



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KARDİYOVASKÜLER HASTALARDA
ANTİTROMBOSİTİK TEDAVİYE YANITIN
OPTİK AGREGOMETRE VE PFA-100 İLE İNCELENMESİ**

Dr. Engin SAĞDİLEK

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2004



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KARDİYOVASKÜLER HASTALARDA
ANTİTROMBOSİTİK TEDAVİYE YANITIN
OPTİK AGREGOMETRE VE PFA-100 İLE İNCELENMESİ**

Dr. Engin SAĞDİLEK

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Kasım ÖZLÜK

BURSA – 2004

İÇİNDEKİLER

TÜRKÇE ÖZET	ii,iii
İNGİLİZCE ÖZET	iv,v
GİRİŞ	1-14
GEREÇ VE YÖNTEM	15-21
BULGULAR	22-31
TARTIŞMA VE SONUÇ	32-42
EKLER	43-54
KAYNAKLAR	55-61
TEŞEKKÜR	62
ÖZGEÇMİŞ	63

ÖZET

Kardiyovasküler hastalarda primer ve sekonder koruma amacıyla kullanılan aspirin ve ADP reseptör antagonistleri gibi antitrombotik ilaçların ciddi vasküler olayları anlamlı olarak azalttığı birçok klinik çalışma ile gösterilmiştir. Biz bu antitrombotik ilaçların trombositler üzerindeki etkilerini optik agregometre ve PFA-100 ile değerlendirdik ve antitrombotik tedaviye karşı bireysel farklılıkların olup olmadığını araştırdık. En az 6 aydan beri düzenli olarak 100 mg/gün aspirin (Aspirin grubu, n=37), 500 mg/gün tiklopidin (TİK) veya 75 mg/gün klopidoğrel (KLO) (TİK/KLO grubu, n=18) veya kombine antitrombotik tedavi kullanan (Aspirin+TİK/KLO grubu, n=10) 65 stabil kardiyovasküler hastayı, kardiyoloji polikliniği tarafından aspirin başlanması uygun görülen 12 hastayı (tedavi başlamadan önce ve tedavi sonrası) ve 22 sağlıklı gönüllüyü değerlendirdik. Optik agregometrede ADP, kollajen (COL) ve epinefrine (EPI) karşı meydana gelen % maksimum agregasyon cevaplarını ve maksimum agregasyona ulaşma sürelerini ve PFA-100 ile Kollajen/Epinefrin (Col/Epi) ve Kollajen/ADP (Col/ADP) kartuşlarında kapanma zamanlarını (KZ) saptadık. Optik agregometreye göre aspirinin özellikle EPI ve COL'e karşı, TİK/KLO'nin ise esas olarak ADP'ye karşı olan agregasyonu düşürdüğü gözlemlendi. Kombine ilaç grubunda en düşük maksimum agregasyon yanıtları alındı. Antitrombotik ilaç kullanımı anlamlı olarak ADP ve COL'e karşı olan maksimum agregasyona ulaşma süresini kısalttı. PFA-100'de aspirin kullanımı Col/Epi kartuşu KZ'nı uzatırken ADP reseptör antagonistleri her iki kartuş KZ'na da etki göstermedi. Optik agregometrede 3 uyarıcı ajan ve PFA-100'de Col/Epi kartuşu esas alınarak toplam 4 parametreden en az ikisine göre aspirin direnci sıklığı %13,5 olarak bulundu. TİK/KLO grubunda bir hastada tedavinin trombositler üzerinde etkisiz olduğu gözlemlendi. Aspirine yeni başlanan grupta tedavi öncesi değerlerin kontrol ile tedavi sonrası değerlerin aspirin grubuyla benzerlik gösterdiği saptandı. Aspirine yeni başlanan grupta 4 hastanın ilk değerlerine göre epinefrine cevapsız olduğu bulundu.

Sonuç olarak antitrombositik tedaviye karşı cevabın her hastada benzer olmadığını gösterdik. Bu nedenle antitrombositik tedavinin yeterliliğinin mutlaka her hasta için değeriendirilmesi ve tedavinin bu sonuçlara göre yönlendirilmesi gerektiğini düşündük.

Anahtar kelimeler: Trombositler, Antitrombositik tedavi, Optik agregometre, PFA-100.

SUMMARY

INVESTIGATION OF THE RESPONSE TO ANTIPLATELET THERAPY IN CARDIOVASCULAR PATIENTS BY OPTICAL AGGREGATION AND PFA-100

It has been shown in many clinical studies that, antiplatelet drugs such as aspirin and ADP receptor antagonists, which are used for primary and secondary prophylaxis in cardiovascular patients significantly decrease severe vascular events. We evaluated the effects of these antiplatelet drugs on platelets by optical aggregation and PFA-100 and investigated the presence of individual differences to antiplatelet therapy. We evaluated 65 stable cardiovascular patients, who have been taking regularly 100 mg/day aspirin (Aspirin group, n=37), 500 mg/day ticlopidine (TIC) or 75 mg/day clopidogrel (CLO) (TIC/CLO group, n=18) or combined antiplatelet therapy (Aspirin + TIC/CLO group, n=10) for at least 6 months, 12 outpatients who have been recently prescribed aspirin by the cardiology department (before and after the therapy) and 22 healthy volunteers. By optical aggregation, we determined the maximum aggregation response % to ADP, collagen (COL) and epinephrine (EPI) and the duration of maximum aggregation, and by PFA-100 we determined the closure times (CT) in collagen/epinephrine (Col/Epi) and collagen/ADP (Col/ADP) cartridges. By optical aggregation, aspirin decreased the aggregation particularly to EPI and COL, and TIC/CLO decreased the aggregation mainly to ADP. The lowest maximum aggregation responses were obtained in combined antiplatelet therapy group. Antiplatelet therapy significantly decreased the duration of maximum aggregation to ADP and COL. In PFA-100, aspirin extended the CT in Col/Epi cartridge, while ADP receptor antagonists were ineffective in both cartridges' CT. Based on 3 stimulating agents in optical aggregation and on Col/Epi cartridge in PFA-100, incidence of aspirin resistance was found to be 13,5 %, according to at

least two of a total of 4 parameters. The therapy was observed to be ineffective on platelets in one patient in TIC/CLO group. Premedication values were similar to the control group and postmedication values were similar to the aspirin group, in patients who have recently been prescribed aspirin. In this group, 4 patients were considered to be nonresponsive to epinephrine, with respect to their previous values.

As a result, we showed that the response to antiplatelet therapy is not similar in all patients. Therefore, we suggest that the adequacy of the antiplatelet therapy should be evaluated individually for each patient and directed according to these data.

Key Words: Platelets, Antiplatelet therapy, Optical Aggregation, PFA-100

GİRİŞ

Miyokard infarktüsü (MI), inme ve periferik vasküler hastalıklar gibi kardiyovasküler hastalıklar birçok gelişmiş ülkede ve ülkemizde gerek mortalite gerekse morbidite nedeni olarak ilk sırada yer alan hastalıklardan biridir. Ortalama yaşam süresinin uzaması ve gelişen tedavi olanakları nedeniyle, tekrarlayan kardiyovasküler olaylara maruz kalan hasta sayısı artmaktadır (1).

Ciddi vasküler olaylar olarak tanımlanan non-fatal MI, non-fatal inme ve vasküler ölüm gibi olayların patofizyolojisinde, aterosklerotik zeminde gelişen arteriyel trombüslerin (tıkayıcı vasküler olay) olduğu bilinmektedir.

En genel anlamda ateroskleroz sürecinin; zararlı ve inflamatuvar uyarıları, yerel hemodinamik ortamı, genetik etkileri ve bunların sonucunda ortaya çıkan hiperlipidemik ya da dislipoproteinemik bir ortamda arter duvarının kendini onarma yönündeki yanıtlarını kapsayan, birbiriyle etkileşim içindeki çok sayıdaki süreçten oluştuğu söylenebilir. Aterogenezin hemen her aşamasında lezyon üzerinde trombosit kümeleri veya mural trombüsler görülebilir. Trombositler nukleusu olmadığı için protein üretememelerine karşın oldukça aktif enzim sistemlerine sahiptirler. Enzimatik reaksiyonlarla oluşturdukları veya ekstrasellüler sıvıdan endositoz ile aldıkları çok sayıdaki değişik mitojeni, sitokini veya vazoaktif maddeyi granüllerinde depolarlar. Endotel hasarında olduğu gibi herhangi bir biçimde tetiklenen trombosit aktivasyonu ve agregasyonu, sonuçta bu maddelerin salıverilmesine neden olur. Büyük olasılıkla bu mekanizma aterogenezde rol oynamaktadır. Yüksek katekolamin düzeyi, stres ve sigaranın trombosit agregasyonunu artırarak bu mekanizmayı hızlandırdığı düşünülmektedir. Yine de trombositlerin asıl etkisi, aterosklerozun bu erken evrelerinde değil, ilerlemiş lezyonun tehlikeli bir komplikasyonu olan trombüs oluşumundadır (1-4).

Aterosklerotik plağın çatlaması ile arteriyel trombüsün oluşumunda merkezi bir role sahip olan trombositlerin, kardiyovasküler hastalıkların en önemli sonuçları olan ciddi vasküler olaylardaki rolü açıktır. Trombosit fonksiyonunu engelleyen ilaçların (antitrombotik ilaçlar) bu sonuçların tedavisi ve önlenmesinde büyük yararlar sağladığı birçok klinik çalışma ile ortaya konmuştur. Bu çalışmaların en büyüklerinden biri “Antithrombotic Trialists’ Collaboration”ın (ATC) 287 farklı çalışmanın meta-analizini yaptıkları ve 135.000 hastada antitrombotik tedavinin kontrol ile ve 77.000 hastada antitrombotik tedavinin farklı bir antitrombotik tedavi ile karşılaştırıldığı son çalışmalarıdır (5).

Tıkalıcı vasküler olay riskinin arttığı hastalıklarda riskin büyüklüğüne bakmaksızın ve yaş, cinsiyet, kan basıncı ve diyabet öyküsünün önemi olmaksızın, antitrombotik tedavi ciddi vasküler olay sıklığını %25 azaltmaktadır. Tıkalıcı vasküler olay riskinin arttığı hastalıklar olarak akut MI veya iskemik inme; anstabil veya stabil angina; MI, inme veya serebral iskemik öyküsü; periferik arter hastalığı ve atrial fibrilasyon gösterilmiştir. Ciddi vasküler olay olarak tanımlanan non-fatal MI’de tek başına %34, non-fatal inmede tek başına %25 ve vasküler ölümlerde tek başına %15 oranında antitrombotik tedavi ile azalma gözlenmiştir (Tablo-1).

Tablo-1: “Antithrombotic Trialists’ Collaboration”ın son değerlendirmesine göre, antitrombotik tedavi ile ciddi vasküler olayların azalış oranları.

“Tıkalıcı vasküler olay” riskinin arttığı hastalıklarda;

- Akut MI veya iskemik inme,
- Anstabil veya stabil angina,
- MI, inme veya serebral iskemik öyküsü,
- Periferik arter hastalığı,
- Atrial fibrilasyon

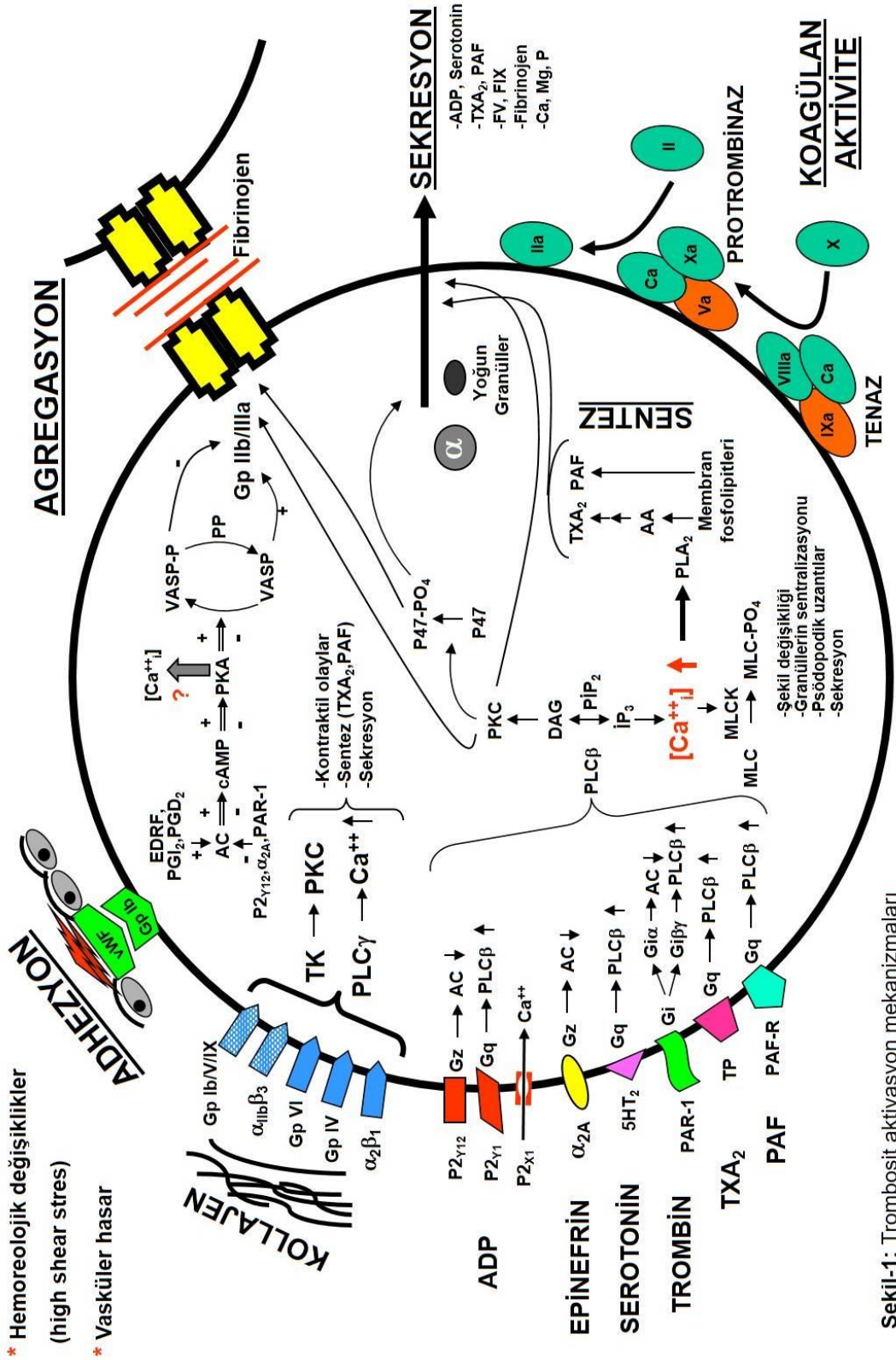
Antitrombotik tedavi ile “Ciddi vasküler olay” sıklığı %25 azalmıştır.

- | | |
|----------------------|-----|
| - Non-fatal MI’de | %34 |
| - Non-fatal inme’de | %25 |
| - Vasküler ölümlerde | %15 |

“Antithrombotic Trialists’ Collaboration” (BMJ 2002; 324)

Tıkayıcı vasküler olayın oluşumunda ve antitrombotik tedavi sonucu ciddi vasküler olay sıklığındaki anlamlı azalışta önemli bir yere sahip olan trombositler ince, disk şeklinde, dolaşımdaki ömürleri 8-10 gün kadar olan, kemik iliğindeki megakaryositlerden türeyen, ufak hücrelerdir.

