetes mellitus are associated with lower inhibition of platelet reactivity with clopidogrel // *J Am Coll Cardiol*, 2008; 52 (13): 1052–1059.
8. Angiolillo D. J., Fernandez-Ortiz A., Bernardo E., et al. Variability in Individual Responsiveness to Clopidogrel. Clinical Implications, Management, and Future Perspectives. // *JACC*, 2007; 49 (14): 1505–1516.

9. Angiolillo D. J., Fernandez-Ortiz A., Bernardo E., et al. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives // *J Am Coll Cardiol*, 2007; 49 (14): 1505–1516.
10. Angiolillo D. J., Fernandez-Ortiz A., Bernardo E., et al. 807 C/T Polymorphism of the glycoprotein Ia gene and pharmacogenetic modulation of platelet response to dual antiplatelet treatment // *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2004; 15 (5): 427–433.
11. Angiolillo D. J., Gibson C. M., Cheng S., et al. Differential effects of omeprazole and pantoprazole on the pharmacodynamics and pharmacokinetics of clopidogrel in healthy subjects: randomized, placebo-controlled, crossover comparison studies // *Clin Pharmacol Ther*, 2011; 89 (1): 65–74.
12. Angiolillo D. J., Shoemaker S. B., Desai B., et al. Randomized comparison of a high clopidogrel maintenance dose in patients with diabetes mellitus and coronary artery disease: results of the Optimizing Antiplatelet Therapy in Diabetes Mellitus (OPTIMUS) study // *Circulation*, 2007; 115 (6): 708–716.
13. Aradi D., Komocsi A., Vorobcsuk A., et al. Prognostic significance of high on-clopidogrel platelet reactivity after percutaneous coronary intervention: systematic review and meta-analysis // *Am Heart J*, 2010; 160 (3): 543–551.
14. Aradi D., Rideg O., Vorobcsuk A., et al. Justification of 150 mg clopidogrel in patients with high on-clopidogrel platelet reactivity // *Eur J Clin Invest*, 2012; 42 (4): 384–392.
15. Balasubramaniam K., Viswanathan G. N., Marshall S. M., Zaman A. G. Increased atherothrombotic burden in patients with diabetes mellitus and acute coronary syndrome: a review of antiplatelet therapy // *Cardiol Res Pract*, 2012; 2012 (909154): 909154.
16. Barone-Rochette G., Ormezzano O., Polack B., et al. Resistance to platelet antiaggregants: an important cause of very late thrombosis of drug eluting stents? Observations from five cases // *Arch Cardiovasc Dis*, 2008; 101 (2): 100–107.

17. Bates E. R., Lau W. C. , Angiolillo D. J. Clopidogrel-drug interactions // J Am Coll Cardiol, 2011; 57 (11): 1251–1263.
18. Beitelshes A. L., Horenstein R. B., Vesely M. R., et al. Pharmacogenetics and clopidogrel response in patients undergoing percutaneous coronary interventions // Clin Pharmacol Ther, 2011; 89 (3): 455–459.
19. Bliden K. P., Dichiaro J., Lawal L., et al. The association of cigarette smoking with enhanced platelet inhibition by clopidogrel // J Am Coll Cardiol, 2008; 52 (7): 531–533.
20. Blindt R., Stellbrink K., De Taeye A., et al. The significance of vasodilator-stimulated phosphoprotein for risk stratification of stent thrombosis // Thromb Haemost, 2007; 98 (6): 1329–1334.
21. Blume H., Donath F., Warnke A. , Schug B. S. Pharmacokinetic drug interaction profiles of proton pump inhibitors // Drug Saf, 2006; 29 (9): 769–784.
22. Bonello-Palot N., Armero S., Paganelli F., et al. Relation of body mass index to high on-treatment platelet reactivity and of failed clopidogrel dose adjustment according to platelet reactivity monitoring in patients undergoing percutaneous coronary intervention // Am J Cardiol, 2009; 104 (11): 1511–1515.
23. Bonello L., Armero S., Ait Mokhtar O., et al. Clopidogrel loading dose adjustment according to platelet reactivity monitoring in patients carrying the 2C19*2 loss of function polymorphism // J Am Coll Cardiol, 2010; 56 (20): 1630–1636.
24. Bonello L., Bonello-Palot N., Armero S., et al. Impact of P2Y₁₂-ADP receptor polymorphism on the efficacy of clopidogrel dose-adjustment according to platelet reactivity monitoring in coronary artery disease patients // Thromb Res, 2009; 13 13.
25. Bonello L., Camoin-Jau L., Armero S., et al. Tailored clopidogrel loading dose according to platelet reactivity monitoring to prevent acute and subacute stent thrombosis // Am J Cardiol, 2009; 103 (1): 5–10.
26. Bonello L., Camoin-Jau L., Arques S., et al. Adjusted clopidogrel loading doses according to vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation index decrease rate of major adverse cardiovascular events in patients with clopidogrel resistance: a

multicenter randomized prospective study // J Am Coll Cardiol, 2008; 51 (14): 1404–1411.

27. Bonello L., Camoin-Jau L., Mancini J., et al. Factors associated with the failure of clopidogrel dose-adjustment according to platelet reactivity monitoring to optimize P2Y₁₂-ADP receptor blockade // Thromb Res, 2012; 130 (1): 70–74.

28. Bonello L., Tantry U. S., Marcucci R., et al. Consensus and future directions on the definition of high on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate // J Am Coll Cardiol, 2010; 56 (12): 919–933.

29. Bouman H., Parlak E., Van Werkum J., et al. Which platelet function test is suitable to monitor clopidogrel responsiveness? A pharmacokinetic analysis on the active metabolite of clopidogrel // J Thromb Haemost, 2009; 21 21.

30. Brandt J. T., Close S. L., Iturria S. J., et al. Common polymorphisms of CYP2C19 and CYP2C9 affect the pharmacokinetic and pharmacodynamic response to clopidogrel but not prasugrel // J Thromb Haemost, 2007; 5 (12): 2429–2436.

31. Brar S. S., Ten Berg J., Marcucci R., et al. Impact of platelet reactivity on clinical outcomes after percutaneous coronary intervention. A collaborative meta-analysis of individual participant data // J Am Coll Cardiol, 2011; 58 (19): 1945–1954.

32. Braun O., Angiolillo D. J., Ferreiro J. L., et al. Enhanced active metabolite generation and platelet inhibition with prasugrel compared to clopidogrel regardless of genotype in thienopyridine metabolic pathways // Thromb Haemost, 2013; 110 (20130905): 20130905.

