



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
Α΄ ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΗΣ  
ΔΡΑΣΗΣ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ ΤΗΣ ΚΛΟΠΙΔΟΓΡΕΛΗΣ  
ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟ**

**ΙΩΑΝΝΗΣ Β. ΝΤΑΛΑΣ  
ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017**









**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ  
Α΄ ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ**

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΑΙΜΟΠΕΤΑΛΙΑΚΗΣ  
ΔΡΑΣΗΣ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΑΛΑΤΩΝ ΤΗΣ ΚΛΟΠΙΔΟΓΡΕΛΗΣ  
ΣΕ ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΜΕ ΚΑΡΔΙΑΓΓΕΙΑΚΗ ΝΟΣΟ**

**ΙΩΑΝΝΗΣ Β. ΝΤΑΛΑΣ  
ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017**



«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».





**Ημερομηνία αίτησης του κ. Ντάλα Ιωάννη:** 14-9-2010

**Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:** 695<sup>α</sup>/2-11-2010

**Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:**

Επιβλέπων

Γουδέβενος Ιωάννης Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας

Μέλη

Τσελέπης Αλέξανδρος Καθηγητής Οργανικής Χημείας και Βιοχημείας Τμήματος Χημείας  
Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Κωλέττης Θεόφιλος Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας

**Ημερομηνία ορισμού θέματος:** 14-12-2010

*«Συγκριτική μελέτη της αντιαιμοπεταλιακής δράσης διαφορετικών αλάτων της κλοπιδογρέλης σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο»*

**ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ :** 794<sup>α</sup>/31-1-2017

1. Γουδέβενος Ιωάννης Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
2. Κωλέττης Θεόφιλος Καθηγητής Καρδιολογίας, του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
3. Μηλιώνης Χαράλαμπος, Καθηγητής Παθολογίας, του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
4. Παναγιωτάκος Δημοσθένης, Καθηγητής Βιοστατιστικής – Επιδημιολογίας Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο
5. Τσελέπης Αλέξανδρος Καθηγητής Οργανικής Χημείας και Βιοχημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
6. Κατσούρας Χρήστος, Αναπληρωτής Καθηγητής Καρδιολογίας, του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων
7. Κοραντζόπουλος Παναγιώτης, Επίκουρος Καθηγητής Καρδιολογίας, του Τμήματος Ιατρικής του Παν/μίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 6-3-2017

**ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**Πασχόπουλος Μηνάς**

Καθηγητής Μαιευτικής-Γυναικολογίας





ΣΤΟΥΣ ΓΟΝΕΙΣ ΜΟΥ



ΣΤΗ ΣΥΖΥΓΟ ΜΟΥ

ΝΑΤΑΣΑ



## **ΠΡΟΛΟΓΟΣ-ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε στην Α΄ Καρδιολογική Κλινική του ΠΓΝ Ιωαννίνων και στο Ερευνητικό Κέντρο Αθηροθρόμβωσης του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων από το Δεκέμβριο του 2010 έως το Δεκέμβριο του 2016. Μέρος της διατριβής αυτής πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια ενός ερευνητικού προγράμματος που συγχρηματοδοτήθηκε από την Ευρωπαϊκή Ένωση και μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Ανταγωνιστικότητα και Επιχειρηματικότητα» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ)-Ερευνητικό Πρόγραμμα Χρηματοδότησης: Συνεργασία 2009. Δράση Ι. Συνεταιρισμός μικρής και μεσαίας κλίμακας (κωδικός έργου: 09ΣΥΝ-12-827) και χρηματοδοτήθηκε από την επιτροπή ερευνών μέσω του ειδικού λογαριασμού κονδυλίων έρευνας (ΕΛΚΕ) του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Θα ήθελα να τονίσω ότι μέσα από αυτή την ερευνητική μου δραστηριότητα θεωρώ ότι δεν απέκτησα μόνο γνώσεις και επιστημονική επάρκεια αλλά και αρκετούς και καλούς φίλους, τους συνεργάτες μου.

Καταρχάς θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου και το σεβασμό μου στο Καθηγητή μου και Διευθυντή της Α΄ Καρδιολογικής Κλινικής του ΠΓΝΙ κ. Ιωάννη Γουδέβενο που με ενέπνευσε εκτός από το κλινικό έργο να ασχοληθώ με την έρευνα και με στήριξε σε κάθε βήμα της επαγγελματικής μου δραστηριότητας, στην υλοποίηση της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας αλλά και για την προτροπή του να μετεκπαιδευθώ στο εξωτερικό, όχι μόνο στη διάρκεια της ειδικότητας της Καρδιολογίας αλλά και όταν απέκτησα τον τίτλο αυτής.