Trombositlerin vasküler hasar bölgesinde aktive olmaları birçok uyarıcı ajana ve olaya bağlıdır (Şekil-1). Öncelikle vasküler hasar bölgesinde veya aterom plağının çevresinde, kan akımındaki değişimlere de bağlı olarak, endotel hücreleri tarafından sentezlenen dolaşımdaki von Willebrand Faktör (vWF), trombosit yüzeyindeki glikoprotein Ib (GP Ib, GP Ib/V/IX kompleksi) reseptörleri ile birleşir ve trombositleri subendotelyal moleküllere bağlayarak, vasküler hasar bölgesini örten yapışık, tek katlı bir trombosit tabakası oluşmasına yol açar. Subendotelyal dokunun ana bileşeni olan kollajenin trombositler üzerindeki reseptörleri integrinler ve GP kompleksleri olup [$\alpha_2\beta_1$, GP IV, GP VI (direkt kollajenle), GP Ib/V/IX, $\alpha_{IIb}\beta_3$ (vWF ile birlikte)], hücre içi etkilerini tirozin kinazlar ve fosfolipaz C γ (PLC γ) üzerinden gösterirler. Trombositlerin vasküler hasar bölgesine yapışmaları ve aktive olmalarıyla birlikte o bölgede yoğunlaşan uyarıcı ajanlar [trombin, adenosin difosfat (ADP), serotonin, epinefrin, tromboksan A₂ (TXA₂), trombosit aktive edici faktör (PAF)] spesifik reseptörleri üzerinden trombosit aktivasyonuna ve agregasyonuna katkıda bulunurlar. Bu uyarıcı ajanların reseptörleri genelde, membranı 7 kez geçen, G protein bağlı reseptör ailesinden olup, hücre içi etkilerini G proteinler üzerinden gösterirler. Aynı zamanda iyonotropik reseptörleri olan uyarıcı ajanlarda vardır (ADP). Bunlar iyon kanallarıyla bağlantılıdır. Yoğunlukla Ca⁺⁺ kanallarını aktive ederek hücre içine hızlı Ca⁺⁺ girişini sağlarlar.



Uyarıcı ajanın G protein bağı reseptörünü uyarması ile birlikte Gi ve Gz proteinlerin α alt birimleri trombosit membranının iç yüzeyinde yer alan adenilat siklazı (AC) inhibe ederek trombosit içi siklik adenozin monofosfat (cAMP) seviyelerini azaltırlar. cAMP bağımlı protein kinazların inhibe olması sonucu spesifik sinyal proteinlerinin fosforilasyonu engellenir ve trombosit aktive olur. Bu spesifik sinyal proteinlerinin en önemlilerinden biri “vazodilatasyon ile uyarılan fosfoprotein” (Vasodilator-stimulated phosphoprotein: VASP)’dir. Prolinden zengin protein ailesinin bir üyesi ve hücre iskeleti ile ilişkili bir protein olan VASP, aktif haldeyken fibrinojen reseptörlerinin (GP IIb/IIIa = $\alpha_{IIb}\beta_3$) trombosit membranına ekspresyonuna aracılık eder. Endojen endotelial kaynaklı siklik nükleotid arttırıcı vazoaktif ajanların (EDRF, PGI_2 , PGD_2) trombosit aktivasyonunu baskıladıkları bilinmekte ve bu etkilerini VASP fosforilasyonunu arttırarak oluşturdukları ileri sürülmektedir.

Gq protein α alt birimlerinin ve Gi protein $\beta\gamma$ altbiriminin uyarılması ile PLC β aktive olur ve trombosit membranındaki fosfoinositol 4-5 difosfat’tan (PIP₂) inositol trifosfat (IP₃) ve diaçilgliserol (DAG) oluşur. IP₃ üzerinden hücre içi Ca⁺⁺ konsantrasyonunun artması ve DAG üzerinden protein kinaz C’nin (PKC) uyarılmasıyla trombosit aktivasyonu gerçekleşir.

Trombosit içi Ca⁺⁺ konsantrasyonunun artması miyozin hafif zincir kinaz’ı (MLCK) aktifler ve miyozin hafif zincirlerinin fosfatlanmasıyla trombositte şekil değişikliği meydana gelir. Granüller merkezde toplanır, psödopodik uzantıları oluşur ve ardından sekresyon gerçekleşir. Ca⁺⁺’un PLA₂’yi aktive etmesi ile hücre membranı fosfolipitlerinden araşidonik asit (AA) salınımı olur. Siklooksijenaz ve tromboksan sentaz üzerinden güçlü bir uyarıcı ajan olan TXA₂ sentezi gerçekleşir. Aynı zamanda membran fosfolipitlerinden PAF sentezide olur. Trombosit α ve yoğun granüllerinin ve sentezlenen TXA₂ ve PAF’ın sekresyonu sonucu trombositler daha da uyarılırlar.

PKC üzerinden 47 Dalton ağırlıklı protein (P47) fosfatlanır ve bu proteinin fosfatlanması ile fibrinojen reseptörlerinin (GP IIb/IIIa) trombosit membranına ekspresyonu görülür. P47'nin aktive olması aynı zamanda sekresyonda katkıda bulunur.

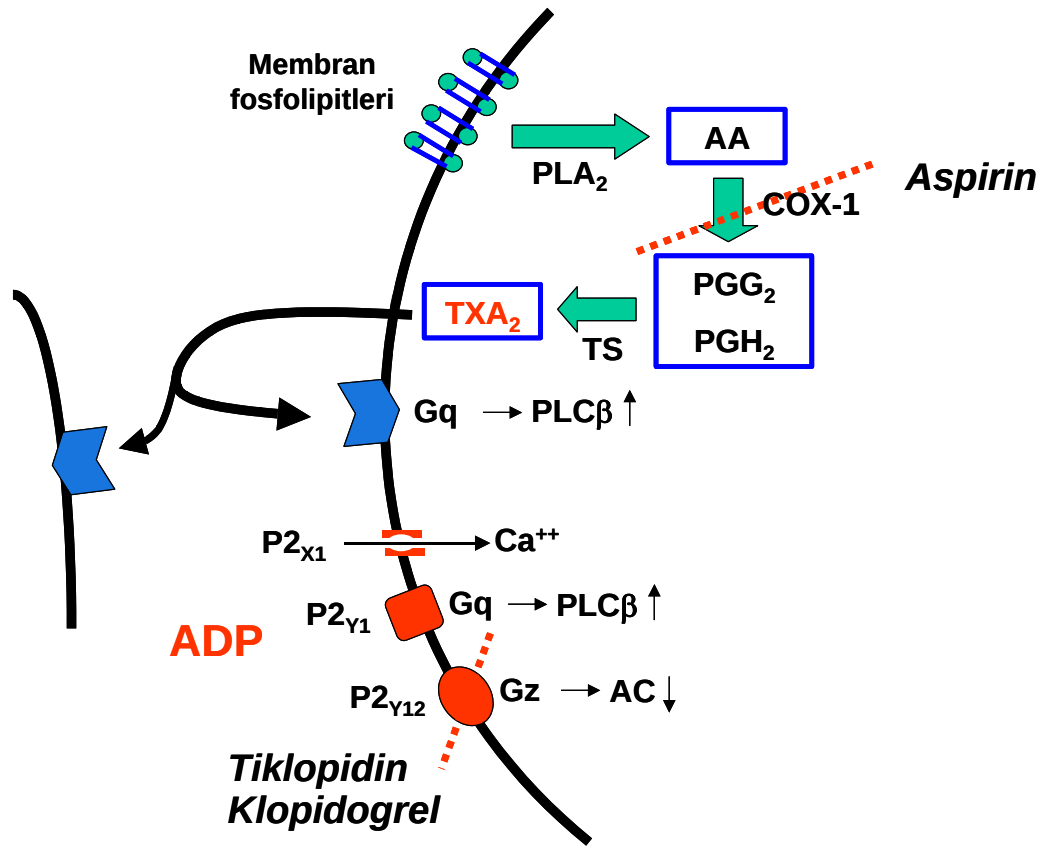
Ayrıca trombosit aktivasyonunun başlaması ile birlikte hücre membranında açığa çıkan FV ve FIX reseptörlerinin, plazmada bulunan veya granül sekresyonuyla açığa çıkan FV ve FIX'u bağlayıp aktifleştirerek, trombosit membranında Tenaz ve Protrombinaz komplekslerini meydana getirdiği bilinmektedir. FIXa, FVIIIa ve Ca^{++} 'dan oluşan Tenaz kompleksi FX'u aktif hale getirir. FVa, FXa ve Ca^{++} 'dan oluşan Protrombinaz kompleksi, protrombini trombine çevirir. Sonuçta oluşan trombin hem koagülasyon mekanizmasının son ürünü olan fibrini meydana getirirken, hem de güçlü bir trombosit uyarıcı ajandır (6-8).

Tüm bu karışık aktivasyon mekanizmalarının sonucu olarak trombosit agregasyonu meydana gelir, koagülasyon mekanizması aktive olur ve arteriyel trombüs oluşur. Daha çok sayıda trombosit aktive oldukça agregat bir damarı tıkayabilen veya parçalanarak kan akışı yönünde embolize olabilen beyaz trombüs halinde büyümeye devam eder (2,4).

Trombosit aktivasyonunun böyle çok yönlü olduğunun bilinmesi, antitrombotik tedavinin birçok farklı yolağı engellemesi gerektiğini düşündürmektedir. Oysa klinikte oldukça az sayıda antitrombotik ilaç kullanılmaktadır ve bunların karşı çıkılamaz şekilde en önemlisi, en fazla kullanılanı ve etkileri üzerine en çok araştırma yapılmış olanı asetilsalisilik asittir (ASA).

ASA ilk defa 1897'de Felix Hoffman tarafından ticari olarak geliştirildi ve aspirin adı altında kayıtlara geçti. Ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak kullanılan aspirinin trombositler üzerinde antitrombotik etki gösterdiğinin saptanması ile bu etkinin mekanizması üzerine yapılan çalışmalar ancak

1971’de Sir John Vane tarafından çözümlendi. Aspirinin antitrombotik etkisi, trombositlerde TXA_2 biyosentezinin inhibe edilmesine dayanır (Şekil-2). AA’ten TXA_2 sentezinde rol alan enzimlerden biri olan siklooksijenaz-1 (COX-1) enzimini seçici ve güçlü bir şekilde inhibe eder; inhibisyonun moleküler mekanizması, enzimin peptid zincirinin 529. aminoasidi olan serin’in hidroksil grubunun aspirinden transfer edilen asetil grubu tarafından geri dönüşümsüz olarak asetillenmesidir. TXA_2 , aktive trombositlerin asıl COX ürünüdür ve pozitif feedback şeklinde etki göstererek trombositlerin daha fazla aktive olmalarını sağlar. Damar endotelinde antitrombotik etkili prostasiklin’in sentezini yapan COX üzerindeki inhibitör etkisi zayıftır (9-12).



Şekil-2: Antitrombotik ilaçların etki mekanizmaları.

Normal gönüllülerde ve aterosklerotik hastalarda serum TXB₂ (TXA₂'nin inaktif metaboliti) düzeyindeki ve idrarda tromboksan metabolitlerinin atılımındaki azalma üzerinden yapılan ölçümlerde, ağızdan tek doz olarak 5-100 mg doz aralığında verilen aspirinin, trombositlerin COX etkinliğini doza bağımlı bir biçimde inhibe ettiği saptanmıştır. Normal gönüllülerde 100 mg aspirin söz konusu etkinliği hemen hemen tamamen inhibe etmiştir. Enzimin inhibisyonu aspirin yeterli dozda verilmiş ise çabuk olur ve trombositlerin nükleusu bulunmadığından yeni protein sentez edemezler. Bu nedenle tek doz aspirinin yaptığı geri dönüşümsüz inhibisyon, yeni yapılan trombositler inhibe edilenlerin yerini alana kadar trombosit ömrü boyunca (yaklaşık 8-10 gün) tam olarak ortadan kalkmaz. Bu durum aspirin gibi sistemik dolaşımdaki yarılanma ömrü 20 dakika olan bir ilacın neden günde tek doz verilmesi ile bile terapötik etki yaptığını ve günde bir verilen düşük aspirin dozlarının neden kümülatif etki oluşturduğunu açıklar.

Aspirinin trombosit COX'ını, damar endotelindeki prostasiklin sentezini yapan COX'a göre daha fazla inhibe etmesinde iki olayın rol oynadığı düşünülmüştür. 1- Damar endotel hücrelerinde, trombositlerden farklı olarak nükleus bulunduğu için, orada inhibe edilen enzimin yerine yeni enzim sentez edilir; bundan dolayı endoteldeki inhibisyon geri dönüşümlüdür. 2- Ağızdan alınan aspirin gastrointestinal sistemden emildikten sonra portal dolaşımda yüksek bir konsantrasyonda değişmemiş şekilde bulunur. Karaciğerden geçerken hızlı bir şekilde asetil grubunu kaybedip salisilat dönüşür (ilk geçiş eliminasyonu). Bu nedenle aspirin sistemik dolaşımda etkisi çok az olan salisilat şeklinde bulunur.

İnsanlarda yapılan incelemelerde aspirinin belirgin antitrombotik etkili en küçük dozu 0,5 mg/kg (30-50 mg) bulunmuştur. Etkili bir antitrombotik tedavi için aspirin ilk gün yükleme dozunda (200-300 mg) verilir ve sonra günde 75-100 mg verilerek antitrombotik etkinlik idame ettirilir. Dozun gereksiz olarak artırılması yan etki sıklığını ve şiddetini artırır (10-12).

ATC'nin son değerlendirmesine göre aspirinin farklı dozlarının yüksek riskli hastalarda kontrol grubuna göre ciddi vasküler olay sıklığını ne kadar azalttığı Tablo-2'de verilmiştir. Tüm dozlarının değerlendirmesi olarak aspirin yüksek riskli hastalarda ciddi vasküler olay sıklığını % 23 azaltmıştır. Tablo-2'de de görüldüğü gibi en etkin koruma 75-150 mg dozlarında gözlenmiştir. Yüksek dozlarda muhtemelen prostasiklin'in inhibe olması ve yan etkilerin artması antitrombotik yararlanımı azaltmaktadır (5).

Tablo-2: Aspirinin farklı dozlarının yüksek riskli hastalarda kontrol grubuna göre ciddi vasküler olay sıklığına etkileri.

500-1500 mg aspirin	%19
160-325 mg aspirin	%26
75-150 mg aspirin	%32
<75 mg aspirin	%13
Aspirin	%23 daha az ciddi vasküler olay.
“Antithrombotic Trialists’ Collaboration” (BMJ 2002; 324)	

Antitrombotik ilaçların bir diğer grubu ADP reseptör antagonistleridir. Tienopiridin türevi olan bu ilaçlar tiklopidin ve klopidoğrel'dir.

ADP güçlü bir trombosit uyarıcı ajandır. Trombosit yoğun granüllerinden (ATP, GDP, GTP, Serotonin, Ca, Mg, P ile birlikte), endotelial hücrelerden ve eritrositlerden salınır. ADP reseptörleri birçok hücrede bulunur ve nükleotid veya pürinerjik reseptörler ailesindendir. Trombositlerde iyonotropik P2_{x1} ve metabotropik P2_{y1} ve P2_{y12} olmak üzere üç farklı tip ADP reseptörü bulunur. Trombositlerin ADP ile tam bir agregasyon meydana getirebilmesi için P2_{y1} ve P2_{y12} reseptörlerinin birlikte aktivasyonu gereklidir. Temel olarak P2_{y1} reseptörleri üzerinden PLC β 'nin aktivasyonu ile trombosit şekil değişikliği ve agregasyon gözlenirken P2_{y12} reseptörleri üzerinden AC'ın

inhibe olması ve trombosit içi cAMP seviyelerinin azalması ile trombosit aktivasyonu meydana gelir (13-17).

Tiklopidin ve klopidoğrel ADP P_{2Y12} reseptör antagonistidirler (Şekil-2) (18,19). AC'ın inhibe olmasını engelleyerek hücre içi cAMP seviyelerini yüksek tutarlar. Trombosit içi cAMP seviyelerinin yüksek olması VASP'ın fosforilasyonunu arttırarak fibrinojen reseptörlerinin ekspresyonunu baskılar.

Tiklopidin, perkütan koroner girişimlerde ve serebrovasküler hastalıklarda trombozun önlenmesi amacıyla kullanılmış ve en az aspirin kadar etkili bulunmuştur. Ancak tiklopidin ile ilgili en büyük sorun yan etkilerinin çok ciddi olabilmesidir. Fatal kan diskrazilerine sebep olabilir. Klopidoğrel'in moleküler yapısı tiklopidin'e benzese de yan etkileri onun kadar ciddi değildir (18,19). Klopidoğrel'de yine perkütan koroner girişimlerden sonra ve inmenin sekonder profilaksisinde kullanılmış, etkili sonuçlar alınmıştır (5,7,20-28).

Tiklopidin ve klopidoğrel ön-ilaçtırlar, metabolitleri aktiftir. Aktivasyonları için hepatik sitokrom P-450 enzim sistemine gereksinim gösterirler. Aktif metabolitleri henüz net olarak tanımlanamamıştır. Gastrointestinal kanaldan hızlıca emilirler ve biyoyararlanımları yüksektir. Trombositler üzerindeki maksimum etkileri kullanıma başladıktan 3-5 gün sonra görülür. İlaçlar kesildikten sonra trombositler normal fonksiyonlarına en az 3 gün sonra dönerler (18,19).