33. Braunwald E., Angiolillo D., Bates E., et al. Assessing the current role of platelet function testing // Clin Cardiol, 2008; 31 (3 Suppl 1): I10–16.

34. Breet N. J., Van Werkum J. W., Bouman H. J., et al. Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation // Jama, 2010; 303 (8): 754–762.

35. Cattaneo M. Light transmission aggregometry and ATP release for the diagnostic assessment of platelet function // Semin Thromb Hemost, 2009; 35 (2): 158–167.

36. Cavallari L. H., Jeong H. , Bress A. Role of cytochrome P450 genotype in the steps toward personalized drug therapy // *Pharmgenomics Pers Med*, 2011; 4 123–136.
37. Cayla G., Macia J. C., Rabesandratana H., et al. Flow cytometric assessment of vasodilator-stimulated phosphoprotein: prognostic value of recurrent cardiovascular events after acute coronary syndromes // *Arch Cardiovasc Dis*, 2008; 101 (11–12): 743–751.
38. Celik T., Iyisoy A., Gul H. , Isik E. Clopidogrel resistance: a diagnostic challenge // *Int J Cardiol*, 2009; 131 (2): 267–268; author reply 268–269.
39. Chang Y. W., Liao C. H. , Day Y. J. Platelet function analyzer (PFA-100) offers higher sensitivity and specificity than thromboelastography (TEG) in detection of platelet dysfunction // *Acta Anaesthesiol Taiwan*, 2009; 47 (3): 110–117.
40. Cialdella P., Gustapane M., Camaioni C., Biasucci L. M. What's new about clopidogrel // *Minerva Cardioangiol*, 2013; 61 (6): 683–689.
41. Cuisset T., Frere C., Quilici J., et al. Glycoprotein IIb/IIIa inhibitors improve outcome after coronary stenting in clopidogrel nonresponders: a prospective, randomized study // *JACC Cardiovasc Interv*, 2008; 1 (6): 649–653.
42. Cuisset T., Frere C., Quilici J., et al. Comparison of omeprazole and pantoprazole influence on a high 150-mg clopidogrel maintenance dose the PACA (Proton Pump Inhibitors And Clopidogrel Association) prospective randomized study // *J Am Coll Cardiol*, 2009; 54 (13): 1149–1153.
43. Cuisset T., Quilici J., Cohen W., et al. Usefulness of high clopidogrel maintenance dose according to CYP2C19 genotypes in clopidogrel low responders undergoing coronary stenting for non ST elevation acute coronary syndrome // *Am J Cardiol*, 2011; 108 (6): 760–765.
44. D'ugo E., Rossi S., De Caterina R. Proton pump inhibitors and clopidogrel: an association to avoid? // *Intern Emerg Med*, 2013; P. 13.
45. Damman P., Woudstra P., Kuijt W. J., et al. P2Y12 platelet inhibition in clinical practice // *J Thromb Thrombolysis*, 2012; 33 (2): 143–153.

46. Dansette P. M., Rosi J., Bertho G., Mansuy D. Cytochromes P450 catalyze both steps of the major pathway of clopidogrel bioactivation, whereas paraoxonase catalyzes the formation of a minor thiol metabolite isomer // *Chem Res Toxicol*, 2012; 25 (2): 348–356.
47. El Ghannudi S., Ohlmann P., Jesel L., et al. Impaired inhibition of P2Y₁₂ by clopidogrel is a major determinant of cardiac death in diabetes mellitus patients treated by percutaneous coronary intervention // *Atherosclerosis*, 2011; 217 (2): 465–472.
48. Farid N. A., Kurihara A., Wrighton S. A. Metabolism and disposition of the thienopyridine antiplatelet drugs ticlopidine, clopidogrel, and prasugrel in humans // *J Clin Pharmacol*, 2010; 50 (2): 126–142.
49. Feher G., Koltai K., Alkonyi B., et al. Clopidogrel resistance: role of body mass and concomitant medications // *Int J Cardiol*, 2007; 120 (2): 188–192.
50. Fernando H., Dart A. M., Peter K., Shaw J. A. Proton pump inhibitors, genetic polymorphisms and response to clopidogrel therapy // *Thromb Haemost*, 2011; 105 (6): 933–944.
51. Ferreira J. L., Gomez-Hospital J. A., Angiolillo D. J. Platelet abnormalities in diabetes mellitus // *Diab Vasc Dis Res*, 2010; 7 (4): 251–259.
52. Ferreira J. L., Ueno M., Capodanno D., et al. Pharmacodynamic effects of concomitant versus staggered clopidogrel and omeprazole intake: results of a prospective randomized crossover study // *Circ Cardiovasc Interv*, 2010; 3 (5): 436–441.
53. Floyd C. N., Ferro A. The P1A1/A2 Polymorphism of Glycoprotein IIIa in Relation to Efficacy of Antiplatelet Drugs: a Systematic Review and Meta-analysis // *Br J Clin Pharmacol*, 2013; 2013 (9): 12204.
54. Gaglia M. A., Jr., Torguson R., Pakala R., et al. Relation of body mass index to on-treatment (clopidogrel + aspirin) platelet reactivity // *Am J Cardiol*, 2011; 108 (6): 766–771.

55. Galic E., Vrbanic L., Kapitanovic S., et al. P2RY12 gene polymorphisms and effect of clopidogrel on platelet aggregation // *Coll Antropol*, 2013; 37 (2): 491–498.
56. Galla J. M., Nicholls S. J. Pharmacologic therapy for coronary atherosclerosis in patients with Type 2 diabetes mellitus // *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2009; 7 (1): 85–93.
57. Gilard M., Arnaud B., Cornily J. C., et al. Influence of omeprazole on the antiplatelet action of clopidogrel associated with aspirin: the randomized, double-blind OCLA (Omeprazole CLopidogrel Aspirin) study // *J Am Coll Cardiol*, 2008; 51 (3): 256–260.
58. Giusti B., Gori A. M., Marcucci R., et al. Relation of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism to occurrence of drug-eluting coronary stent thrombosis // *Am J Cardiol*, 2009; 103 (6): 806–811.
59. Gladding P., Webster M., Zeng I., et al. The antiplatelet effect of higher loading and maintenance dose regimens of clopidogrel: the PRINC (Plavix Response in Coronary Intervention) trial // *JACC Cardiovasc Interv*, 2008; 1 (6): 612–619.
60. Good C. W., Steinhubl S. R., Brennan D. M., et al. Is there a clinically significant interaction between calcium channel antagonists and clopidogrel?: results from the Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation (CREDO) trial // *Circ Cardiovasc Interv*, 2012; 5 (1): 77–81.
61. Goodman S. G., Clare R., Pieper K. S., et al. Association of proton pump inhibitor use on cardiovascular outcomes with clopidogrel and ticagrelor: insights from the platelet inhibition and patient outcomes trial // *Circulation*, 2012; 125 (8): 978–986.
62. Goswami S., Cheng-Lai A., Nawarskas J. Clopidogrel and genetic testing: is it necessary for everyone? // *Cardiol Rev*, 2012; 20 (2): 96–100.
63. Gremmel T., Steiner S., Seidinger D., et al. Smoking promotes clopidogrel-mediated platelet inhibition in patients receiving dual antiplatelet therapy // *Thromb Res*, 2009; 124 (5): 588–591.