ATC'nin son değerlendirmesinde tiklopidin ve klopidoğrel aspirin ile karşılaştırılmış ve yüksek riskli hastalarda ciddi vasküler olay sıklığının sırasıyla %12-10 daha az olduğu gösterilmiştir. Tiklopidin kontrol ile kıyaslandığında %32 daha az ciddi vasküler olay olduğu bulunmuştur (Tablo-3)(5).

Tablo-3: ADP reseptör antagonistlerinin (Tiklopidin ve Klopidoğrel) aspirin ve kontrol ile karşılaştırıldığında ciddi vasküler olay sıklığına etkileri.

Tiklopidin	X	Aspirin	%12
Klopidoğrel	X	Aspirin	%10
Tiklopidin			%32 daha az ciddi vasküler olay.
“Antithrombotic Trialists’ Collaboration” (BMJ 2002; 324)			

Yukarıda açıldığımız gibi trombositler birçok aktivasyon mekanizmasına sahiptirler. Farklı aktivasyon yollarını engelleyen antitrombotik ilaçların birlikte kullanılması sinerjistik etkileşim göstermektedir. Aspirinin TXA₂ sentezini inhibe etmesi ve ADP reseptör antagonistlerinin (TİK/KLO) ADP ile uyarılan aktivasyonu önlemesi Aspirin + TİK/KLO kombinasyonunun daha güçlü antitrombotik etkisini açıklamaktadır (10-12).

Yine ATC’nin son değerlendirmesinde Aspirin + Tiklopidin kombinasyonunun tek başına aspirine göre yüksek riskli hastalarda ciddi vasküler olay sıklığını %20 daha fazla azalttığı, aspirinin herhangi bir antitrombotik ilaçla kombinasyonunun kontrole göre %30 daha az vasküler olay yaşadığı gösterilmiştir (Tablo-4) (5).

Tablo-4: Antitrombotik ilaç kombinasyonlarının aspirin ve kontrole göre ciddi vasküler olay sıklığına etkileri.

Tiklopidin + Aspirin	X	Aspirin	%10
Aspirin + Farklı bir antitrombotik			%30 daha az ciddi vasküler olay.
“Antithrombotic Trialists’ Collaboration” (BMJ 2002; 324)			

Bir grup olarak antitrombotik ilaçların en önemli yan etkileri kanamaya sebep olabilmeleridir. Kanama en sık gastrointestinal kanalda gözlenmektedir. Aspirinin gastrointestinal sistemde koruyucu PG'lerin sentezini engellemesi temel sebep gibi görülmüş, PG'lerin senteziyle ilişkili olmayan ADP reseptör antagonistlerindeki aspirin kadar olmasada, kanamalara sebep oldukları bildirilmiştir (10-12,18,19).

Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda aspirinin tüm hastalarda benzer şekilde etki göstermediği, uygun tedavi dozlarında kullanılmasına rağmen trombotik veya embolik vasküler olay yaşayan hastalar olduğu gösterilmiştir. Trombosit agregasyonu, trombosit reaktivitesi, kanama zamanı, TXA₂ üretimleri ve tromboksan metabolitlerinin saptanması, in vitro primer hemostazın değerlendirilmesi gibi bir takım laboratuvar sonuçları ile trombositlerde aspirine cevabın farklı olduğu ortaya konmuştur. Antitrombotik tedavi amacıyla aspirin kullanılmasına rağmen tıkatıcı vasküler olayların ortaya çıkması ve laboratuvar araştırmalarında trombosit fonksiyonlarının aspirine normal cevap verenlere göre yeterince inhibe edilemediğinin gösterilmesi "aspirin direnci" olarak tanımlanmıştır (29-32).

Patricia AG ve arkadaşları 325 stabil kardiyovasküler hasta üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında optik agregometreye göre %5,5 ve in vitro primer hemostazın değerlendirilmesine göre %9,5 oranında aspirine direnç bulmuşlardır. Optik agregometreye göre aspirine direnç gösteren hastaları yaklaşık iki yıl izlemişler ve direnç gösteren hastaların göstermeyenlere göre daha fazla ciddi vasküler olay yaşadığını saptamışlardır. Uzun dönem takip sonuçlarındaki ciddi vasküler olay sıklığındaki artışın aspirin direnci, yaş, trombosit sayısı ve kalp yetmezliği ile birbirinden bağımsız olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir (29,30).

Armin JG ve arkadaşlarının iskemik inme hastalarında yapmış oldukları bir çalışmada in vitro primer hemostaza göre %16,1 oranında aspirin direnci saptamışlardır (33). Kanama zamanına göre yapılan bir başka çalışmada %42,5 oranında aspirin direnci bulunmuştur (34).

Yine son zamanlarda yayınlanan bazı çalışmalarda perkutan koroner girişimlerden sonra stent trombozunu önlemek amacıyla çoğu klinikte standart bir uygulama olan Aspirin + TİK/KLO tedavisine rağmen yinede bazı hastalarda trombozun geliştiği, yapılan laboratuvar araştırmalarında aspirine karşı değil, tienopiridin türevlerine karşı kişisel farklılıkların olduğu gösterilmiştir (35-39).

Trombosit fonksiyonlarının laboratuvarde değerlendirildiği birçok yöntem bulunmaktadır. Kanama zamanının ölçülmesi, optik veya impedans agregometresi, PFA-100 sistemi, flowcytometry ile trombositlerin yapısal ve fonksiyonel değerlendirilmesi, tromboelastogram bunlardan bazılarıdır. Teknolojinin gelişmesine ve trombositler hakkındaki bilgilerin artmasına paralel olarak daha yeni değerlendirme yöntemleri denenmekte ve araştırılmaktadır (40).

Trombositlerin agonist maddelerce uyarılması sonucu aktive olup agregatlar meydana getirmeleri en büyük fonksiyonel özellikleridir. Trombositlerin bu fonksiyonlarını değerlendirebilmek amacıyla geliştirilen optik agregometrelerde, trombositlerden zenginleştirilmiş plazmadan geçen ışığın şiddeti ölçülür. Trombosit agregasyonunun çeşitli uyarıcı ajanlarla uyarılması ve agregasyonun oluşmasıyla geçen ışık şiddeti artar. Optik dansitedeki değişikliğin fotoelektriksel olarak saptanması yöntemin temelini oluşturmaktadır (40,41).

Trombosit fonksiyonlarının değerlendirildiği bir diğer yöntem in vitro kanama zamanı olarak adlandırılan ve primer hemostazın değerlendirildiği, daha kolay, yeni ve hızlı bir sistem olan PFA-100 sistemidir. Bu sistemde ex

vivo olarak tam kanda trombosit adhezyonu, agregasyonu ve trombosit tıkaçı oluşumu değerlendirilmektedir (40,42).

Tez projemizde, kardiyovasküler hastalarda antitrombotik tedavi amacıyla kullanılan aspirin, tiklopidin ve klopidoğrel gibi ilaçların trombositler üzerindeki etkilerini optik agregometre ve PFA-100 ile değerlendirmeyi, her iki yöntemin trombosit fonksiyonlarını saptamadaki etkinliğini karşılaştırmayı ve antitrombotik tedaviye yanıtta bireysel farklılıkların var olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Tez projemiz önce “Kardiyoloji Anabilim Dalı Kürsü Kurulu”na görüşülmüş ve birlikte yürütülmesi uygun görüldükten sonra “Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu”ndan onay alınmıştır.

Hasta Grubu

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Polikliniği’ne başvuran stabil kardiyovasküler hastalardan antitrombotik tedavi alanlar, bilgilendirildikten sonra rızaları alınarak çalışmamıza dahil edildi. Çalışmamız 30-76 yaş arası 77 hastada yapıldı. Kardiyovasküler hastalıkların ileri yaşlarda daha sık olması ve bu yaş grubunda diğer kronik hastalıklarında (Benign Prostat Hiperplazisi, Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı, Tip II Diabetes Mellitus, Osteoporoz, Dispepsi) yaygın olması nedeniyle, kardiyovasküler hastalığı dışında kronik hastalığı bulunanların trombotikleri etkilediği bilinen ilaçları varsa, bu hastalar çalışmamıza dahil edilmedi.

Her hasta ile tek tek görüşülüp hastalığı ve kullandığı ilaçlara dair iyi bir anamnez alındı. Antitrombotik ilacını düzenli kullanıp kullanmadığı özellikle sorgulandı. Hastaların kişisel ve aile anamnezlerinde herhangi bir kanamalı durum veya hastalığı olanlar, son bir ay içerisinde cerrahi girişim geçirenler, oral antikoagülan kullananlar, son 10 gün içerisinde trombotikleri etkileyebilecek ilaç alanlar (ağrı kesici amaçla alınan aspirin, nonsteroid antiinflatuarlar veya bunları içeren ilaçlar), akut enfeksiyonu olan ve sigara içen hastalar çalışmamıza dahil edilmedi.

Hasta grubumuz, kullandığı antitrombotik ilaca göre 4 grup olacak şekilde planlandı.

1- Aspirin Grubu: En az 6 aydan beri düzenli olarak günlük 100 mg aspirin alan 37 kardiyovasküler hastadan oluştu.

2- TİK/KLO grubu: En az 6 aydan beri düzenli olarak günlük 500 mg TİK (n=3) veya 75 mg KLO (n=15) alan toplam 18 hastadan oluştu. Bu grup hastaların özgeçmişinde aspirin veya nonsteroid antiinflatuar ilaç sonrası geçirilmiş dispeptik şikayetler veya gastrointestinal sistem kanaması veya asprine karşı alerjik reaksiyon (ürtiker, kaşıntı...) hikayesi bulunmakta idi.

3- Aspirin + TİK/KLO Grubu: Düzenli olarak günlük 100 mg aspirin ve 500 mg TİK (n=1) veya 100 mg aspirin ve 75 mg KLO (n=9) alan toplam 10 hastadan oluştu. Bu hastaların özgeçmişinde koroner by-pass cerrahisi veya perkütan translüminal koroner anjioplasti (balon/stent) hikayesi vardı. Girişim sonrası kombine antitrombotik tedaviye devam edilmişti.

4- Asprine Yeni Başlananlar Grubu: Daha önceden antitrombotik tedavi görmeyen, Kardiyoloji Polikliniği tarafından antitrombotik tedavi başlanması uygun görülen ve günlük 100 mg aspirin başlanan 12 hastadan oluştu. Bu hastalar aspirin tedavisine başlamadan önce ve en az 7 günlük (ortalama 12,5 gün) tedavi sonrası olmak üzere iki kez değerlendirildi.

Kontrol Grubu

Kontrol grubumuz 40-76 yaş arası, kardiyovasküler problemi bulunmayan 22 gönüllüden oluşturuldu. Bu kişilerin son 10 gün içerisinde trombositleri etkilediği bilinen herhangi bir ilaç almamış olmaları sağlandı.

Tüm hastalarımızın ve kontrol grubumuzun hemogram sonuçları normal sınırlar içerisindeydi.

Kan Örneklerinin Toplanması

Kontrol ve hasta gruplarımızın kan örnekleri sabah aç olarak, antecubital venden, üst kola hafif venöz staz oluşturularak alındı. Kan alma işlemi için 21 G iğne ve 0,129 M, 1/9 oranında sodyum sitrat içeren 10 ml silikonize vacutainer'lı cam tüpler kullanıldı. Alınan 10 ml antikoagüle tam kan hemen plastik tübe aktarıldı ve ağzı kapatılarak oda ısısında deneyler yapılana kadar beklemeye bırakıldı. Günde en fazla 5 denek çalışıldı. İlk kan örneği alındıktan sonra en az 1, en çok 1,5 saat içerisinde deneylere başlandı.

Önce PFA-100 sistemi ile değerlendirme yapıldı, sonra agregometre deneylerine geçildi. Kan örneği alındıktan sonra en geç 3 saat içerisinde tüm deneyler tamamlandı.

PFA-100 Sistemi Deneyleri

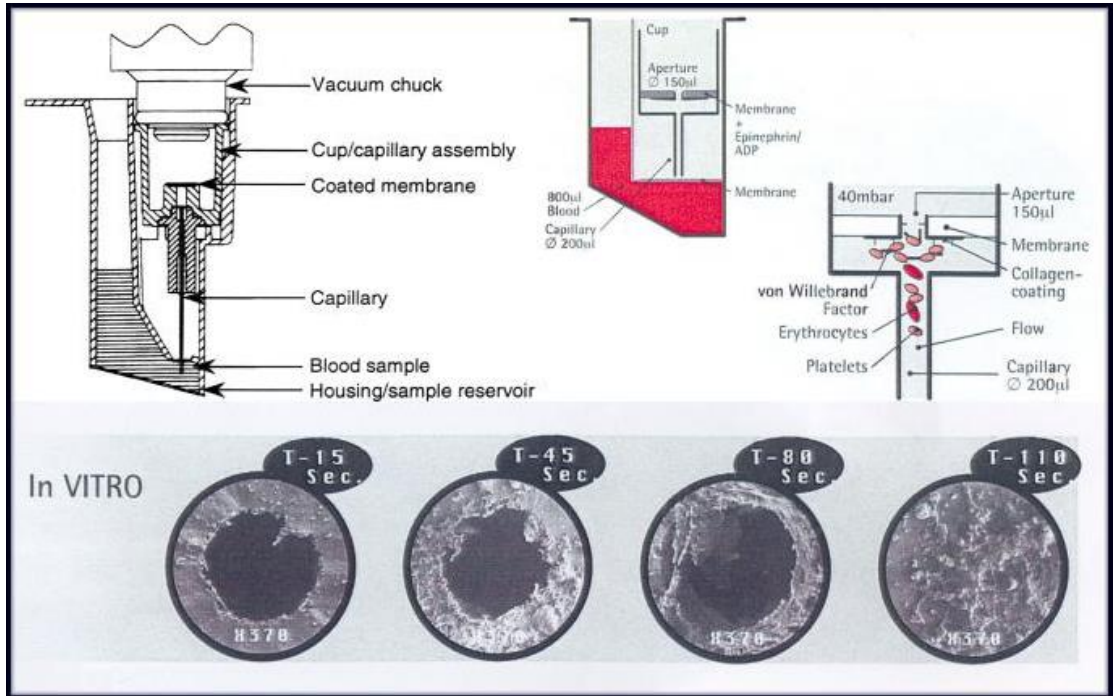
Primer hemostazı değerlendiren PFA-100 sistemi (Platelet Function Analyzer, DADE-BEHRİNG) yeni, hızlı ve oldukça kolay bir yöntemdir. Trombositlerin adhezyonu, agregasyonu ve tıkaç oluşturmaları PFA-100 ile değerlendirilebilir.

Bu sistemin tek kullanımlık farklı iki kartuşu vardır.

- 1- Kollajen/Epinefrin Kartuşu (Col/Epi).
- 2- Kollajen/ADP Kartuşu (Col/ADP).

Kartuşun, 800 µl kan koyulan bölgesinden, kılcal bir boru aracılığı ile (iç çapı 200 µ) yüksek kayma hızında (high shear rate: 5000-6000 sn⁻¹) emilen tam kan, kollajenle kaplı bir membran üzerindeki 150 µ çaplı delikten geçmektedir (Şekil-3). 2 µg fibriler Tip I kollajen içeren membran aynı

zamanda Col/Epi kartuşunda 10 µg epinefrin, Col/ADP kartuşunda ise 50 µg ADP içermektedir. Trombositler delikten geçerken kollajene yapışır ve ek uyarıcı ajanla uyarılmasıyla da aktive olur. Agregasyonun meydana gelmesi ve trombosit tıkaçının oluşması ile delik kapanır ve kan akımı kesilir. Kanın emilmeye başladığı andan itibaren, akımın kesildiği ana kadar olan zamanı ölçen sistem sonuçları Kapanma Zamanı (KZ, sn) olarak vermektedir. Sistem maksimum 300 sn'lik ölçüm yapmaktadır. Bu süre içinde kapanma olmamışsa (yani akım kesilmemişse) sonuçları >300 sn olarak göstermektedir. Bizim çalışmamızda maksimum test süresini aşan bu sonuçlar 301 sn olarak verilmiştir. Sağlıklı insanlarda yapılan birçok çalışmada KZ'nın normal sınırları, Col/Epi kartuşu için 61-197 sn, Col/ADP kartuşu için 54-140 sn sınırları arasında bulunmaktadır. Üretici firmanın aletin prosedüründe sunduğu sınırlar sırasıyla 85-165 ve 71-118 sn olarak verilmiştir. Bizim çalışmamızda kontrol grubumuzun sınırları Col/Epi kartuşu için 75-162 sn, Col/ADP kartuşu için 67-111 sn olarak bulunmuştur (42-45).



Şekil-3: PFA-100 Sisteminde kartuşun yapısı ve oluşan trombosit tıkaçının mikroskopik fotoğrafı.

KZ'nın normal sınırların üzerine çıkması veya kapanmanın olmaması bazı trombosit fonksiyon bozukluklarını yansıtmaktadır. Col/Epi kartuşu temel ve ilk kullanılan kartuştur. Trombositopatilerde, von Willebrand Hastalığı'nda (vWH) veya aspirin alımında KZ uzar. Col/Epi kartuşunda KZ normal sınırların üzerinde bulunursa Col/ADP kartuşu denenir. Col/ADP kartuşu KZ'da normal sınırların üzerinde ise vWH veya trombositopatiler düşünülür. Col/ADP kartuşu normal çıkarsa sonuç aspirin alımı olarak değerlendirilmektedir. Çünkü aspirinin antitrombotik etkisi Col/Epi kartuşu KZ'nı uzatmakta Col/ADP kartuşu KZ'nda herhangi bir değişikliğe neden olmamaktadır.

Glanzman trombastenisi'nde, Bernard-Soulier Sendromu'nda, Primer Sekresyon Bozukluğu'nda, Hermansky-Pudlak Sendromu'nda ve vWH'da kapanma zamanının uzadığını gösteren çalışmalar vardır (42-49).

Optik Agregometre Deneyleri

Optik agregometreler modifiye edilmiş spektrofotometrik aletlerdir. Trombositten zengin plazmanın vücut ısısında inkübe edildiği, belirli bir hızda karıştırılırken uyarıcı ajanın eklenmesi ile trombositlerin agregatlar oluşturup ışık geçirgenliğindeki değişikliğin ölçüldüğü yöntemlerdir.

PFA-100 ile değerlendirme işlemi tamamlandıktan sonra optik agregometredeki ölçümler için kan örnekleri 150 g'de 10 dk santrifuj edildi. Elde edilen trombositten zengin plazma (PRP: Platelet Rich Plazma) plastik bir tübe alındı. Kalan kan 2000 g'de 15 dk daha santrifuj edilerek trombositten fakir plazma (PPP: Platelet Poor Plazma) hazırlandı. PRP'nin trombosit içeriği ADVIA 70 (Hematology System, BAYER) hemogram cihazında değerlendirildi. Agregasyon çalışmaları için trombosit sayısının 300.000-400.000/ μ l olmasına dikkat edildi. 400.000/ μ l'nin üzerindeki değerler otolog PPP ile seyreltilti. PRP, PPP ve uyarıcı ajanlar agregometrenin kuvvetlerinde 37 °C'de inkübe edildi.

Agregasyon ölçümleri PACKS-4 (Platelet Aggregation Chromogenic Kinetic System, HELENA LABORATORİES) agregometre cihazında yapıldı. Uyarıcı ajanlar olarak ADP, kollajen (COL) (Helena BioSciences) ve epinefrin (EPI) (BİOFARMA İlaç Sanayi Ltd. Şti.) kullanıldı. Uyarıcı ajanlar için test son konsantrasyonları ADP 10 μ M, COL 10 μ g/ml, EPI 300 μ M olarak ayarlandı.

Önce 500 μ l PPP agregasyon tübüne koyuldu ve kalibrasyon yapıldı. Sonra içinde karıştırıcı mıknatıs parçacığı bulunan (karıştırma hızı 1000 devir/dk) ikinci bir agregasyon tübüne 450 μ l PRP koyuldu ve üzerine 50 μ l uyarıcı ajan eklenerek oluşan agregasyon 10 dk takip edildi. Deney sonuçları % maksimum agregasyon (ADP Max, COL Max, EPI Max) ve maksimum agregasyona ulaşma süresi (sn) (ADP Time, COL Time, EPI Time) olarak gösterildi (41).

Trombositopatilerde, vWH'da ve antitrombotik ilaç kullanımında maksimum agregasyon değerlerinin azaldığı birçok çalışma ile gösterilmiştir (7,40).

Aspirin Direncinin Saptanması

PFA-100 sisteminde, aspirin tedavisine rağmen Col/Epi kartuşunda 163 sn'nin altında KZ verenler (kontrol grubumuzun üst sınırı) aspirine dirençli olarak tanımlandı.

Optik agregometrede aspirin direncini tanımlayabilmek için kontrol grubunun ADP, COL ve EPI'e karşı maksimum agregasyonlarının ortalama $\pm$ standart sapmaları bulundu. Aspirin kullanmasına rağmen, kontrol grubunun ortalama (-) 1 standart sapma değerinin üstünde maksimum agregasyon verenler aspirin dirençli olarak tanımlandı.

Kontrol grubu	ADP Max: 91,3 ± 5,7 (<u>85,6</u>)
	COL Max: 92,4 ± 4,4 (<u>88,0</u>)
	Epi Max: 92,1 ± 3,7 (<u>88,4</u>)

İstatistiksel Analiz

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

BULGULAR

Çalışmamız 77 hasta ve 22 kontrol olmak üzere toplam 99 denekte yapıldı. Bu 99 deneğin %44'ü kadın ve %72'si 50 yaş ve üzerinde bulunmakta idi. Kontrol grubu ile hasta grupları arasında ve hasta gruplarının kendi arasında yaş ve cinsiyetin dağılımı ile ilgili olarak istatistiksel bir farklılık bulunamadı (Tablo-5).

Tablo-5: Yaş ve cinsiyete göre grupların dağılımı.

	Kontrol Grubu (n = 22)	Aspirin Grubu (n = 37)	TİK/KLO Grubu (n = 18)	Aspirin+TİK/KLO Grubu (n = 10)	Toplam (n=87)	p
Yaş (yıl) Ort±ss (min-max)	55,0 ± 9,5 (40-76)	58,4 ± 9,3 (30-75)	61,1 ± 9,0 (44-75)	52,9 ± 9,6 (39-70)	57,4 ± 9,5 (30-76)	p>0,05
Cinsiyet ♀ / ♂ (% ♂)	13/9 %40,9	12/25 %67,6	8/10 %55,6	2/8 %80,0	35/52 %59,8	p>0,05

Aspirin grubunda (n=37) belirlediğimiz kriterlere göre toplam 12 hastanın aspirin direnci gösterdiği saptandı. TİK/KLO grubunda (n=18) bir hastanın ADP Max değerine göre (%94,1) KLO tedavisine yetersiz yanıt verdiği bulundu. Bu hastanın EPİ Max değeri de gruptaki diğer hastaların üzerinde idi. Ayrıca TİK/KLO grubunda bir hastanın EPİ Max değerinin (%10,0) diğer hastalara göre çok düşük düzeylerde olduğu gözlemlendi. Bu hastada ADP Max ve COL Max değerleri de en düşük düzeylerde idi. Agregasyon çalışmalarında trombositlerin uyarıcı ajan olarak EPİ'e karşı agregasyon oluşturmamaları olarak bilinen Epinefrine cevapsız bir birey olabileceği düşünüldükçe, ilaç direnci gösterenlerle birlikte gruplarından

çıkarıldı. Toplam 14 deneğin gruplarından çıkarılması ile gruplar arası yaş ve cinsiyet açısından bir farklılık oluşmadı (Tablo-6).

Tablo-6: İlaç direnci ve Epinefrin cevapsızlığı gösterenler çıkarıldıktan sonra, yaş ve cinsiyete göre grupların dağılımı.

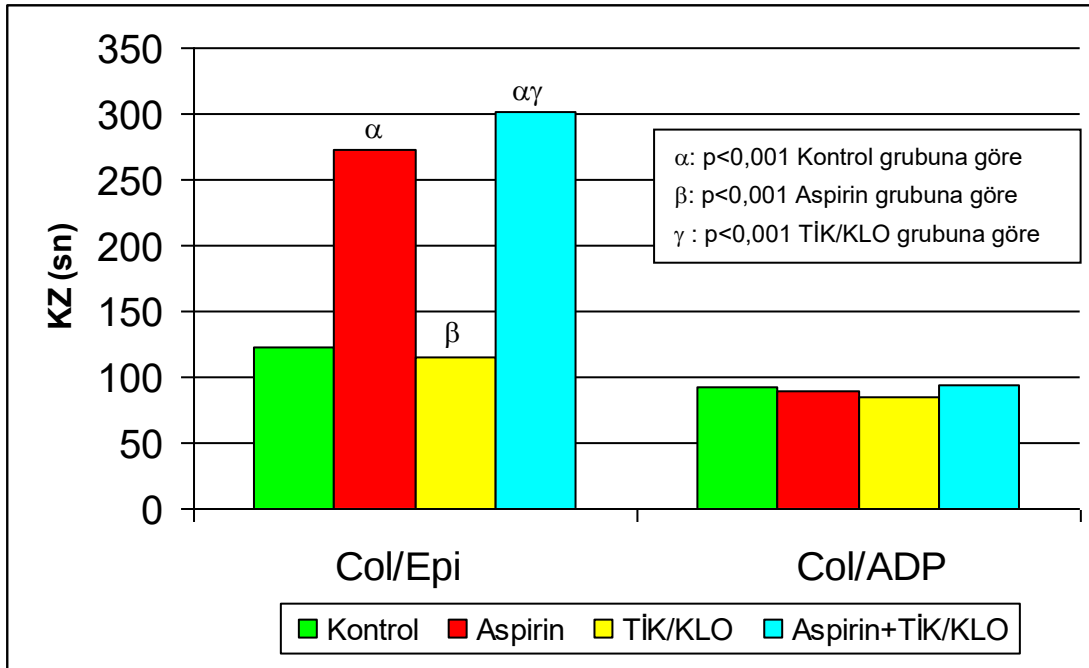
	Kontrol Grubu (n = 22)	Aspirin Grubu (n = 25)	TİK/KLO Grubu (n = 16)	Aspirin+TİK/KLO Grubu (n = 10)	Toplam (n=73)	p
Yaş (yıl) Ort±ss (min-max)	55,0 ± 9,5 (40-76)	56,1 ± 10,0 (30-75)	61,1 ± 9,5 (44-75)	52,9 ± 9,6 (39-70)	56,4 ± 9,9 (30-76)	p>0,05
Cinsiyet ♀ / ♂ (% ♂)	13/9 %40,9	7/18 %72,0	7/9 %56,3	2/8 %80,0	29/44 %60,3	p>0,05

PFA-100 sisteminde elde edilen sonuçlara göre (Tablo-7, Şekil-4), Col/ADP kartuşu KZ değerlerinde gruplar arası bir farka rastlanamazken, Col/Epi kartuşu KZ değerleri özellikle aspirin kullanımına bağlı olarak anlamlı şekilde yükselmişti. Aspirin grubundaki (n=25) 18 hastada (%72), Aspirin + TİK/KLO grubunun (n=10) tümünde (%100), Col/Epi kartuşu KZ değerleri 300 sn'nin üzerindeydi. TİK/KLO grubunda antitrombotik etkinin kontrol grubuna göre Col/Epi kartuşu KZ değerlerinde bir farklılık oluşturmadığı gözlemlendi.

Tablo-7: Antitrombotik ilaçların Col/Epi ve Col/ADP kartuşu KZ'na etkileri.

PFA-100	Kontrol Grubu (n = 22)	Aspirin Grubu (n = 25)	TİK/KLO Grubu (n = 16)	Aspirin+TİK/KLO Grubu (n = 10)	p
Col/Epi (KZ, sn)	123,9 ± 21,2 (75-162)	273,4 ± 47,2 ^α (172-301)	115,5 ± 14,6 ^β (87-136)	301,0 ± 0,0 ^{α γ} (301-301)	*
Col/ADP (KZ, sn)	92,4 ± 12,1 (67-111)	88,7 ± 19,2 (56-125)	84,5 ± 17,6 (58-118)	94,1 ± 19,3 (77-130)	p>0,05

*
 α : p<0,001 Kontrol grubuna göre
 β : p<0,001 Aspirin grubuna göre
 γ : p<0,001 TİK/KLO grubuna göre



Şekil-4: Antitrombotik ilaçların Col/Epi ve Col/ADP kartuşu KZ'na etkileri.

Optik agregometrede elde edilen sonuçlara göre (Tablo-8, Şekil-5-6) ADP Max değerleri kontrol grubuna göre Aspirin grubunda azalmakla birlikte (%76,1 $p<0,001$), TİK/KLO ve Aspirin + TİK/KLO gruplarındaki azalma daha belirgindi (sırasıyla %55,1 , %51,1 $p<0,001$). Aspirin + TİK/KLO grubunda ADP Max değeri biraz daha düşük olmasına rağmen TİK/KLO grubuyla arasında anlamlı bir fark bulunamadı. ADP'ye karşı maksimum agregasyona ulaşma süresi de ADP Max değerlerine benzer bir şekilde azalmakta idi. EPİ Max değerinin esas olarak aspirinden etkilendiği gözlemlendi. Kontrol grubuna göre TİK/KLO grubunda anlamlı bir azalma olmasına rağmen (%82,7 $p<0,001$) aspirin grubunda azalma çok daha fazlaydı (%31,4 $p<0,001$). Aspirin + TİK/KLO grubu diğer gruplara göre anlamlı olarak en düşük EPİ Max değerleri verdi (%21,9). Epinefrine karşı maksimum agregasyona ulaşma süreleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi. COL Max değerleri EPİ Max değerlerine benzer bir şekilde özellikle aspirinden etkilenmişti. Tüm gruplar kontrol grubuna göre farklı olmakla birlikte en düşük değer Aspirin + TİK/KLO grubunda (%17,1) gözlemlendi. Kollajene karşı maksimum agregasyona ulaşma süreleri aspirin ve TİK/KLO grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştı. Aspirin + TİK/KLO grubunda diğer gruplara göre anlamlı bir fark bulunamadı.

Tablo-8: Optik agregometre ile elde edilen sonuçların gruplara göre karşılaştırılması.