64. Gremmel T., Steiner S., Seidinger D., et al. Calcium-channel blockers decrease clopidogrel-mediated platelet inhibition // *Heart*, 2010; 96 (3): 186–189.
65. Gurbel P. A., Bliden K. P., Hayes K. M., et al. The relation of dosing to clopidogrel responsiveness and the incidence of high post-treatment platelet aggregation in patients undergoing coronary stenting // *J Am Coll Cardiol*, 2005; 45 (9): 1392–1396.
66. Gurbel P. A., Bliden K. P., Hiatt B. L., O'connor C. M. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity // *Circulation*, 2003; 107 (23): 2908–2913.
67. Gurbel P. A., Bliden K. P., Zaman K. A., et al. Clopidogrel loading with eptifibatide to arrest the reactivity of platelets: results of the Clopidogrel Loading With Eptifibatide to Arrest the Reactivity of Platelets (CLEAR PLATELETS) study // *Circulation*, 2005; 111 (9): 1153–1159.
68. Gurbel P. A., Tantry U. S. Clopidogrel resistance? // *Thromb Res*, 2007; 120 (3): 311–321.
69. Hall H. M., Banerjee S., Mcguire D. K. Variability of clopidogrel response in patients with type 2 diabetes mellitus // *Diab Vasc Dis Res*, 2011; 8 (4): 245–253.
70. Harmsze A. M., Robijns K., Van Werkum J. W., et al. The use of amlodipine, but not of P-glycoprotein inhibiting calcium channel blockers is associated with clopidogrel poor-response // *Thromb Haemost*, 2010; 103 (5): 920–925.
71. Harmsze A. M., Van Werkum J. W., Souverein P. C., et al. Combined influence of proton-pump inhibitors, calcium-channel blockers and CYP2C19*2 on on-treatment platelet reactivity and on the occurrence of atherothrombotic events after percutaneous coronary intervention // *J Thromb Haemost*, 2011; 9 (10): 1892–1901.
72. Hayward C. P., Harrison P., Cattaneo M., et al. Platelet function analyzer (PFA)-100 closure time in the evaluation of platelet disorders and platelet function // *J Thromb Haemost*, 2006; 4 (2): 312–319.

73. Hazarbasanov D., Velchev V., Finkov B., et al. Tailoring clopidogrel dose according to multiple electrode aggregometry decreases the rate of ischemic complications after percutaneous coronary intervention // *J Thromb Thrombolysis*, 2012; 34 (1): 85–90.
74. Hochholzer W., Trenk D., Fromm M. F., et al. Impact of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and of major demographic characteristics on residual platelet function after loading and maintenance treatment with clopidogrel in patients undergoing elective coronary stent placement // *J Am Coll Cardiol*, 2010; 55 (22): 2427–2434.
75. Hochtl T., Tentzeris I., Schror K., Huber K. Antiplatelet function variability in clopidogrel-treated patients: need for new antiplatelet agents // *Fundam Clin Pharmacol*, 2012; 26 (1): 2–10.
76. Holmes D. R., Dehmer G. J., Kaul S., et al. ACCF/AHA Clopidogrel clinical alert: approaches to the FDA "boxed warning": a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents and the American Heart Association // *Circulation*, 2010; 122 (5): 537–557.
77. Hulot J. S., Collet J. P., Silvain J., et al. Cardiovascular risk in clopidogrel-treated patients according to cytochrome P450 2C19*2 loss-of-function allele or proton pump inhibitor coadministration: a systematic meta-analysis // *J Am Coll Cardiol*, 2010; 56 (2): 134–143.
78. Ivandic B., Frey N. New approaches and indications for the analysis of platelet function in cardiology // *Hamostaseologie*, 2011; 31 (2): 73–76.
79. James S. K., Storey R. F., Khurmi N. S., et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes and a history of stroke or transient ischemic attack // *Circulation*, 2012; 125 (23): 2914–2921.
80. Kalyanasundaram A., Lincoff A. M. Managing adverse effects and drug-drug interactions of antiplatelet agents // *Nat Rev Cardiol*, 2011; 8 (10): 592–600.

81. Kazui M., Nishiya Y., Ishizuka T., et al. Identification of the human cytochrome P450 enzymes involved in the two oxidative steps in the bioactivation of clopidogrel to its pharmacologically active metabolite // *Drug Metab Dispos*, 2010; 38 (1): 92–99.
82. Kim H., Lee H. K., Han K., Jeon H. K. Prevalence and risk factors for aspirin and clopidogrel resistance in patients with coronary artery disease or ischemic cerebrovascular disease // *Ann Clin Lab Sci*, 2009; 39 (3): 289–294.
83. King S. B., 3rd, Smith S. C., Jr., Hirshfeld J. W., Jr., et al. 2007 Focused Update of the ACC/AHA/SCAI 2005 Guideline Update for Percutaneous Coronary Intervention: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines: 2007 Writing Group to Review New Evidence and Update the ACC/AHA/SCAI 2005 Guideline Update for Percutaneous Coronary Intervention, Writing on Behalf of the 2005 Writing Committee // *Circulation*, 2008; 117 (2): 261–295.
84. Kirchheiner J., Brockmoller J. Clinical consequences of cytochrome P450 2C9 polymorphisms // *Clin Pharmacol Ther*, 2005; 77 (1): 1–16.
85. Kulickowski W., Witkowski A., Polonski L., et al. Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology // *Eur Heart J*, 2009; 30 (4): 426–435.
86. Kwok C. S., Loke Y. K. Effects of proton pump inhibitors on platelet function in patients receiving clopidogrel: a systematic review // *Drug Saf*, 2012; 35 (2): 127–139.
87. Lau W. C., Waskell L. A., Watkins P. B., et al. Atorvastatin reduces the ability of clopidogrel to inhibit platelet aggregation: a new drug-drug interaction // *Circulation*, 2003; 107 (1): 32–37.
88. Leoncini M., Toso A., Maioli M., et al. High-dose atorvastatin on the pharmacodynamic effects of double-dose clopidogrel in patients undergoing percutaneous coronary interventions: The ACHIDO (Atorvastatin and Clopidogrel HIGH DOse in stable patients with residual high platelet activity) study // *JACC Cardiovasc Interv*, 2013; 6 (2): 169–179.