OPTİK AGREGOMETRE	Kontrol Grubu (n = 22)	Aspirin Grubu (n = 25)	TİK/KLO Grubu (n = 16)	Aspirin+TİK/KLO Grubu (n = 10)	p
ADP Max *	91,3 ± 5,7 (74,1-96,4)	76,1 ± 7,0 ^α (58,6-84,1) (n=24)	55,1 ± 13,5 ^{αβ} (39,1-82,7)	51,1 ± 13,9 ^{αβ} (32,7-70,9)	&
ADP Time **	429,1 ± 67,5 (319-545)	204,8 ± 104,2 ^α (66-429)	147,5 ± 106,3 ^α (40-354)	65,6 ± 28,0 ^{αβ} (36-123)	&
EPI Max *	92,1 ± 3,7 (84,1-99,9)	31,4 ± 12,7 ^α (14,1-70,5)	82,7 ± 10,4 ^{αβ} (54,1-94,5)	21,9 ± 10,6 ^{αγσ} (12,7-50,1)	&
EPI Time **	532,6 ± 48,5 (410-579)	554,1 ± 24,6 (493-577)	518,4 ± 49,7 (424-578)	558,6 ± 14,0 (526-574)	p>0,05
COL Max *	92,4 ± 4,4 (85,1-97,3) (n=13)	53,7 ± 22,8 ^α (9,5-82,7) (n=16)	84,8 ± 6,7 ^{πε} (73,6-89,5) (n=5)	17,1 ± 5,6 ^{μγλ} (10,1-23,4) (n=4)	&
COL Time **	480,9 ± 56,7 (383-565)	323,5 ± 153,1 ^π (154-577)	292,0 ± 72,4 ^μ (213-374)	454,0 ± 117,7 (300-549)	&

* : % Maksimum agregasyon

** : Maksimum agregasyona ulaşma süresi

& : α p<0,001 Kontrol grubuna göre

β p<0,001 Aspirin grubuna göre

γ p<0,05 Aspirin grubuna göre

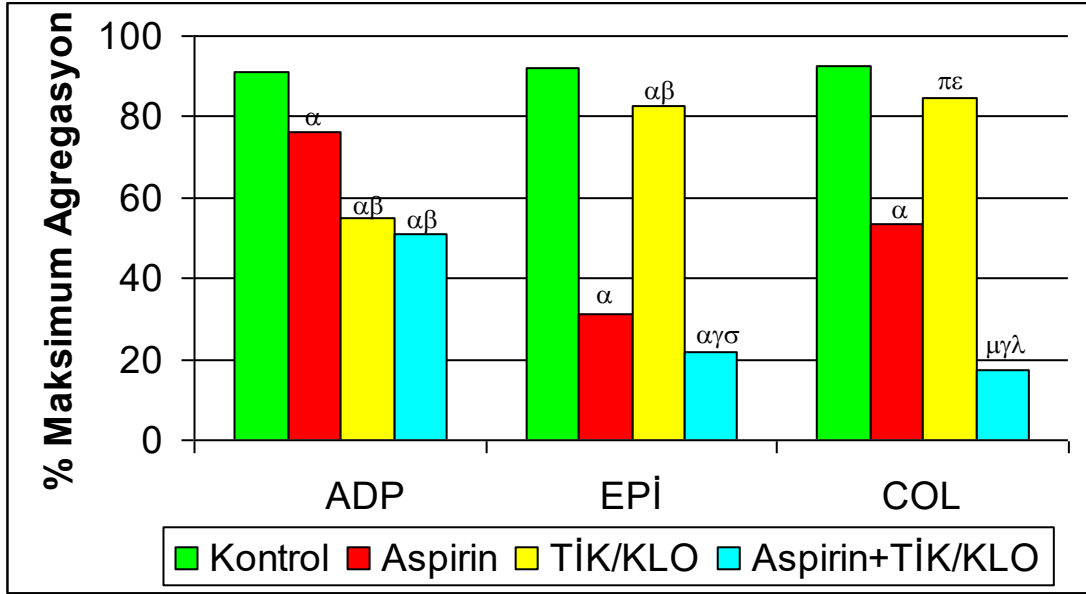
σ p<0,001 TİK/KLO grubuna göre

π p<0,05 Kontrol grubuna göre

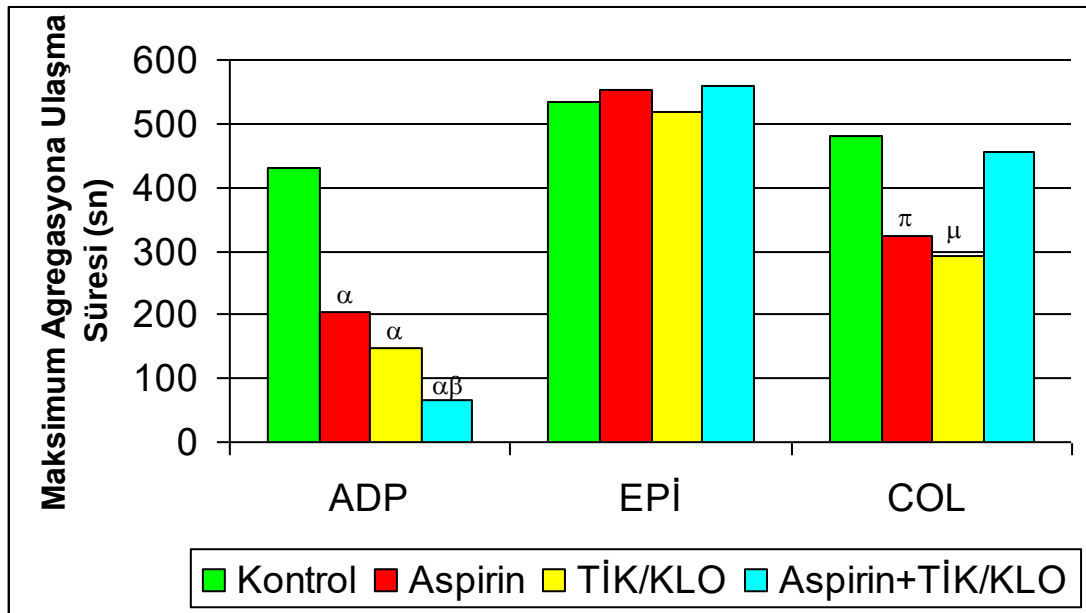
μ p<0,01 Kontrol grubuna göre

ε p<0,01 Aspirin grubuna göre

λ p<0,05 TİK/KLO grubuna göre



Şekil-5: Antitrombotik ilaçların % maksimum agregasyona etkileri.



Şekil-6: Antitrombotik ilaçların maksimum agregasyona ulaşma sürelerine etkisi.

α p<0,001 Kontrol grubuna göre
 β p<0,001 Aspirin grubuna göre
 γ p<0,05 Aspirin grubuna göre
 σ p<0,001 TİK/KLO grubuna göre

π p<0,05 Kontrol grubuna göre
 μ p<0,01 Kontrol grubuna göre
 ε p<0,01 Aspirin grubuna göre
 λ p<0,05 TİK/KLO grubuna göre

Aspirin direnci gösteren 12 hastanın hangi parametrelere göre saptandığı Tablo-9'da gösterilmiştir. Toplam 7 hasta tek bir parametreye göre saptanırken sadece tek bir hastada 4 parametreye de yanıtsızlık vardı. Parametreler ve yöntemler arasında herhangi bir korelasyon bulunamadı.

Tablo-9: Aspirin direnci gösteren 12 hastanın direnç gösterdikleri parametrelere göre dağılımı

	PFA-100	AGREGOMETRE		
n=12	Col/Epi	ADP Max	COL Max	EPİ Max
1	x			
2	x			
3		x		
4		x		
5		x		
6		x		
7			x	
8	x	x		
9	x		x	
10	x		x	
11		x	x	x
12	x	x	x	x

Aspirine direnç gösteren 12 hastanın aspirine duyarlı olan 25 hastaya göre karşılaştırılması Tablo-10'da gösterilmiştir. Bu karşılaştırmaya göre aspirin dirençli olanların duyarlılara göre daha yaşlı olduğu gözlemlendi ($63,0 \pm 5,0$; $56,1 \pm 10,0$ $p<0,01$). Dirençlilerle duyarlılar arasında cinsiyet farkı gözlenmedi. Dirençlilerde Col/Epi kartuşu KZ değerleri duyarlılara göre daha düşük bulundu ($183,0 \pm 66,1$; $273,4 \pm 47,2$ $p<0,001$). Yine dirençlilerde ADP ve EPİ'e karşı maksimum agregasyon değerleri anlamlı olarak yüksek bulunurken ADP'ye karşı maksimum agregasyona ulaşma süresi anlamlı olarak uzun bulundu.

Tablo-10: Aspirine direnç gösterenlerle, aspirin duyarlı grubun karşılaştırılması.

	Aspirin Dirençli (n = 12)	Aspirin Duyarlı (n = 25)	p
Yaş (yıl) Ort±ss (min-max)	63,0 ± 5,0 (53-70)	56,1 ± 10,0 (30-75)	p<0,01
Cinsiyet ♀ / ♂ (% ♂)	5/7 %58,3	7/18 %72,0	p>0,05
Col/Epi (KZ, sn)	183,5 ± 66,1 (108-301)	273,4 ± 47,2 (172-301)	p<0,001
Col/ADP (KZ, sn)	89,3 ± 15,9 (56-118)	88,7 ± 19,2 (56-125)	p>0,05
ADP Max *	84,8 ± 9,0 (61,4-95,1)	76,1 ± 7,0 (58,6-84,1) (n=24)	p<0,01
ADP Time **	348,8 ± 153,3 (98-535)	204,8 ± 104,2 (66-429)	p<0,01
EPI Max *	50,5 ± 27,3 (7,7-95,1)	31,4 ± 12,7 (14,1-70,5)	p<0,05
EPI Time **	518,3 ± 99,6 (214-580)	554,1 ± 24,6 (493-577)	p>0,05
COL Max *	68,4 ± 29,6 (18,6-95,5) (n=10)	53,7 ± 22,8 (9,5-82,7) (n=16)	p>0,05
COL Time **	370,6 ± 123,4 (164-558)	323,5 ± 153,1 (154-577)	p>0,05

* : % Maksimum agregasyon

** : Maksimum agregasyona ulaşma süresi

Aspirine yeni başlanan gruptaki 12 hastanın 8'inde ilk ve ikinci değerlerin karşılaştırması Tablo-11'de gösterilmiştir. Bu karşılaştırmaya göre aspirin Col/Epi kartuşu KZ değerlerini anlamlı olarak uzatırken, ADP, EPI ve COL'e karşı maksimum agregasyonu anlamlı olarak azalttı ve ADP ve COL'e karşı maksimum agregasyona ulaşma süresini anlamlı olarak kısalttı. Aspirin başlamadan önceki değerlerin kontrol grubuyla, en az 7 günlük tedaviden sonraki değerlerin aspirin grubuyla benzerlik gösterdiği gözlemlendi.

Tablo-11: Aspirine yeni başlanan grubun aspirin kullanmadan önce ve en az 7 günlük aspirin kullanımından sonra PFA-100 ve optik agregometre ile değerlendirilmesi.

n=8	Aspirin başlamadan önce	En az 7 gün Aspirin kullanımından sonra	p
Col/Epi (KZ: sn)	133,1 ± 16,8 (103-157)	279,4 ± 43,9 (184-301)	p<0,01
Col/ADP (KZ: sn)	85,1 ± 15,8 (54-109)	94,6 ± 15,4 (77-127)	p>0,05
ADP Max *	85,2 ± 9,7 (68,6-92,7)	74,0 ± 8,9 (58,2-88,2)	p<0,001
ADP Time**	418,1 ± 80,6 (291-512)	183,8 ± 90,6 (93-351)	p<0,01
EPI Max *	89,5 ± 4,1 (81,4-93,2)	38,1 ± 13,3 (20,1-65,1)	p<0,01
EPI Time**	550,3 ± 37,7 (456-579)	549,6 ± 39,2 (473-576)	p>0,05
COL Max *	88,2 ± 3,2 (85,1-92,9)	53,7 ± 20,4 (22,7-77,7)	p<0,05
COL Time**	508,5 ± 58,0 (419-575)	321,8 ± 53,2 (272-424)	p<0,05

Aspirin yeni başlanan gruptaki 12 hastadan 4'ünde ilk değerlere göre Epinefrin cevapsızlığı saptandı. Bu 4 hastanın ilk ve ikinci değerleri Tablo-12'de gösterildi.

Tablo-12: Aspirine yeni başlanan grupta Epinefrin cevapsızlığı saptanan 4 hastanın, tedavi öncesi ve sonrası parametrelerindeki değişimler.

Denek	EPI Max-1	EPI Max-2	ADP Max-1	ADP Max-2	COL Max-1	COL Max-2
1	16,8	10,9	92,7	72,3	92,9	36,8
2	9,1	23,6	50,5	64,5		
3	4,5	5,9	40,1	51,8	92,7	59,1
4	23,6	26,4	51,4	75,9	92,7	65,5

Denek	Col/Epi-1	Col/Epi-2	Col/ADP-1	Col/ADP-2
1	140	301	72	89
2	140	301	94	90
3	106	301	50	84
4	79	215	69	59

1: Tedavi öncesi değer
2: Tedavi sonrası değer
Max: % maksimum agregasyon

TARTIŞMA VE SONUÇ

Kardiyovasküler hastalıkların primer ve sekonder korunmasında oldukça önemli bir yere sahip olan antitrombotik ilaçların trombositler üzerinde farklı etkilere sahip oldukları ve trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesinde kullanılan yöntemlerin trombositlerin karmaşık yapılarından dolayı birbirleriyle çok ilişkili olmadığı çalışmamızda açıkça ortaya konmuştur.

Aspirinin özellikle PFA-100 sisteminde Col/Epi kartuşu KZ'nı uzatması, Col/ADP kartuşu KZ'na etki etmemesi, ADP reseptör antagonistlerinin her iki kartuş KZ'na da etki etmemesi, ilaçların farklı etkilerini ortaya koymakla birlikte, her iki kartuşun farklı parametrelerden etkilendiğini göstermektedir. Aspirinin optik agregometrede özellikle EPİ ve COL'e karşı etkili olması Col/Epi kartuşu KZ'nın uzamasını açıklayabilir. Fakat Aspirin + TİK/KLO tedavisinin uygulandığı grupta COL ve EPİ'nin yanı sıra ADP'ye karşı da en düşük agregasyon yanıtlarının alınmasına rağmen Col/ADP kartuşunun etkilenmemesi, bu kartuşun trombositlerin inhibe edilmesinden etkilenmediğini düşündürmektedir. PFA-100 sistemi ile yapılmış olan çalışmalarda özellikle vWH'da Col/ADP kartuşu KZ'ları uzamaktadır. Bu da bu kartuşun daha çok vWF veya diğer pıhtılaşma faktörlerinin plazma düzeyiyle ilişkili olduğunu düşündürmektedir (50-53).

Col/Epi kartuşunun aspirine spesifik olduğu, ADP reseptör antagonistlerine cevap vermediği gözlenmişti. Aspirin grubu ile Aspirin + TİK/KLO grubu arasında Col/Epi kartuşu KZ değerleri ile ilgili anlamlı bir fark bulunamamasına rağmen, aspirin grubunda %72 hastanın, TİK/KLO grubunda ise tüm hastaların KZ değerlerinin 300 sn'nin üzerinde olması ve PFA-100 sisteminin 300 sn ile sınırlı olması belki anlamlı bir fark

yakalamamızı engellemektedir. Nitekim optik agregometrede aspirin grubu ile kombine ilaç grubu arasında anlamlı fark bulunmaktadır.

Armin JG ve arkadaşlarının “İskemik inme sonrasında aspirin, klopidoğrel ve aspirin + klopidoğrel tedavisinin trombosit fonksiyonları üzerine etkileri”ni inceledikleri çalışmalarında (33), kontrol ve klopidoğrel grupları arasında Col/Epi kartuşu KZ değerlerine göre anlamlı bir fark bulunamamış, aspirin ve aspirin + klopidoğrel gruplarında Col/Epi kartuşu KZ değerleri klopidoğrel grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş, aspirin ve klopidoğrel grupları arasında Col/ADP kartuşu KZ değerleri benzerlik gösterirken aspirin + klopidoğrel grubunda diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bizim bulgularımız bu çalışma ile büyük benzerlik göstermekle birlikte, Col/ADP kartuşu KZ değerlerimiz hiçbir grupta farklılık göstermemiştir. Walter AW ve arkadaşlarının yaptığı, kanama eğilimli hastalarda PFA-100’ün değerlendirildiği bir başka çalışmada da aspirinin Col/Epi kartuşu KZ’nı uzattığı, Col/ADP kartuşu KZ’na etki etmediği gösterilmiştir (46).

Optik agregometrede elde edilen maksimum agregasyon yanıtları antitrombotik ilaca bağlı olarak kontrol grubuna göre hasta gruplarında anlamlı bir şekilde azalmıştır. Aspirinin özellikle COL ve EPI’e karşı olan maksimum agregasyonu azaltması, bu uyarıcı ajanların trombosit aktivasyon mekanizmalarında TXA₂ sentezinin önemli olduğunu düşündürmektedir. ADP üzerinden trombositlerin aktivasyonunda ise TXA₂ biyosentezinden çok P2_{Y12} reseptörlerinin daha önemli bir yere sahip olduğu görülmektedir. Hem TXA₂ biyosentezinin hem de P2_{Y12} reseptörlerinin birlikte inhibe edilmesi trombosit agregasyonunu en düşük seviyelere indirmektedir.

Moshfegh ve arkadaşlarının (54) 30 stabil kardiyovasküler hasta üzerinde yapmış oldukları çalışmalarında benzer sonuçlar bulunmaktadır. 3-6 ve 20 µM ADP konsantrasyonlarında (konsantrasyon artışına paralel olarak) 100 mg/gün aspirine göre 75 mg/gün klopidoğrel veya yine 100 mg/gün

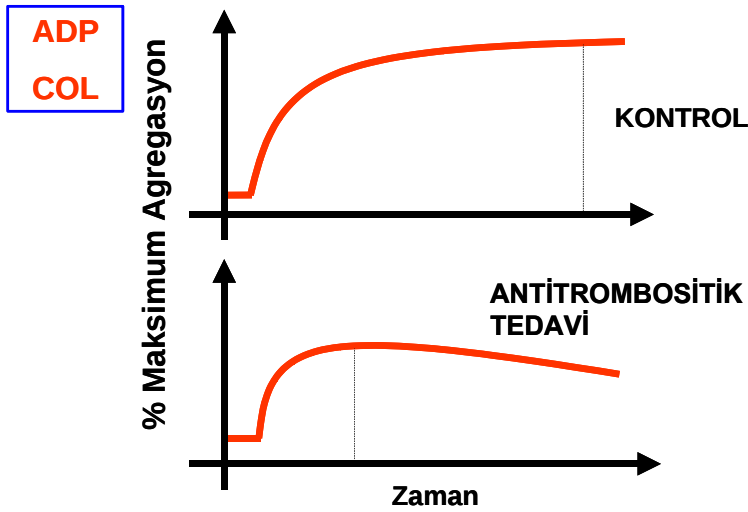
aspirine göre 75 mg/gün klopidoğrel + 100 mg/gün aspirin kombinasyonunun anlamlı olarak daha düşük % maksimum agregasyon değerleri verdiğini göstermişlerdir. Aspirinin günlük 100 mg ve 300 mg'lık dozları arasında ve 100 mg/gün aspirin + 75 mg/gün klopidoğrel ile 300 mg/gün aspirin + 75 mg/gün klopidoğrel arasında ADP'ye karşı olan maksimum agregasyonları açısından herhangi bir farklılık bulamamışlardır. 1,5-4 ve 40 µg/ml'lik COL konsantrasyonlarında 100 mg/gün aspirinin 75 mg/gün klopidoğrelle göre daha düşük agregasyon değerleri verdiği ve aspirin + klopidoğrel kombinasyonunda en düşük agregasyon değerleri verdiğini göstermişlerdir. Optik agregometrede bizim elde ettiğimiz sonuçlar Moshfegh ve arkadaşlarının sonuçları ile benzerlikler göstermektedir.

Bizim çalışmamıza ve yapılmış olan birçok laboratuvar çalışmasına göre antitrombotik ilaç kombinasyonu trombosit fonksiyonlarını en ileri düzeyde inhibe etmektedir (28,33,54). Klinik çalışmalarda da yine antitrombotik ilaç kombinasyonu monoterapiye göre daha düşük kardiyovasküler olay sıklığı ile birlikte dir. "Antithrombotic Trialists' Collaboration"ın verilerinden başka "CURE" çalışmasına göre (The Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Ischaemic Events) (22) perkütan koroner girişimlerden sonra tekrarlayıcı iskemik olaylar, aspirin + plasebo tedavisine göre aspirin + klopidoğrel tedavisinde göreceli olarak %31 daha az gözlenmiştir. STARS çalışmasında (The Stent Anticoagulation Restonosis Study) (18,19) üç antitrombotik tedavi karşılaştırılmış (aspirin, aspirin + varfarin, aspirin + tiklopidin) ve aspirin + tiklopidin tedavisi diğer tedavilere göre ölüm, MI, trombozun anjiyografik bulguları ve yeniden revaskülarizasyona ihtiyaç duyulması gibi yönlerden üstün bulunmuştur.

Trombosit sayı ve fonksiyonları ile kardiyovasküler olayların sıklığı veya öngörülebilirliği üzerine de bir çok çalışma yapılmıştır (55-57). Elwood PC ve arkadaşlarının (56,57) yaptıkları, kardiyovasküler risk faktörlerinin ve risk faktörleri ile kardiyovasküler olaylar arasındaki ilişkilerin incelendiği CAERPHILLY çalışmasının sonuçlarına göre, trombosit sayısı ve ADP ile

uyarılan agregasyon testleri ile iskemik kalp hastalığının ilk epizodunun öngörülebilirliğine dair bir ilişki bulunamamıştır. 49-65 yaş arası, yaklaşık 2000 erkek hastadaki 5 yıl takip sonuçlarına göre iskemik kalp hastalığı olaylarının sıklığına dair ADP ve trombin ile uyarılan trombosit agregasyonu arasında da anlamlı bir ilişki bulunamamıştır.

Optik agregometre deneylerinde ADP ve COL'e karşı maksimum agregasyona ulaşma süresinin antitrombotik ilaç kullanımıyla birlikte azalması ilaçların etkinliğini gösteren bir diğer parametredir. Kontrol grubuna göre daha düşük maksimum agregasyon değerlerine daha kısa sürelerde ulaşılması ve sonrasında eğrinin tekrar 0 değerine doğru dönmesi tam bir disagregasyonu yansıtmasa da oluşan agregatın çok sıkı olmadığını göstermektedir (Şekil-7). Aspirin + TİK/KLO grubunda COL'in maksimum agregasyona ulaşma süresinin diğer gruplara göre farklılık göstermemesi tam olarak anlaşılamamıştır. Belki de COL'e karşı maksimum agregasyonun en düşük seviyelere inmesi ($17,1 \pm 5,6$), disagregasyon oluşturacak kadar agregatın oluşmadığını düşündürebilir. EPI'e karşı maksimum agregasyona ulaşma süresinin hiçbir grupta anlamlı farklılık göstermemesi, oluşan agregatın izleme süreci sonuna kadar stabil kaldığını ve disagregasyona neden olan sebeplerin EPI ile uyarılma sonucu ortaya çıkmadığını düşündürmektedir.



Şekil-7:

Antitrombotik ilaçların ADP ve COL'e karşı maksimum agregasyona ulaşma süresini azaltması.

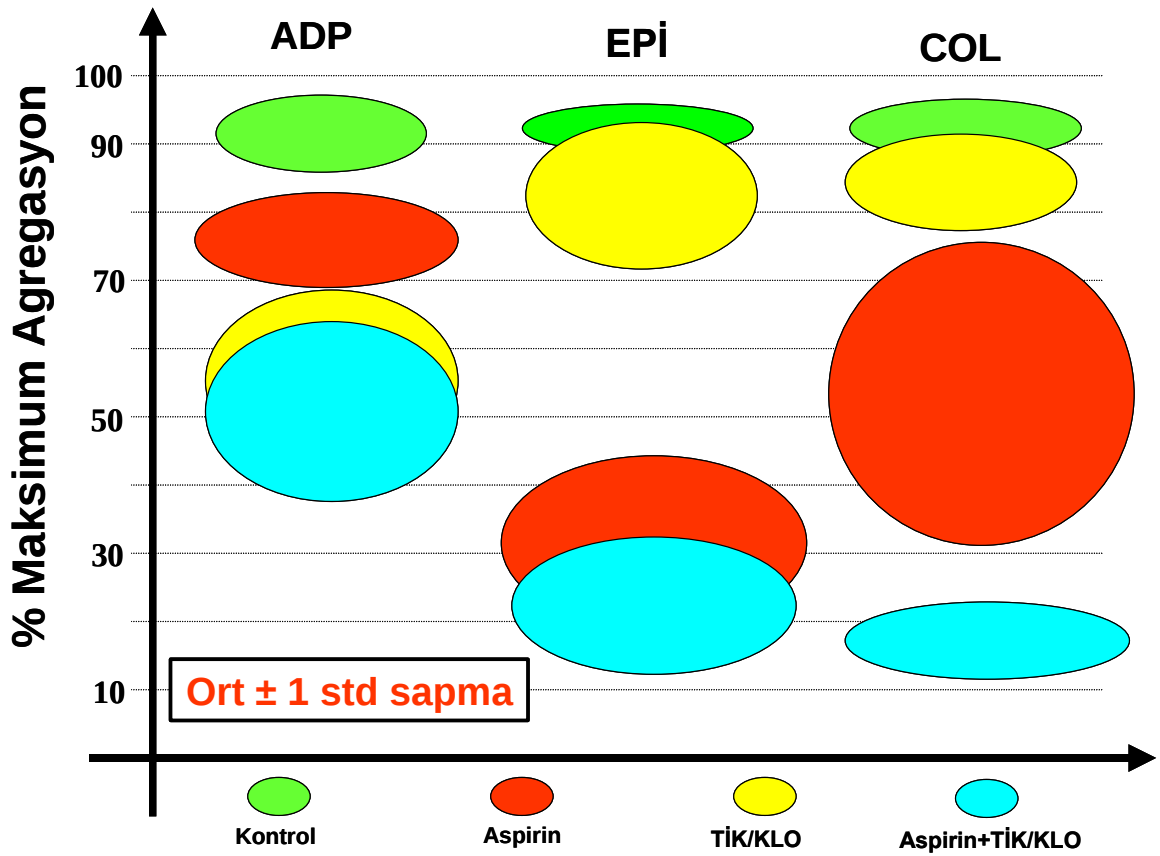
Satoh T. ve arkadaşları (58) trombosit agregasyonunun kantitatif ölçüm metodlarını araştırdıkları çalışmalarında, trombosit agregasyonunun kantitatif ölçümü olarak ADP'ye karşı maksimum agregasyona ulaşma süresini (ADP Time) ve EPI'e karşı % maksimum agregasyonu (EPI Max) esas almışlardır. İlaç kullanımından önce ADP Time ve EPI Max'a göre normal ve yüksek cevap verenler olarak iki grup gözlenmiş ve yüksek cevap veren 15 hastaya aspirin ve dipiridamol tedavisi başlanmıştır. Tedavi sonrası 10 hastada ADP Time değerleri azalırken 5 hastada aynı değerlerin korunduğu gözlenip ilacın etkili olmadığı şeklinde yorum yapılmıştır. ADP'ye karşı maksimum agregasyona ulaşma süresinin kısalması antitrombotik ilaçların etkin olduğunu göstermektedir.

Aspirin direncinin saptanmasında PFA-100 sisteminin Col/Epi kartuşu KZ değerinde kabul ettiğimiz sınır ($KZ < 163$ sn), Patricia AG ve arkadaşlarının (29) ve Armin JG ve arkadaşlarının (33) kabul ettiği sınıra göre ($KZ < 194$) daha düşük bir değerdir. Sağlıklı bireylerde Col/Epi kartuşu KZ değerinin 197 sn'ye kadar normal olduğunu gösteren yayınlar da bulunmaktadır (46,47,49). Ancak bu çalışmalarda yaş aralığı geniştir ve 40 yaş altı genç ve erişkinlerde bu sınırlara dahildir. İleri yaşlarda KZ'nın kısaldığını gösteren bilgiler de bulunmaktadır (46,47). Bizim kontrol grubumuzun yaş ortalaması $55,0 \pm 9,5$ 'tir ve hasta gruplarımızla arasında istatistiksel anlamlılık yoktur. Yaş, kardiyovasküler risk faktörleri arasında ilk sırada yer almaktadır (1-4) ve ilerleyen yaşla birlikte artan trombosit reaktivitesinin KZ'nı kısalttığı düşünülmektedir. Yaşla birlikte artan trombosit reaktivitesi agregasyon çalışmalarında da gösterilmiştir. 50 yaş üstü kadınlarda 50 yaş altı kadınlara göre, ADP'nin maksimum agregasyonuna ulaşmak için gerekli olan eşik konsantrasyonu anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (59).

Aspirin direncinin saptanmasında optik agregometrede belirlediğimiz ADP Max değeri yine Patricia AG ve arkadaşlarının (29) kabul ettiği sınıra göre daha yüksektir. Bizim çalışmamızda orta ve ileri yaş kontrol grubunun optik agregometrede uyarıcı ajanlara karşı vermiş oldukları maksimum

agregasyon değerleri temel alınmıştır. Aspirinin etkisinin tüm hastalarda eşit olmaması ve uyarıcı ajanları farklı düzeylerde etkilemesi net bir sınır koymayı zorlaştırmaktadır. Aspirin tedavisi alıp kontrol grubu sınırları içinde agregasyon cevabı verenlerin aspirin tedavisine cevap vermedikleri net bir şekilde belirlidir. Bu yüzden kontrol grubuna göre sınırın belirlenmesinin daha uygun olduğu dşnlmştır.

Kontrol grubu ile hasta gruplarının uyarıcı ajanlara karşı maksimum agregasyonlarının ortalama ± 1 standart sapma aralıkları şekil-8'deki grafikte verilmiştir. Burada grldğu gibi aspirin grubunda ADP ve TİK/KLO grubunda COL ve EPİ'e karşı verilen agregasyonlar kontrol grubu sınırlarına çok yakın veya keşişmektedir. Bu yüzden her ilaca ve uyarıcı ajana karşı daha net sınırlar bulunmalıdır.



şekil-8: Kontrol ve hasta gruplarının uyarıcı ajanlara karşı verdikleri maksimum agregasyon yanıtlarının ortalama ± 1 standart sapma aralığındaki dağılımları.

PFA-100 sisteminde Col/Epi kartuşu KZ değerine göre saptanan aspirin direnci oranı (6/37) %16,7'dir. Optik agregometrede sadece ADP max değerine göre (7/36) %19,4, COL Max değerine göre (5/26) %19,2 ve EPI Max değerine göre (2/37) %5,4 aspirin direnci sıklığı saptanmıştır. Her iki yöntem arasında ve optik agregometrenin farklı uyarıcı ajanları arasında bir ilişki bulunamadığından dolayı aspirin direnci sıklıkları farklı bulunmuştur.

Patricia AG ve arkadaşları (29), Col/Epi kartuşu KZ'na göre aspirin direnci sıklığını %9,5, optik agregometrede ADP + AA'e karşı maksimum agregasyon değerlerine göre saptadıkları aspirin direnci sıklığını %5,5, tek başına ADP veya AA'e karşı maksimum agregasyon değerlerine göre buldukları aspirin yarıcevaplılığı sıklığını %23,7 olarak bulmuşlardır. Armin JG ve arkadaşlarının (33) Col/Epi kartuşu KZ'na göre saptadıkları aspirin direnci sıklığı %16,1'dir. Kanama zamanını temel alan başka bir çalışmada (34) aspirin cevapsızlığı gösterenlerin sıklığı %42,5 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda değerlendirilen 4 farklı parametreden en az ikisine göre aspirin direnci sıklığımız %13,5'tir. Eikelboom ve Hankey'in (60) ATC'ye göre yapmış oldukları değerlendirmelerinde yüksek riskli hastaların 1/8'inin (%12,9) aspirin kullanmasına rağmen gelecek iki yıl içerisinde tekrarlayıcı vasküler olay yaşadıklarını belirtmektedirler.

Aspirin direncinin nedenleri henüz tam olarak bilinmemesine rağmen çeşitli mekanizmalar ileri sürülmektedir (61,62).

1- COX-2 indüksiyonu: COX insan vücudunda iki şekilde bulunur. COX-1 ve COX-2. COX-1 sabit düzeylerde trombositlerde bulunur ve geri dönüşümsüz olarak aspirin ile inhibe edilir. COX-2 vasküler endotelde, düz kas hücrelerinde ve çeşitli miktarlarda trombositlerde bulunur. COX-1'e göre yarı ömrü daha kısadır ve sitokinlerle indüklenebilir. COX-2'nin bu indüklenebilirliği TXA₂ sentezi için alternatif bir yol sağlar. Trombositlerdeki COX-2 seviyelerinin hastalar arasında değişmesi ve aspirinin COX-2'ye

etkisinin COX-1'e göre 170 kat daha az olması aspirin direncinin olası mekanizmalarından biridir.

2- GP IIIa polimorfizmi (P1^{A2} +): GP IIb/IIIa fibrinojen reseptörüdür ve IIIa alt biriminin polimorfik farklılıklarında artmış trombosit agregasyonu gösterilmiştir. IIIa polimorfizmi olan hastalarda olmayanlara göre aspirinin daha az etki göstereceği düşünülmektedir (63).

3- Hücre-hücre etkileşimleri: Trombüs oluşumuna katkıda bulunan diğer hücrelerin (eritrositler ve lökositlerin) trombotik etkileri aspirin tarafından bloke edilememektedir.

4- AA'in non-enzimatik lipit peroksidasyonu: Oksidatif stres altında AA'in non-enzimatik olarak lipit peroksidasyonu ile yıkıldığı ve PGF₂ benzeri bileşikler oluşturduğu gösterilmiştir. Bu bileşikler vazokonstriksiyona ve trombüs oluşumuna katkıda bulunabilmektedir.

5- Ayrıca ilaç-ilaç etkileşimlerinin, yanlış teşhisin (nonaterosklerotik vasküler hastalık), hastanın ilacını kullanmaması gibi nedenlerin de aspirin direnci sebepleri arasında rol alabileceği düşünülmektedir.

6- Tam olarak bilinmese de aspirin direncinin genetik olabileceğinden de bahsedilmektedir.