89. Leoncini M., Toso A., Maioli M., Bellandi F. Statin and clopidogrel pharmacological interaction // *G Ital Cardiol (Rome)*, 2013; 14 (9): 574–584.
90. Lev E. I., Patel R. T., Maresh K. J., et al. Aspirin and clopidogrel drug response in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the role of dual drug resistance // *J Am Coll Cardiol*, 2006; 47 (1): 27–33.
91. Lewis L. D. Drug-drug interactions: is there an optimal way to study them? // *Br J Clin Pharmacol*, 2010; 70 (6): 781–783.
92. Mallouk N., Labruyere C., Reny J. L., et al. Prevalence of poor biological response to clopidogrel: a systematic review // *Thromb Haemost*, 2012; 107 (3): 494–506.
93. Malmstrom R. E., Ostergren J., Jorgensen L., Hjemdahl P. Influence of statin treatment on platelet inhibition by clopidogrel - a randomized comparison of rosuvastatin, atorvastatin and simvastatin co-treatment // *J Intern Med*, 2009; 266 (5): 457–466.
94. Mega J. L., Close S. L., Wiviott S. D., et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel // *N Engl J Med*, 2009; 360 (4): 354–362.
95. Mega J. L., Close S. L., Wiviott S. D., et al. Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON-TIMI 38 trial: a pharmacogenetic analysis // *Lancet*, 2010; 376 (9749): 1312–1319.
96. Mega J. L., Hochholzer W., Frelinger A. L., 3rd, et al. Dosing clopidogrel based on CYP2C19 genotype and the effect on platelet reactivity in patients with stable cardiovascular disease // *Jama*, 2011; 306 (20): 2221–2228.
97. Mehta S. R., Bassand J. P., Chrolavicius S., et al. Dose comparisons of clopidogrel and aspirin in acute coronary syndromes // *N Engl J Med*, 2010; 363 (10): 930–942.
98. Michelson A. D. P2Y₁₂ antagonism: promises and challenges // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008; 28 (3): s33–38.

99. Michelson A. D., Linden M. D., Furman M. I., et al. Evidence that pre-existent variability in platelet response to ADP accounts for 'clopidogrel resistance' // *J Thromb Haemost*, 2007; 5 (1): 75–81.
100. Mocerì P., Doyen D., Cerboni P., Ferrari E. Doubling the dose of clopidogrel restores the loss of antiplatelet effect induced by esomeprazole // *Thromb Res*, 2011; 128 (5): 458–462.
101. Momary K. M., Dorsch M. P., Bates E. R. Genetic causes of clopidogrel nonresponsiveness: which ones really count? // *Pharmacotherapy*, 2010; 30 (3): 265–274.
102. Morris A., Aliprandi-Costa B., Brieger D. Platelet function analysis: A comparison of methods // *Int J Cardiol*, 2009; 145 (1): 167–168.
103. Motovska Z., Widimsky P., Kvasnicka J., et al. High loading dose of clopidogrel is unable to satisfactorily inhibit platelet reactivity in patients with glycoprotein IIIA gene polymorphism: a genetic substudy of PRAGUE-8 trial // *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2009; 20 (4): 257–262.
104. Nishio R., Shinke T., Otake H., et al. Paraoxonase-1 activity affects the clopidogrel response in CYP2C19 loss-of-function carriers // *Thromb Res*, 2013; 3848 (13): 00408–00408.
105. O'donoghue M., Wiviott S. D. Clopidogrel response variability and future therapies: clopidogrel: does one size fit all? // *Circulation*, 2006; 114 (22): e600–606.
106. Oestreich J. H., Smyth S. S., Campbell C. L. Platelet function analysis: at the edge of meaning // *Thromb Haemost*, 2009; 101 (2): 217–219.
107. Ojeifo O., Wiviott S. D., Antman E. M., et al. Concomitant Administration of Clopidogrel With Statins or Calcium Channel Blockers: Insights From the TRITON-TIMI 38 (Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet
108. Inhibition With Prasugrel-Thrombolysis in Myocardial Infarction 38) Trial // *JACC Cardiovasc Interv*, 2013; 8798 (13): 01447–01447.

109. Olesen J. B., Gislason G. H., Charlott M. G., et al. Calcium-channel blockers do not alter the clinical efficacy of clopidogrel after myocardial infarction: a nationwide cohort study // *J Am Coll Cardiol*, 2011; 57 (4): 409–417.
110. Pampuch A., Cerletti C., De Gaetano G. Comparison of VASP-phosphorylation assay to light-transmission aggregometry in assessing inhibition of the platelet ADP P2Y₁₂ receptor // *Thromb Haemost*, 2006; 96 (6): 767–773.
111. Pankert M., Quilici J., Loundou A. D., et al. Impact of Obesity and the Metabolic Syndrome on Response to Clopidogrel or Prasugrel and Bleeding Risk in Patients Treated After Coronary Stenting // *Am J Cardiol*, 2013; 9149 (13): 01928–01920.
112. Papathanasiou A., Goudevenos J., Tselepis A. D. Resistance to aspirin and clopidogrel: possible mechanisms, laboratory investigation, and clinical significance // *Hellenic J Cardiol*, 2007; 48 (6): 352–363.
113. Pare G., Mehta S. R., Yusuf S., et al. Effects of CYP2C19 genotype on outcomes of clopidogrel treatment // *N Engl J Med*, 2010; 363 (18): 1704–1714.
114. Park Y., Jeong Y. H., Tantry U. S., et al. Accelerated platelet inhibition by switching from atorvastatin to a non-CYP3A4-metabolized statin in patients with high platelet reactivity (ACCEL-STATIN) study // *Eur Heart J*, 2012; 33 (17): 2151–2162.
115. Pettersen A. A., Arnesen H., Opstad T. B., Seljeflot I. The influence of CYP 2C19*2 polymorphism on platelet function testing during single antiplatelet treatment with clopidogrel // *Thromb J*, 2011; 9 (4): 4.
116. Polena S., Gupta M. P., Shaikh H., et al. Platelet aggregation inhibition in patients receiving statins either fully or partially metabolized by CYP3A4 // *Proc West Pharmacol Soc*, 2008; 51 60–62.
117. Poyet R., Cuisset T., Frere C., et al. Comparison of rosuvastatin and atorvastatin on clopidogrel response and lipidic and inflammatory parameters after coronary stenting for acute coronary syndrome: the prospective, randomized OSCAR study (optimal statin therapy with clopidogrel after coronary revascularisation) // *Thromb Res*, 2010; 126 (5): 397–399.