Aspirin kullanmasına rağmen bir grup hastada Tromboksan biyosentezinin arttığını gösteren John WE ve arkadaşları (32) yaptıkları çalışmada, aspirine dirençli olarak kabul ettikleri bu grupta, vasküler olay sıklığının arttığını göstermişlerdir. Patricia AG ve arkadaşları (30) aspirin direnci sıklığını saptadıkları çalışmadaki hastaları yaklaşık 2 yıl kadar takip etmişler ve sonuçta aspirin direnci gösterenlerin daha çok vasküler olay yaşadığını ortaya koymuşlardır. Aspirin direncinin net olarak tanımlanamamasına rağmen, aspirin dirençlilerde vasküler olay sıklığının

yüksek olması, aspirine alternatif antitrombotik ilaçların varlığı ve kombine ilaç tedavilerinin daha etkin olması nedeniyle aspirin direnci tanımının netleştirilmesi ve saptandığında alternatif tedavilere geçilmesi gerekliliği kaçınılmaz olmaktadır (64).

Çalışmamızda TİK/KLO grubundaki 1 hastada, uygulanan tedaviye rağmen maksimum agregasyonların kontrol grubu sınırları içinde kalması (özellikle ADP) tedavinin yetersiz olduğunu düşündürmektedir. Son zamanlarda yapılan bazı çalışmalarda tienopiridin türevlerine karşı bireysel farklılıkların olduğu, elektif koroner girişim geçirenlerde uygulanan aspirin + klopidoğrel tedavisinde özellikle klopidoğrelle karşı bir yanıtsızlık olduğu ve karaciğer sitokrom P450 enzim sistemi ile metabolize olan statin grubu lipit düşürücü ilaçların doz bağımlı olarak klopidoğrel'in etkilerini bloke ettikleri gösterilmiştir (35-39,65-67).

Yine TİK/KLO grubumuzda 1 hastada diğer 16 hastanın agregasyon değerleri ile bağdaşmayan ve EPİ'e karşı trombositlerin agregasyon yanıtının çok azaldığı veya görülmediği, Epinefrin cevapsızlığı olarak bilinen bir durum ile karşılaşmıştır. Aspirine yeni başlanan grubumuzdaki 12 hastanın 4'ünde de ilk değerlere göre Epinefrin cevapsızlığı saptanmıştır. EPİ ile uyarılan G protein alt birimlerindeki veya cAMP'nin azalmasını takip eden yollardaki bir bozukluktan kaynaklandığı düşünülen Epinefrin cevapsızlığı aynı zamanda ADP P2_{Y12} reseptörlerinin de benzer mekanizmalar üzerinden çalışması nedeniyle ADP'ye karşı olan maksimum agregasyonu da azaltmaktadır (68-72). Aspirin grubunda Epinefrin cevapsızlığı ile aspirinin antitrombotik etkilerinin çakışması nedeniyle belirli bir ayırım yapılamamaktadır. Bizim Epinefrin cevapsızlığı ile ilgili yapmış olduğumuz çalışmada (73) EPİ'e cevabı bozuk olanların ADP'ye karşı maksimum agregasyon cevapları düşük ve COL'in lag zamanı uzun olarak bulunmuştur. Epinefrin cevapsızlığında yaş ve cinsiyet farkı bulunmamış ve yaklaşık olarak her 3 insandan birinde epinefrine cevabın bozuk olduğu gözlenmiştir.

Epinefrin cevapsızlığı ile ilgili yapılmış daha önceki epidemiyolojik çalışmalarda da benzer sonuçlar bulunmaktadır (68,70).

Epinefrin cevapsızlığı gösterenlerin kişisel hikayelerinde herhangi bir kanamalı durum gözlenmemiştir. Antitrombotik ilaç kullanımı sonucu trombositlerin daha da inhibe edilmesi kanama açısından risk oluşturabilir mi bilinmemektedir. Antitrombotik ilaçların kanama komplikasyonu önemli olduğu için Epinefrin cevapsızlığı gösterenlerde antitrombotik ilaç kullanımının kanama riski oluşturup oluşturmayacağı mutlaka araştırılmalıdır.

Aspirin tedavisine yeni başlanan gruptaki 8 hastada ilk değerlerin kontrol grubuyla benzerlik göstermesi, ikinci değerlerin uzun süreden beri aspirin kullananlarla benzerlik göstermesi ve aspirin direnci sınırlarından uzak olmaları tedavinin etkin başladığını göstermektedir. Aspirin direncine rastlanılmamış olması direncin zamanla gelişebileceğini veya grup sayımızın az olmasından dolayı yakalayamadığımızı düşündürmektedir. Aspirin direncinin zamanla geliştiğine veya daha tedavinin başından itibaren var olabileceğine dair bir bilgiye rastlanılamamıştır.

Sonuç olarak; ciddi vasküler olayların patogenezinde önemli bir yere sahip olan trombositler kompleks yapılardır. Birden fazla uyarıcı ajana sahip olmaları ve hücre içi yolaklarının farklı olması nedeniyle antitrombotik ilaçların trombosit fonksiyonlarını inhibe etme yetenekleri aynı değildir. Aynı ilaca karşı kişisel farklılıklar olabilmektedir ve bazı hastalar bu ilaçlara karşı cevapsız kalabilmektedir. Aspirin ve ADP reseptör antagonistlerine karşı direncin vasküler olayları anlamlı olarak arttırması, trombosit fonksiyonlarının değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır. Antitrombotik tedavinin yeterliliği mutlaka her hasta için saptanmalı ve tedavi bu sonuçlara göre yönlendirilmelidir.

EKLER

1. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulu onayı
2. Kardiyoloji Anabilim Dalı Kürsü Kurulu onayı
3. Hasta Değerlendirme Formu -1
4. Hasta Değerlendirme Formu -2
5. Kontrol Grubu Değerlendirme Formu
6. Gönüllü Bilgilendirme Metni - 1-2



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

15

Sayı : B.30.2.ULU.0.01.00.01.02.020/ 265
Konu : Etik Kurul Kararı.

BURSA

10 Ocak 2003

Sayın
Prof.Dr.Kasım ÖZLÜK
Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi

Fakültemiz Etik Kurulunun 25 Aralık 2002 tarih ve 2002-26/4 nolu kararı ile usul ve esas yönünden uygun görülen "Antitrombotik Tedavi Gören Kardiyovasküler Hastaların Tedaviye Yanıtlarının, Optik Agregometre ve PFA-100 (Platelet Function Analyzer) ile DEğerlendirilmesi" isimli çalışma Dekanlığımızca da uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Prof.Dr.Müfit PARLAK
D e k a n

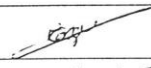
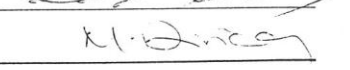
EK:
-Etik Kurul Kararı (2 adet)

T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURULU

Oturum Tarihi: 25.12.2002
Oturum Sayısı: 2002-26

Karar 4: Fakültemiz Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof.Dr.Kasım Özlük tarafından yürütülecek olan "Antitrombotik Tedavi Gören Kardiyovasküler Hastaların Tedaviye Yanıtlarının, Optik Agregometre ve PFA-100 (Platelet Function Analyzer) İle Değerlendirilmesi" isimli çalışma ile ilgili olarak:

- a) Bu çalışmada, farklı etki mekanizmaları olan üç ayrı antitrombotik ilacın (aspirin, dipiridamol ve tiklopidin) tedaviye yeni başlanan kardiyovasküler hastalardaki antitrombotik yanıtlarının incelenmesi, karşılaştırılması ve uzun dönem kullanılanlarda tedaviye yanıtın değişip değişmediğinin araştırılması amaçlanmaktadır.
- b) Dosyada kabul edilebilir bir araştırma protokolu bulunmaktadır.
- c) Dosyada kabul edilebilir bir "Bilgilendirilmiş Olur Formu" bulunmaktadır.
- d) Dekanlık tarafından uygun bulunduğu takdirde, çalışmanın yürürlüğe konabileceğine usul ve esas yönünden Etik Kurulumuzca müsaade edilmiştir.
- e) Etik Kurul Kararının bir nüshası, Dekanlıktaki Etik kurul dosyasına konmalı, Dekanlıkça uygun görülüyorsa bir nüshası da kendilerine tebliğ edilmelidir.
- f) Prof.Dr.Kasım Özlük'e Dekanlık onayından sonra çalışmanın yürürlüğe konabileceği bildirilmelidir.

ETİK KURUL ÜYELERİ			
Ünvanı, Adı Soyadı,	Etik Kurul Üyeliği	Uzmanlık Dalı	İmza
Prof . Dr. Berin ÖZCAN	Başkan	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Raporlu
Prof. Dr. Turgut ÖZEKE	Başkan Yardımcısı	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	
Prof Dr. Ayşegül DEMİRHAN	Üye	Deontoloji	
Prof.Dr.Levent BÜYÜKUYSAL	Üye	Farmakoloji	
Doç. Dr. Selim Giray NAK	Raportör	İç Hastalıkları (Gastroenteroloji)	
Doç. Dr. Sema ÖZUYSAL	Üye	Patoloji	
Doç. Dr. Sibel GÜRÜN	Üye	Farmakoloji	
Doç. Dr. Melahat DİRİCAN	Üye	Biyokimya	



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
KARDİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

SAYI: 2508-13/473

KONU: Dr. Engin SAĞDİLEK'in tezi hk.

03.12.2002

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

02.12.2002 tarihli yazınızda belirttiğiniz Uzmanlık öğrencisi Dr.Engin SAĞDİLEK'in "Antitrombotik tedavi gören kardiyovasküler hastaların tedaviye yanıtlarının, optik agregometre ve PFA-100 ile değerlendirilmesi" konulu uzmanlık tezi kürsü kurulunca incelenerek Prof.Dr. Jale CORDAN'ın danışmanlığında yürütülmesi kürsü kurulunca uygun görülmüştür.

Gereği bilgilerinize saygıyla arz olunur.

Prof.Dr. Jale CORDAN

Kardiyoloji Anabilim Dalı
Başkanı

ST/03.12.2002

HASTA DEĞERLENDİRME FORMU-1**Hastanın:**Adı, Soyadı:

Adresi ve Telefonu:

Bilgisayar Protokol No / Kardiyoloji Polk. Dosya No:

Yaşı, Cinsiyeti:

Boyu, Kilosu:

Sigara Alışkanlığı:

Önceden teşhis edilmiş ve düzenli olarak ilaç kullanmasını gerektiren kronik hastalığı var mı? (Kr. Akc. Hast., Kc. Hast., Böbrek Hast., Romatizmal Hast., Endokrin Hast....):

Düzenli olarak kullandığı ilaçlar:

Kardiyoloji Polikliniğine başvuru sebebi:Tanı:Verilen Tedavi:

Son 10 gün içinde aldığı ilaçlar (Aspirin, NSAİİ, Aspirin veya NSAİİ içeren ilaçlar, Tiklopidin, Dipiridamol, Oral Antikoagülan, Oral Kontraseptif...):

Ailesinde kanamalı hastalığı olan var mı? (Hemofili A/B, von Willebrand Hastalığı, Hematolojik Malignensi, Solid Organ Ca....)

Özgeçmişinde, büyük veya küçük cerrahi girişim sırasında, diş çekiminde veya travma sonrasında aşırı kanamalı bir durum var mı?

Tarih : Hasta :		Tedavi Öncesi	Tedavi Başladıktan	
			1 hafta sonra	1 ay sonra
Trombosit Sayısı (/ μ l)				
Hct (%)				
Hgb (gr/dl)				
Lökosit Sayısı (/ μ l)				
PFA-100 Sonuçları KZ (Sn)	Col/Epi			
	Col/ADP			
Agregometre Sonuçları (% Max Agregasyon)	ADP			
	Epinefrin			
	Kollajen			
Biyokimyasal Tetkikler	Total Kolesterol			
	HDL Kolesterol			
	Trigliserid			
	Üre			
	Kreatinin			
	AST			
	ALT			
	Açlık Glikoz			

HASTA DEĞERLENDİRME FORMU-2**Hastanın:**Adı, Soyadı:

Adresi ve Telefonu:

Bilgisayar Protokol No / Kardiyoloji Polk. Dosya No:

Yaşı, Cinsiyeti:

Boy, Kilosu:

Sigara Alışkanlığı:

Kardiyoloji Polikliniğini tarafından hangi tanıyla, ne kadar süreden beri takip ediliyor:Düzenli olarak kullandığı ilaçlar:

Önceden teşhis edilmiş ve düzenli olarak ilaç kullanmasını gerektiren kronik hastalığı var mı? (Kr. Akc. Hast., Kc. Hast., Böbrek Hast., Romatizmal Hast., Endokrin Hast....):

Düzenli olarak kullandığı ilaçlar:

Son 10 gün içinde aldığı ilaçlar (Aspirin, NSAİİ, Aspirin veya NSAİİ içeren ilaçlar, Tiklopidin, Dipiridamol, Oral Antikoagülan, Oral Kontraseptif...):

Ailesinde kanamalı hastalığı olan var mı? (Hemofili A/B, von Willebrand Hastalığı, Hematolojik Malignensi, Solid Organ Ca....)

Özgeçmişinde, büyük veya küçük cerrahi girişim sırasında, diş çekiminde veya travma sonrasında aşırı kanamalı bir durum var mı?

Tarih : Hasta :		
Trombosit Sayısı (/ μ l)		
Hct (%)		
Hgb (gr/dl)		
Lökosit Sayısı (/ μ l)		
PFA-100 Sonuçları KZ (Sn)	Col/Epi	
	Col/ADP	
Agregometre Sonuçları (% Max Agregasyon)	ADP	
	Epinefrin	
	Kollajen	
Biyokimyasal Tetkikler	Total Kolesterol	
	HDL Kolesterol	
	Trigliserid	
	Üre	
	Kreatinin	
	AST	
	ALT	
	Açlık Glikoz	

KONTROL GRUBU DEĞERLENDİRME FORMU**Deneğin**

Adı, Soyadı:

Adresi ve Telefonu:

Bilgisayar Protokol No:

Yaşı, Cinsiyeti:

Boy, Kilosu:

Sigara Alışkanlığı:

Önceden teşhis edilmiş ve düzenli olarak ilaç kullanmasını gerektiren kronik hastalığı var mı? (Kr. Akc. Hast., Kc. Hast., Böbrek Hast., Romatizmal Hast., Endokrin Hast...):

Düzenli olarak kullandığı ilaçlar:

Son 10 gün içinde aldığı ilaçlar (Aspirin, NSAİİ, Aspirin veya NSAİİ içeren ilaçlar, Tiklopidin, Dipiridamol, Oral Antikoagölan, Oral Kontraseptif...):

Ailesinde kanamalı hastalığı olan var mı? (Hemofili A/B, von Willebrand Hastalığı, Hematolojik Malignensi, Solid Organ Ca....)

Özgeçmişinde, büyük veya küçük cerrahi girişim sırasında, diş çekiminde veya travma sonrasında aşırı kanamalı bir durum var mı?

Tarih : Denek :		
Trombosit Sayısı (/ μ l)		
Hct (%)		
Hgb (gr/dl)		
Lökosit Sayısı (/ μ l)		
PFA-100 Sonuçları KZ (Sn)	Col/Epi	
	Col/ADP	
Agregometre Sonuçları (% Max Agregasyon)	ADP	
	Epinefrin	
	Kollajen	
Biyokimyasal Tetkikler	Total Kolesterol	
	HDL Kolesterol	
	Trigliserid	
	Üre	
	Kreatinin	
	AST	
	ALT	
	Açlık Glikoz	

GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME METNİ-1

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ve Kardiyoloji Anabilim Dalları tarafından yürütülen bu çalışmada, kalp ve damar hastalıklarının vazgeçilmez ilaçlarından olan ve halk arasında “kanı sulandıran, akışkanlığını arttıran” ilaçlar olarak bilinen aspirin, dipiridamol ve tiklopidin gibi antitrombotik ilaçların etkinlikleri araştırılacaktır. Farklı yollarla etkilerini gösteren bu üç ayrı ilacın her hastadaki tedavi sonuçları birbirleriyle benzer olmayabilmektedir. Bizim amacımız her hastanın kendisinde en uygun etkiyi gösteren ilaçla tedavi edilmesidir.

Bu amaçla tedaviye başlamadan önce, tedaviye başladıktan 1 hafta ve 1 ay sonra alınacak, 10’ar ml’lik kan örneklerinde, size verilen ilacın istenilen etkiyi gösterip göstermediği araştırılacaktır. Eğer sizin için beklenen etki elde edilememişse, farklı ilaç seçenekleri düşünülecektir.

Rutin tetkikleriniz için Biyokimya Laboratuvarı’nda kan verirken 10 ml kan da bu çalışma için alınacaktır.

Kardiyoloji Polikliniği tarafından rutin kontroller sırasında istenmiş olan biyokimyasal tetkiklerin sonuçları da çalışmamız için değerlendirilecektir.