118. Price M. J., Berger P. B., Teirstein P. S., et al. Standard- vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: the GRAVITAS randomized trial // *Jama*, 2011; 305 (11): 1097–1105.
119. Price M. J., Murray S. S., Angiolillo D. J., et al. Influence of genetic polymorphisms on the effect of high- and standard-dose clopidogrel after percutaneous coronary intervention: the GIFT (Genotype Information and Functional Testing) study // *J Am Coll Cardiol*, 2012; 59 (22): 1928–1937.
120. Pyrgakis V. N., Goudevenos J. A. Clopidogrel and cardiovascular diseases: recommendations for its correct use // *Hellenic J Cardiol*, 2010; 51 (1): 83–86.
121. Sangkuhl K., Shuldiner A. R., Klein T. E., Altman R. B. Platelet aggregation pathway // *Pharmacogenet Genomics*, 2011; 21 (8): 516–521.
122. Schmidt M., Johansen M. B., Maeng M., et al. Concomitant use of clopidogrel and statins and risk of major adverse cardiovascular events following coronary stent implantation // *Br J Clin Pharmacol*, 2012; 74 (1): 161–170.
123. Schmidt M., Johansen M. B., Robertson D. J., et al. Use of clopidogrel and calcium channel blockers and risk of major adverse cardiovascular events // *Eur J Clin Invest*, 2012; 42 (3): 266–274.
124. Scott S. A., Sangkuhl K., Gardner E. E., et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for cytochrome P450-2C19 (CYP2C19) genotype and clopidogrel therapy // *Clin Pharmacol Ther*, 2011; 90 (2): 328–332.
125. Serebruany V., Goto S. Clopidogrel and proton pump inhibitors: gastric protection at expense of vascular benefit? // *Thromb Haemost*, 2009; 101 (4): 607–609.
126. Shi S., Klotz U. Proton pump inhibitors: an update of their clinical use and pharmacokinetics // *Eur J Clin Pharmacol*, 2008; 64 (10): 935–951.
127. Shuldiner A. R., O'connell J. R., Bliden K. P., et al. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy // *Jama*, 2009; 302 (8): 849–857.

128. Sibbing D., Koch W., Gebhard D., et al. Cytochrome 2C19*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement // *Circulation*, 2010; 121 (4): 512–518.
129. Sibbing D., Morath T., Stegherr J., et al. Impact of proton pump inhibitors on the antiplatelet effects of clopidogrel // *Thromb Haemost*, 2009; 101 (4): 714–719.
130. Siller-Matula J. M., Krumphuber J., Jilma B. Pharmacokinetic, pharmacodynamic and clinical profile of novel antiplatelet drugs targeting vascular diseases // *Br J Pharmacol*, 2009; 159 (3): 502–517.
131. Siller-Matula J. M., Lang I., Christ G., Jilma B. Calcium-channel blockers reduce the antiplatelet effect of clopidogrel // *J Am Coll Cardiol*, 2008; 52 (19): 1557–1563.
132. Simon T., Bhatt D. L., Bergougnan L., et al. Genetic polymorphisms and the impact of a higher clopidogrel dose regimen on active metabolite exposure and antiplatelet response in healthy subjects // *Clin Pharmacol Ther*, 2011; 90 (2): 287–295.
133. Simon T., Verstuyft C., Mary-Krause M., et al. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events // *N Engl J Med*, 2009; 360 (4): 363–375.
134. Singla A., Antonino M. J., Bliden K. P., et al. The relation between platelet reactivity and glycemic control in diabetic patients with cardiovascular disease on maintenance aspirin and clopidogrel therapy // *Am Heart J*, 2009; 158 (5): 784 e781–786.
135. Small D. S., Farid N. A., Payne C. D., et al. Effects of the proton pump inhibitor lansoprazole on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of prasugrel and clopidogrel // *J Clin Pharmacol*, 2008; 48 (4): 475–484.
136. Sofi F., Giusti B., Marcucci R., et al. Cytochrome P450 2C19*2 polymorphism and cardiovascular recurrences in patients taking clopidogrel: a meta-analysis // *Pharmacogenomics J*, 2010; 11 (3): 199–206.
137. Su J., Xu J., Li X., et al. ABCB1 C3435T polymorphism and response to clopidogrel treatment in coronary artery disease (CAD) patients: a meta-analysis // *PLoS One*, 2012; 7 (10): e46366.

138. Sudhir K., Hermiller J. B., Ferguson J. M., Simonton C. A. Risk factors for coronary drug-eluting stent thrombosis: influence of procedural, patient, lesion, and stent related factors and dual antiplatelet therapy // *ISRN Cardiol*, 2013; 2013 (748736): 748736.
139. Suh J. W., Cha M. J., Lee S. P., et al. Relationship Between Statin Type and Responsiveness to Clopidogrel in Patients Treated with Percutaneous Coronary Intervention: A Subgroup Analysis of the CILON-T Trial // *J Atheroscler Thromb*, 2013; 2013 18.
140. Taubert D., Von Beckerath N., Grimberg G., et al. Impact of P-glycoprotein on clopidogrel absorption // *Clin Pharmacol Ther*, 2006; 80 (5): 486–501.
141. Toma N. Randomized double-blind assessment of the ONSET and OFFSET of the antiplatelet effects of Ticagrelor versus Clopidogrel in patients with stable coronary artery disease. The ONSET/OFFSET study // *Maedica (Buchar)*, 2010; 5 (1): 75–76.
142. Trenk D., Hochholzer W., Frundi D., et al. Impact of cytochrome P450 3A4-metabolized statins on the antiplatelet effect of a 600-mg loading dose clopidogrel and on clinical outcome in patients undergoing elective coronary stent placement // *Thromb Haemost*, 2008; 99 (1): 174–181.
143. Ueno M., Ferreiro J. L., Desai B., et al. Cigarette smoking is associated with a dose-response effect in clopidogrel-treated patients with diabetes mellitus and coronary artery disease: results of a pharmacodynamic study // *JACC Cardiovasc Interv*, 2012; 5 (3): 293–300.
144. Varenhorst C., James S., Erlinge D., et al. Assessment of P2Y₁₂ inhibition with the point-of-care device VerifyNow P2Y₁₂ in patients treated with prasugrel or clopidogrel coadministered with aspirin // *Am Heart J*, 2009; 157 (3): 562 e561–569.
145. Von Beckerath N., Sibbing D., Jawansky S., et al. Assessment of platelet response to clopidogrel with multiple electrode aggregometry, the VerifyNow P2Y₁₂ analyzer and platelet vasodilator-stimulated phosphoprotein flow cytometry // *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2009; 9 9.