Çalışmaya, en az 50’nin üzerinde gönüllü katılması planlanmaktadır.

Çalışma, hastanın gönüllülük esasına dayanmaktadır. Katılmayı reddetmek hiçbir cezaya veya gönüllünün hakkı olan yararların kaybına neden olmayacaktır.

Gönüllü, katıldığı çalışmadan ayrılmaya istediği herhangi bir zamanda karar verebilir ve hiçbir hakkından mahrum kalmaz.

Bu çalışmaya dair, gönüllüden veya kurumundan ek bir ücret talep edilmez.

GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME METNİ-2

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji ve Kardiyoloji Anabilim Dalları tarafından yürütülen bu çalışmada, kalp ve damar hastalıklarının vazgeçilmez ilaçlarından olan ve halk arasında “kanı sulandıran, akışkanlığını arttıran” ilaçlar olarak bilinen aspirin, dipiridamol ve tiklopidin gibi antitrombotik ilaçların etkinlikleri araştırılacaktır. Farklı yollarla etkilerini gösteren bu üç ayrı ilacın her hastadaki tedavi sonuçları birbirleriyle benzer olmayabilmektedir. Ayrıca uzun süre kullanımları sonucu, özellikle aspirine karşı, tedavinin yanıtsız kalması gibi bir durum gelişebilmektedir. Bizim amacımız her hastanın kendisinde en uygun etkiyi gösteren ilaçla tedavi edilmesidir.

Bu amaçla, uzun süreden beri tedavi edilen hastadan, bir kereye mahsus olarak 10 ml’lik kan örneği alınacaktır. Yapılan incelemeler sonunda eğer tedavinin yetersiz kaldığı, ilaca direnç geliştiği sonucuna varılırsa, farklı ilaç seçenekleri düşünülecektir.

Rutin tetkikleriniz için Biyokimya Laboratuvarı’nda kan verirken 10 ml kan da bu çalışma için alınacaktır.

Kardiyoloji Polikliniği tarafından rutin kontroller sırasında istenmiş olan biyokimyasal tetkiklerin sonuçları da çalışmamız için değerlendirilecektir.

Çalışmaya, en az 50’nin üzerinde gönüllü katılması planlanmaktadır.

Çalışma, hastanın gönüllülük esasına dayanmaktadır. Katılmayı reddetmek hiçbir cezaya veya gönüllünün hakkı olan yararların kaybına neden olmayacaktır.

Gönüllü, katıldığı çalışmadan ayrılmaya istediği herhangi bir zamanda karar verebilir ve hiçbir hakkından mahrum kalmaz.

Bu çalışmaya dair, gönüllüden veya kurumundan ek bir ücret talep edilmez.

KAYNAKLAR

1. Kültürsay H, (edt). Koroner Kalp Hastalığı: Primer ve Sekonder Korunma. İstanbul: Argos; 2001.
2. Born GVR, Schwartz CJ, (eds). Koroner Kalp Hastalığında Yeni Ufuklar. İstanbul: Turgut Yayıncılık; 1995.
3. Thompson GR, Wilson PW. Koroner Risk Faktörleri. İstanbul: Turgut Yayıncılık; 1995.
4. McEwan JR, (edt). Kardiyolojide Güncel Konular. İstanbul: Tümay Matb.; 1998.
5. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction and stroke in high risk patients. BMJ 2002; 324: 71-86.
6. Richard L, John F, John L, Frixos P, John PG, George MR, (eds). Wintrobe's Clinical Hematology. 10th edition. Baltimore: Williams & Wilkins; 1999.
7. Robert WC, Jack H, Victor JM, Alexander WC, James NG (eds). Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice. 4th edition. Philadelphia: Lippincott & Wilkins; 2001.
8. Ulutin ON. The Platelets: Fundamentals and Clinical Applications. İstanbul: 1976.
9. Khan MG. Kalp Hastalıklarında İlaç Tedavisi. 4th edition. İstanbul: Nobel; 1996.
10. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 9. baskı. Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık; 2000; 3,45, 581-612.
11. Majerus PW, Tollefsen DM. Anticoagulant, Thrombolytic and Antiplatelet Drugs. In: Hardman JG, Limbird LE, Gilman AG, (eds). The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10th edition. NewYork : McGraw-Hill; 2001.

12. Jack H, James ED, Valentin F, Lawrence BH, Carlo P, Gerald R. Aspirin and Other Platelet-Active Drugs: The relationship Among Dose, Effectiveness and Side Effects. *Chest* 1995, Supplement; 108,4, 247-257.
13. Holloper G, Jantzen HM, Vincent D, et al. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. *Nature* 2001; 409: 202-7.
14. Cattaneo M, Gachet C. The platelet ADP receptors. *Haematologica* 2001; 86: 346-8.
15. Kunapuli SP. Multiple P2 receptor subtypes on platelets: A new interpretation of their function. *TIPS* 1998; 19: 391-4.
16. Storey RF, Sanderson HM, White AE, et al. The central of the P2T receptor in amplification of human platelet activation, aggregation, secretion, and procoagulant activity. *BJH* 2000; 110: 925-34.
17. Hechler B, Eckly A, Ohlmann P, et al. The P2Y1 receptor necessary but not sufficient to support full ADP induced platelet aggregation, is not the target of the drug clopidogrel. *BJH* 1998; 103: 858-66.
18. Quinn MJ, Fitzgerald DJ. Ticlopidine and Clopidogrel. *Circulation* 1999; 100: 1667-72.
19. Vam PCA, Nethery CM. The thienopyridine derivatives (platelet adenosine diphosphate receptor antagonists) pharmacology and clinical developments. *Anaesthesia* 2003; 58: 28-35.
20. Albers GW, Easton JD, Sacco RL, Teal P. Antithrombotic and thrombotic therapy for ischemic stroke. *Chest* 1998; 114: 6838-88.
21. Peters RJG, Mehta SR, Fox KAA, et al. Effects of aspirin dose when used alone or in combination with clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 108: 1682-87.
22. Shamir RM, Salim Y. Short- and Long-term oral antiplatelet therapy in acute coronary syndromes and percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41:79-88.
23. Folts JD, Schafer AI, Loscalzo J, et al. A perspective of the potential problems with aspirin as an antithrombotic agent: A comparison of studies in an animal model with clinical trials. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 295-303.

24. Bhatt LD, Chew DP, Hirsch AT, et al. Superiority of clopidogrel versus aspirin in patients with prior cardiac surgery. *Circulation* 2001; 103: 363-8.
25. Taniuchi M, Kurz HI, Losala JM. Randomized comparison of ticlopidine and clopidogrel after intracoronary stent implantation in a broad patient population. *Circulation* 2001; 104: 539-43.
26. Mueller C, Roskamm H, Neumann FJ, et al. A randomized comparison of clopidogrel and aspirin versus ticlopidine and aspirin after the placement of coronary artery stents. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 969-73.
27. Bertrand ME, Rupprecht HJ, Urban P, Gershlick AH. Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting. *Circulation* 2000; 102: 624-9.
28. Cadray Y, Bossavy JP, Thalamas C, et al. Early potent antithrombotic effect with combined aspirin and a loading dose of clopidogrel on experimental arterial thrombogenesis in humans. *Circulation* 2000; 101: 2823-8.
29. Patricia AG, Kandice KM, Emilio DP, et al. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2001; 88:230-235.
30. Patricia AG, Kandice KM, Patricia AW, et al. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 961-5.
31. Zimmermann N, Wenk A, Kim U, et al. Functional and biochemical evaluation of platelet aspirin resistance after coronary artery bypass surgery. *Circulation* 2003; 108: 542-7.
32. John WE, Jack H, Jeffrey IW, Marilyn J, Qilong Y, Salim Y. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation* 2002; 105: 1650-1655.
33. Armin JG, Sven R, Christoph L, Florian B, Andreas R. Platelet function under aspirin, clopidogrel and both after ischemic stroke. *Stroke* 2003; 34: 849-855.

34. Patricia AH. Aspirin resistance. *Ann Pharmacother* 2002; 36: 1620-4.
35. Jaremo P, Lindahl TL, Fransson SG, Richter A. Individual variations of platelet inhibition after loading doses of clopidogrel. *J of Internal Medicine* 2002; 252: 233-8.
36. Paul B, Bouvier JL, Roquebert PO, et al. Resistance to thienopyridines: Clinical detection of coronary stent thrombosis by monitoring of vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation. *Cathet Cardiovasc Intervent* 2003; 59: 295-302.
37. Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation* 2003;107:2908-2913.
38. Yusuf S, Mehta SR, Zhao F, et al. Early and late effects of clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 2003; 107: 966-72.
39. Muller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schonig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost* 2003; 89: 783-787.
40. Marcus EM, Paul AG, Douglas JL, Victor LS. Clinical utility of available methods for determining platelet function. *Cardiology* 1999; 92: 240-247.
41. Helena Laboratories, PACKS-4, Operator's Manual. 1991.
42. Sourav KK, Eric JH, Reynaldo S, Carmen G, Rosa MD, Roy AO. Description of an in vitro Platelet Function Analyzer-PFA-100. *Thrombosis and Hemostasis* 1995; 21; Supp 2: 106-112.
43. DADE BEHRING. To aid in the detection of platelet dysfunction in citrated human whole blood. 2000.
44. Mammen EF, Comp PC, Gosselin R, et al. PFA-100 System: A new method for assessment of platelet dysfunction. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 1998; 24; 2: 195-202.
45. Kundu SK, Heilmann EJ, Sio Reynaldo, et al. Characterization of an in vitro platelet function analyzer, PFA-100. *Clin Appl Thrombosis/Hemostasis* 1996; 2(4): 241-9.
46. Walter AW, Katharina MG, Sacha SZ, Bernhard L. Evaluation of a platelet function analyser (PFA-100) in patients with a bleeding tendency. *SwissMed Wkly* 2002; 132: 443-448.

47. Emmanuel JF. Utility of the PFA-100 for assessing bleeding disorders and monitoring therapy: a review of analytical variables, benefits and limitations. *Haemophilia* 2001; 7:170-179.
48. Harrison P, Robinson MSC, Mackie IJ, et al. Performance of the platelet function analyser PFA-100 in testing abnormalities of primary haemostasis. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 1999; 10: 25-31.
49. Salat A, Kroess S, Boehm DF, et al. Comparison of in vitro closure time (PFA-100) with whole blood electrical aggregometry and platelet surface antigen expression in healthy volunteers. *Thrombosis Research* 2002; 105: 205-8.
50. Büyükaşık Y, Karakuş S, Göker H, ve ark. Rational use of the PFA-100 device for screening of platelet function disorders and von Willebrand disease. *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 2002; 13: 1-5.
51. Marchant KK, Powers JB, Brooks L, Kundu S, Christie DJ. The effect of antiplatelet drugs, heparin and preanalytical variables on platelet function detected by the platelet function analyser (PFA-100). *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 1999; 5: 122-130.
52. Poujol C, Nurden A, Paponneau A, Heilmann E, Nurden P. Ultrastructural analysis of the distribution of von Willebrand factor and fibrinogen in platelet aggregates formed in the PFA-100. *Platelets* 1998; 9: 381-9.
53. Fressinaud E, Veyradier A, Truchaud F, et al. Screening for von Willebrand disease with a new analyser using high shear stress: A study of 60 cases. *Blood* 1998; 91: 1325-31.
54. Moshfegh K, Redondo M, Julmy F, et al. Antiplatelet effects of clopidogrel compared with aspirin after myocardial infarction: Enhanced inhibitory effects of combination therapy. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 699-705.
55. Meade TW, Cooper JA, Miller GJ. Platelet counts and aggregation measures in the incidence of ischaemic heart disease. *Thromb Haemost* 1997; 78: 926-9 (Abstract).
56. Elwood PC, Renaud S, Beswick AD, O'Brien JR, Sweetnam PM. Platelet aggregation and incident ischaemic heart disease in the Caerphilly cohort. *Heart* 1998; 80: 578-82 (Abstract).
57. Elwood PC, Beswick AD, Pickering J, et al. Platelet tests in the prediction of myocardial infarction and ischaemic stroke: Evidence from the Caerphilly prospective study. *BJH* 2001; 113: 514-20.

58. Satoh T, Otsuka K, Sakurai I. Method of quantitative measurement of human platelet aggregation in clinical practice. *Nippon Ronen Igakkai Zasshi* 1998; 35: 748-56. (Abstract).
59. Gormsen J, Nielsen JD, Dalsgaard J, Andersen LA. ADP-induced platelet aggregation in vitro in patients with ischemic heart disease and peripheral thromboatherosclerosis. *Acta Med Scand* 1977; 201: 509-13. (Abstract).
60. Eikelboom JW, Hankey GJ. Aspirin resistance: Anew independent predictor of vascular events? *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 966-68.
61. Josie AC-K, Pritesh JG. Possible mechanisms of aspirin resistance. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis* 2002; 13(1),49-56.
62. Artur AW, Boris P, Andrea S, Thomas H, Karsten S. Towards a definition of aspirin resistance: a typological approach. *Platelets* 2002; 13: 37-40.
63. Michelson AD, Furman MI, Clermont PG, et al. Platelet GP IIIa P1^A polymorphisms display different sensitivities to agonists. *Circulation* 2000; 101: 1013-18.
64. Schafer AI. Genetic and acquired determinants of individual variability of response to antiplatelet drugs. *Circulation* 2003; 108: 910-11.
65. Lau WCL, Waskell LA, Watkins PB, et al. Atorvastatin reduces the ability of clopidogrel to inhibit platelet aggregation: Anew drug-drug interaction. *Circulation* 2003; 107: 32-37.
66. Saw J, Steinhubl SR, Berger PB, et al. Lack of adverse clopidogrel-Atorvastatin clinical interaction from secondary analysis of a randomised plasebo controlled clopidogrel trial. *Circulation* 2003; 108: 921-24.
67. Serebruany VL, Steinhubl SR, Hennekens CH. Are antiplatelet effects of clopidogrel inhibited by atorvastatin. *Circulation* 2003; 107: 1568-9.
68. Kambayashi J, Shinoki N, Nakamura T, et all. Prevalence of impaired responsiveness to epinephrine in platelets among Japanese. *Thrombosis Research* 1996; 81: 85-90.
69. Nakamura T, Ariyoshi H, Kambayashi J, et al. Signal transduction system in epinephrine stimulated platelets; comparison between epinephrine sensitive and insensitive platelets. *Thrombosis Research* 1997; 85: 83-93.

70. Jong WC. Incidence of nonresponsiveness to epinephrine in platelets from healthy humans. *Acta Haematol* 2002; 108: 106-108.
71. Nakahashi TK, Kambayashi J, Nakamura T, et al. Platelets in nonresponders to epinephrine stimulation showed reduced response to ADP. *Thrombosis Research* 2001; 104: 127-135.
72. Fontana P, Dupont A, Gandrille S, et al. Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation is associated with P2Y12 gene sequence variations in healthy subjects. *Circulation* 2003; 108: 989-995.
73. Sağıdilek E, Büyükcoşkun N, Özlük K. Trombositlerin epinefrine duyarsızlığının optik agregometre ve PFA-100 ile incelenmesi. 4. Ulusal Tromboz Hemostaz ve Anjiyoloji Kongre Kitabı 2003: 175-78.

TEŞEKKÜR

Tezimi hazırlamam sırasında her türlü desteği veren ve bilimsel açıdan çalışmalarımı yönlendiren sayın hocam Prof. Dr. Kasım ÖZLÜK'e, Kardiyoloji Anabilim Dalı ile ortak çalışma yapmamıza imkan sağlayan sayın Prof. Dr. Jale CORDAN'a ve laboratuvar olanaklarını bize sunan Uludağ Üniversitesi Tıbbi Tahliller, Eğitim ve Araştırma Merkez Laboratuvarı başkanı sayın Prof. Dr. İ. Hakkı ULUS'a teşekkür ederim.

ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Eskişehir’de doğdum. İlk öğretimimi 1985 yılında, orta ve lise öğretimimi 1991 yılında Eskişehir’de tamamladım. 1997 yılında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi’nden mezun oldum. Kasım-1997 ve Ocak-2001 yılları arasında Isparta’nın Yenişarbademli ve Sütçüler İlçelerinde pratisyen hekim olarak görev yaptım. 12 Şubat 2001 tarihinde Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı’nda ihtisas yapmak üzere Araştırma Görevlisi Doktor olarak göreve başladım. Halen bu göreve devam etmekteyim. Evliyim.