146. Von Beckerath N., Taubert D., Pogatsa-Murray G., et al. Absorption, metabolism, and antiplatelet effects of 300-, 600-, and 900-mg loading doses of clopidogrel: results of the ISAR-CHOICE (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose Between 3 High Oral Doses for Immediate Clopidogrel Effect) Trial // *Circulation*, 2005; 112 (19): 2946–2950.
147. Wallentin L., Becker R. C., Budaj A., et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes // *N Engl J Med*, 2009; 361 (11): 1045–1057.
148. Wallentin L., James S., Storey R. F., et al. Effect of CYP2C19 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on outcomes of treatment with ticagrelor versus clopidogrel for acute coronary syndromes: a genetic substudy of the PLATO trial // *Lancet*, 2010; 376 (9749): 1320–1328.
149. Wang T. H., Bhatt D. L., Topol E. J. Aspirin and clopidogrel resistance: an emerging clinical entity // *Eur Heart J*, 2006; 27 (6): 647–654.
150. Wang X. D., Zhang D. F., Zhuang S. W., Lai Y. Modifying clopidogrel maintenance doses according to vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation index improves clinical outcome in patients with clopidogrel resistance // *Clin Cardiol*, 2011; 34 (5): 332–338.
151. White C. M. A review of the pharmacologic and pharmacokinetic aspects of rosuvastatin // *J Clin Pharmacol*, 2002; 42 (9): 963–970.
152. Wijns W., Kolh P., Danchin N., et al. Guidelines on myocardial revascularization // *Eur Heart J*, 2010; 31 (20): 2501–2555.
153. Wijns K. P., Danchin N., Mario D. C., Falk V., Folliguet T., et al. Guidelines for Myocardial Revascularisation. // *Eur Heart J*, 2010; (31) 2051–2555.
154. Williams C. D., Cherala G., Serebruany V. Application of platelet function testing to the bedside // *Thromb Haemost*, 2009; 103 (1): 29–33.
155. Wiviott S. D., Braunwald E., McCabe C. H., et al. Intensive oral antiplatelet therapy for reduction of ischaemic events including stent thrombosis in patients with acute coronary syndromes treated with percutaneous coronary intervention and stenting

in the TRITON-TIMI 38 trial: a subanalysis of a randomised trial // *Lancet*, 2008; 371 (9621): 1353–1363.

156. Wiviott S. D., Braunwald E., McCabe C. H., et al. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes // *N Engl J Med*, 2007; 357 (20): 2001–2015.

157. Wiviott S. D., Trenk D., Frelinger A. L., et al. Prasugrel compared with high loading- and maintenance-dose clopidogrel in patients with planned percutaneous coronary intervention: the Prasugrel in Comparison to Clopidogrel for Inhibition of Platelet Activation and Aggregation-Thrombolysis in Myocardial Infarction 44 trial // *Circulation*, 2007; 116 (25): 2923–2932.

158. Yilmaz M. B., Cihan G., Guray Y., et al. Role of mean platelet volume in triagging acute coronary syndromes // *J Thromb Thrombolysis*, 2008; 26 (1): 49–54.

159. Zahno A., Brecht K., Bodmer M., et al. Effects of drug interactions on biotransformation and antiplatelet effect of clopidogrel in vitro // *Br J Pharmacol*, 2010; 161 (2): 393–404.

PUBLIKĀCIJAS UN ZIŅOJUMI PAR PĒTĪJUMA TĒMU

Publikācija par pētījuma tēmu starptautiski recenzētā izdevumā:

Urtane I., Aitullina A., Pukite K. Clopidogrel and the possibility of drug-drug interaction in the primary health care. *Journal of Young Pharmacists*, 2013; 5:18.–21.

Pieņemts publicēšanai starptautiski citētā zinātniskā izdevumā *Medicina (Kaunas)*:

Latkovskis G., **Urtane I.**, Knipse A., Peculis R., Cakstina I., Klovins J., Erglis A. Role of Genetic Factors on the Effect of Additional Loading Doses and Two Maintenance Doses Used to Overcome Clopidogrel Hyporesponsiveness.

Publikācijas par pētījuma tēmu Latvijas recenzētos zinātniskos izdevumos:

Šaļapina A., Štokmane A.S., **Urtāne I.** Klopidoģrela un citu zāļu vienlaicīgas lietošanas prevalence ambulatorā praksē farmaceita skatījumā. Rīgas Stradiņa universitātes Zinātniskie raksti, 2012; 157.–162. lpp.

Urtāne I., Knipse A., Latkovskis G., Ērglis A. Trombocītu funkciju izvērtēšanas testu piemērotība antiagregantu terapijas efektivitātes novērtēšanai. Latvijas Universitātes raksti (Medicīna), 2011; 773. sēj.: 195.–204. lpp.

Meijere A., **Urtane I.**, Stokmane A.S., Effect of concomitant used drugs on the antiplatelet therapy. Rīga Stradiņš University Collection of Scientific Papers 2011, 2011; 184.–190.

Publikācijas ar zināmu saistību pētījuma tēmai (līdzekļi trombožu ārstēšanai un profilaksei):

Urtane I., Bandere D., Ansabergs J., Stokmane A.S. Role of Clinical Pharmacist in Anticoagulation Management. *Medicinos (Theory and Practice in Medicine)*, 2012; 18 [Brandt et al.]: 189.–192.

Urtane I., Ansabergs J., Stokmane A.S. Role of Clinical Pharmacist in Anticoagulation Monitoring. *Inventi Journals (Clinical Research)*, 2011; 1: 12.–14.

Urtane I., Ansabergs J., Stokmane A.S., Bandere D., Medne R. Analyses of Warfarin Interaction in Cardiology. Rīga Stradiņš University Collection of Scientific Papers 2010, 2011; 180.–184.

Urtāne I., Ansabergs J., Štokmane A.S., Bandere D. Personalizēta antikoagulantu terapija kardioloģijā. *Veterinārmedicīnas raksti*, 2010; 136.–141. lpp.

Konferenču tēzes par pētījuma tēmu:

Latkovskis G., **Urtane I.**, Knipse A., Puceta L., Peculis R., Klovins J., Erglis A. Role of genetic factors on the effect of additional loading doses and two maintenance doses used to overcome clopidogrel hyporesponsiveness. 42th ESCP Symposium on Clinical Pharmacy, Prague, Czech Republic, October 16–18, 2013, Programme and abstract book, P. 77.

Latkovskis G., **Urtane I.**, Knipse A., Puceta L., Peculis R., Klovins J., Erglis A. Role of genetic factors on the effect of additional loading doses and two maintenance doses used to overcome clopidogrel hyporesponsiveness. 6th Baltic Atherosclerosis Congress, Riga, Latvia, October 11–12, 2013. Program and abstracts, P. 30.

Latkovskis G., **Urtane I.**, Knipse A., Puceta L., Peculis R., Klovins J., Erglis A. Role of genetic factors on the effect of additional loading doses and two maintenance doses used to overcome clopidogrel hyporesponsiveness. XXIV Nordic Baltic Congress of Cardiology 2013, Oslo, Norway, June 13–15, 2013. Final program, P. 7.

Urtane I., Pukite K., Aitullina A., Berzina S., Stokmane A.S. Prevalence of drug-drug interaction in the primary health care during clopidogrel therapy. 81th European Atherosclerosis Society Congress, Lyon, France, June 2–5, 2013. Final programme, P.113.

Urtane I., Meijere A., Stokmane A.S. Influence of co-administrated drugs on the antiplatelet therapy. 80th European Atherosclerosis Society Congress, Milan, Italy, 25–28 May, 2012. Final programme, P. 103.

Latkovskis G., Knipse A., **Urtane I.**, Puceta L., Bruvers P., Erglis A. Efficacy of additional loading doses in patients with high on treatment platelet reactivity. International Conference in Pharmacology, Riga, Latvia, 20–21 April, 2012. Abstract book, P. 60.

Puķīte K., **Urtāne I.**, Štokmane A.S., Bērziņa S. Protonu sūkņa inhibitoru un klopidoģrela iespējamā mijiedarbība kombinētās terapijas laikā. Rīgas Stradiņa universitātes Zinātniskā konference, 2012. gada 29.–30. marts. Tēzes, 128. lpp.

Aitullina A., **Urtāne I.**, Štokmane A.S. CYP3A4 inhibitoru ietekme uz klopidoģrela terapiju. Rĩgas Stradiņa universitātes Zinātniskā konference, 2012. gada 29.–30. marts. Tēzes, 125. lpp.

Šaļapina A., **Urtāne I.**, Štokmane A.S. Jaunākās paaudzes antiagregantu pielietoģums farmaceita skatģjumā. Rĩgas Stradiņa universitātes Zinātniskā konference, 2012. gada 29.–30. marts. Tēzes, 152.lpp.

Meijere A., **Urtane I.**, Stokmane A.S. Effect of Concomitant Used Drugs on the Antiplatelet Therapy. LFB starptautiskā konference BaltPharmForum 2011, Ventspils, 27.–29.05.2011.

Latkovskis G., Knipse A., **Urtane I.**, Bruvers P., Puceta L., Gustafsson A., Erglis A. High On-Treatment Platelet Reactivity and Effect of Additional Loading Doses of Clopidogrel in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention With Drug Eluting Stent. XXIII Nordic-Baltic Congress of Cardiology, Riga, Latvia, 16 – 18 June, 2011. Medicina (Suppl.), 2011; 47(1): P.15.

Latkovskis G., Knipse A., **Urtāne I.**, Brũvers P., Gustafsson A., Ērglis A. Samazinātas klopidoģrela efektivitātes riska faktori un novērtēģums ar VASP metodi pacientiem pēc stenta implantāģijas. Rĩgas Stradiņa universitātes Zinātniskā konference 2011. Tēzes, 138.lpp.

Meijere A., Štokmane A.S., **Urtāne I.** Aspirĩna iespēģamās mijiedarbģbas izvērtēģšana antiagregantu terapiģas ambulatorāģā praksē. Rĩgas Stradiņa universitātes Zinātniskā konference 2011. Tēzes, 174.lpp.

Ziņojumi kongresos un konferencēs par pētģjuma tēģu:

Urtāne I., Latkovskis G., Knipse A., Puģeta L., Aitullina A., Ērglis A. Protonu sũķņa inhibitoru ietekme uz klopidoģrela hiporesponsivitāģi pacientiem pēc ar zālēm pārklāģta stenta implantāģijas. RSU 12. Zinātniskā konference, 2013. gada 21.–22. marts. Tēzes, 95.lpp.

Latkovskis G., **Urtāne I.**, Knipse A., Puģeta L., Peģulis R., Kloviņš J., Ērglis A. Klopidoģrela hiporesponsivitātes un rezistences sastopamģba un veicinoģie faktori

pacientiēm pēc DES stenta implantācijas. Latvijas Universitātes 71. Zinātniskā konference, Medicīnas sekcija, 2013. gada 15. februāris. Konferenču programma, 44.lpp.

Latkovskis G., **Urtāne I.**, Knipše A., Pučeta L., Gustafsson A., Brūvers P., Ērglis A. Papildus piesātinošo devu efektivitātes analīze pacientiem ar pazeminātu atbildes reakciju uz klopidoģrela terapiju. Latvijas Universitātes 70. Zinātniskā konference (Medicīnas sekcija), 2012. gada 2. februāris. Tēzes, 41.lpp.

Latkovskis G., Knipše A., **Urtāne I.**, Brūvers P., Gustafsson A., Ērglis A. Klopidoģrela efektivitātes novērtējums ar VASP metodi pacientiem pēc stenta implantācijas – pirmā pieredze Latvijā. Latvijas Universitātes 69. Zinātniskā konference, Medicīnas sekcija, 2011. gada 3. februāris. Tēzes, 43. lpp.

Konferenču tēzes ar zināmu saistību pētījuma tēmai (līdzekļi trombožu ārstēšanai un profilaksei):

Latkovskis G., Zabunova M., Berzina M., **Urtane I.**, Zarakauska L., Erglis A. High sensitivity C-reactive protein levels are associated with total coronary artery occlusions. 6th Baltic Atherosclerosis Congress, Riga, Latvia, October 11–12, 2013. Program and abstracts, P. 28.

Latkovskis G., Zabunova M., Berzina M., Juhneviča D., **Urtane I.**, Zarakauska L., Erglis A. High sensitivity C-reactive protein levels are associated with total coronary artery occlusions. 81th European Atherosclerosis Society Congress, Lyon, France, June 2–5, 2013. Final programme, P. 107.

Latkovskis G., Liciš N., Juhneviča D., Berzina M., Zabunova M., **Urtane I.**, Knipse A., Erglis A. Association of a common interleukin-6 promoter region haplotype with more stable initial course of coronary heart disease. XVI International Symposium on Atherosclerosis (ISA) 2012, Sydney, Australia, 25–29 March, 2012. Final program, Abstract No. 148.

Urtane I., Ansabergs J., Stokmane A. S., Bandere D., Medne R. Strategies of warfarin therapy in the elderly patients. XVI International Symposium on Atherosclerosis (ISA) 2012, Sydney, Australia, 25–29 March, 2012. Final program, Abstract No. 165.

Latkovskis G., Līcis N., Krivmane B., Liepins E., Dambrova M., **Urtane I.**, Knipse A., Zabunova M., Berzina M., Erglis A. Effect of cyclooxygenase-1 polymorphisms on urinary 11-dehydrothromboxane B2 levels in patients undergoing stent implantation pretreated with aspirin. The 79th EAS Congress, 26–29 June, 2011, Gothenburg, Sweden. *Atherosclerosis (Suppl.)*, 2011; 12(1), P. 110.

Urtane I., Ansabergs J., Stokmane A.S., Bandere D. Role of clinical pharmacist in anticoagulation management. 16th Congress of EAHP, Viena, Austria, 30 March to 1 April 2011. Congress abstract book, P. 148.

Latkovskis G., Līcis N., **Urtāne I.**, Zarakauskā L., Zabunova M., Berzina M., Liepiņš E., Dambrova M., Pečulis R., Kloviņš J., Ērglis A. Ģenētisko polimorfismu un antiagregantu rezistences marķieru asociācija ar mirstību pacientiem pēc perkutānas koronāras intervences ar zālēm pildītiem stentiem. Latvijas Universitātes 70. Zinātniskā konference (Medicīnas sekcija), 2012. gada 2. februāris. Tēzes, 42.lpp.

PIELIKUMI



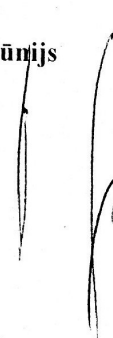
Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas
Attēstības biedrības
KLĪNISKĀS IZPĒTES ĒTIKAS KOMITEJA

Darbojas saskaņā ar SHK LKP noteikumiem ATZINUMS Nr. 300610 – 2L

1. **Protokola nosaukums:** Klopidoģrela rezistences attēstības cēloņi un klīniskā nozīme drošas un efektīvas terapijas nodrošināšanai
2. **Protokola Nr.:** nav
3. **Pētnieka vārds, uzvārds, centra nosaukums un adrese:**
Prof. A. Ērglis - Paula Stradiņa Klīniskā universitātes slimnīca, Pilsoņu iela 13,
Rīga LV-1002, Latvija
4. **Apstiprinātie dokumenti:**
Pieteikums ētikas komitejai ar darba detalizētu aprakstu
Pacienta informācija un piekrišana līdzdalībai pētījumā latviešu un krievu valodā
Pētījuma gaitas atspoguļojums (shematisks)
Pētījuma anketas datu ievākšanai (anamnēze)
PCI (perkutāna koronāra intervence) protokols
Anketa „Follow up vizīte pēc 5 nedēļām” (novērojuma vizīte)
5. **Ētikas komitejas atzinums:** *pozitīvs ar norādījumu: ievērot normatīvo aktu prasības par personu iesaistīšanu zinātniskajā izpētē un datu apstrādē*
6. **Ētikas komitejas locekļi, kuri piedalījās balsošanā:**

Ilze Aizsilniece – ģimenes ārste	Inga Štrāle – filologs
Dainis Krieviņš – asinsvadu ķirurgs	Irina Vinnika – biologs
Juris Pokrotnieks - gastroenterologs	Daina Biseniece – ķīmiķe
Biruta Kupča - psihiatrs	Pēteris Ersts - jurists
7. **Ētikas komitejas sēdes datums:** 2010. gada 30. jūnijs

Ētikas komitejas priekšsēdētājs:


Doc. Pēteris Stradiņš


Paula Stradiņa klīniskās universitātes slimnīcas Attēstības biedrība
Pilsoņu 13, Rīga, LV- 1002, Tel. +371 7611353; Fax. +371 7069946, E – pasts: etikas-komiteja@stradini.lv

Centrālā medicīnas ētikas komiteja

Brīvības iela 72, Rīga, LV-1011 • Tālr. 67876182 • Fakss 67876071 • E-pasts: vm@vm.gov.lv

Rīgā

24.05.2011. Nr.01-29.1/11

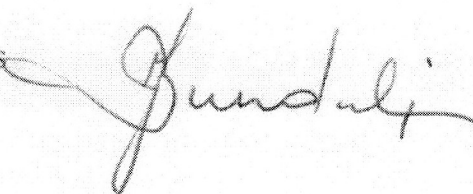
**Sadarbības projekta "Slimību etioloģijas,
patoģenēzes un cilvēka novecošanas procesu
ģenētiska izpēte Latvijas populācijā"
vadītājam Jānim Kloviņam.**

*Atzinums Nr.01-29.1/11 par pieteikuma projektu-
Sadarbības projekta "Slimību etioloģijas, patoģenēzes
un cilvēka novecošanas procesu ģenētiska izpēte
Latvijas populācijā" apakšprojektu „Koronārās
sirds slimības molekulārā ģenētika”*

Centrālā medicīnas ētikas komiteja 2011.gada 24.maijā izskatīja Sadarbības projekta "Slimību etioloģijas, patoģenēzes un cilvēka novecošanas procesu ģenētiska izpēte Latvijas populācijā" vadītāja Jāņa Kloviņa iesniegto pieteikuma projektu - Sadarbības projekta "Slimību etioloģijas, patoģenēzes un cilvēka novecošanas procesu ģenētiska izpēte Latvijas populācijā" apakšprojektu „Koronārās sirds slimības molekulārā ģenētika”.

Pamatojoties uz Centrālā medicīnas ētikas komitejas 2011. gada 24.maija sēdes protokola Nr.2 punktu 4, Sadarbības projekta "Slimību etioloģijas, patoģenēzes un cilvēka novecošanas procesu ģenētiska izpēte Latvijas populācijā" vadītājam Jānim Kloviņam tiek izsniegts atzinums, ka iesniegtais pieteikuma projekts - Sadarbības projekta "Slimību etioloģijas, patoģenēzes un cilvēka novecošanas procesu ģenētiska izpēte Latvijas populācijā" apakšprojekts „Koronārās sirds slimības molekulārā ģenētika” nav pretrunā ar bioētikas normām.

Centrālās medicīnas ētikas
komitejas priekšsēdētājs



J.Bundulis