Επίσης, ευχαριστώ ολόθερμα και οφείλω απεριόριστη ευγνωμοσύνη στον Καθηγητή Οργανικής Χημείας και Βιοχημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Αλέξανδρο Τσελέπη για την αμέριστη συμπαράσταση, τις ιδέες και τη στήριξη που μου παρείχε όλα αυτά τα χρόνια για να ολοκληρωθεί η παρούσα διατριβή. Οι γνώσεις του, η ερευνητική του δραστηριότητα και η επιστημονική του κατάρτιση ήταν ο αρωγός και συνοδοιπόρος μου στην καλύτερη κατανόηση όλων των βιοχημικών μηχανισμών που φαντάζουν

δυσνόητοι σε έναν κλινικό ιατρό. Τον ευχαριστώ επιπλέον για την ιδιαίτερη τιμή να είμαι μέλος του Ερευνητικού Κέντρου Αθηροθρόμβωσης του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, αλλά κυρίως γιατί όποτε τον χρειάστηκα έδινε λύση σε κάθε πρόβλημα.

Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω θερμά τη φίλη μου και συνεργάτιδα μου Καρδιολόγο Δρ. Λορέτα Καλαντζή που μου έδωσε το έναυσμα να ασχοληθώ με την έρευνα και χωρίς τη δική της υποστήριξη, καθοδήγηση και συμπαράσταση το εγχείρημα αυτό δεν θα έπαιρνε ποτέ σάρκα και οστά. Μέσα στα χρόνια της ειδικότητας μαζί μου πάντα έβρισκε χρόνο να με βοηθήσει.

Αμέριστη ήταν και η συμπαράσταση της επίσης φίλης μου και συνεργάτιδας μου Βιολόγου Δρ. Μαρίας Τσουμάνη. Παρότι πολλές φορές την «ταλαιπωρούσα» απασχολώντας την ατελείωτες ώρες στο εργαστήριο του Πανεπιστημίου, με τις γνώσεις της ήταν πάντα δίπλα μου χαμογελαστή όποτε τη χρειάστηκα.

Ιδιαίτερη μνεία θα ήθελα να κάνω στον Καθηγητή Βιοστατιστικής κ. Δημοσθένη Παναγιωτάκο που είχε την πλήρη στατιστική επιμέλεια της παρούσας ερευνητικής προσπάθειας και με δίδαξε να κάνω πολύπλοκες στατιστικές αναλύσεις.

Ευχαριστώ επίσης τον Καθηγητή Καρδιολογίας κ. Θεόφιλο Κωλέττη που συμμετείχε σαν μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής στην εκπόνηση της παρούσας διατριβής και με τις εύστοχες παρατηρήσεις του βόηθησε στη βελτίωση της ερευνητικής αυτής προσπάθειας.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Παθολογίας κ. Χαράλαμπο Μηλιώνη που βοήθησε τόσο στη καταγραφή των ασθενών όσο και στα πρώτα μου συγγραφικά βήματα στο πεδίο της έρευνας.

Ευχαριστώ επίσης θερμά τον Επίκουρο Καθηγητή Καρδιολογίας κ. Παναγιώτη Κοραντζόπουλο που πάντα με συμβούλευε με το δικό του μοναδικό τρόπο όλα αυτά τα χρόνια πώς να ξεπερνάω τα όποια μικρά ή μεγάλα προβλήματα προέκυπταν.



Πολύ σημαντική ήταν η συνεισφορά όλων των ιατρών-συνεργατών του Ερευνητικού Κέντρου Αθηροθρόμβωσης στην καταγραφή ασθενών που μετείχαν στη μελέτη και για την οποία θα ήθελα να τους ευχαριστήσω.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω στο φίλο μου και συνεργάτη σε διάφορα νοσοκομεία Ορθοπαιδικό Δρ. Δημήτριο Γιώτη που με την επιστημονική του κατάρτιση και τις πολύτιμες συμβουλές του με βοηθούσε σε κάθε βήμα της επαγγελματικής μου σταδιοδρομίας.

Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω το φίλο μου και συνεργάτη μου Στρατιωτικό Καρδιολόγο κ. Μάριο Κολιό που με τη τεχνογνωσία του, το επιστημονικό του υπόβαθρο, τις ιδέες του και την αστείρευτη ζωντάνια του βοήθησε τα μέγιστα ώστε να στεφθεί αυτή η προσπάθεια με επιτυχία.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στους γονείς μου Βασίλη και Άννα και στον αδερφό μου Θέμη που ήταν οι άνθρωποι που με στήριζαν στις σπουδές μου όλα αυτά τα χρόνια και ήταν δίπλα μου ψυχικά και συναισθηματικά συμβάλλοντας έμπρακτα τα μέγιστα ώστε να είμαι προσηλωμένος στους στόχους μου.

Τελειώνοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον άνθρωπο της ζωής μου, τη σύζυγό μου Νατάσα, που με τις συμβουλές της, την πίστη και υπομονή της ωσάν άλλη Πηνελόπη με βοηθάει συνεχώς να εκπληρώνω τα όνειρα και τους επαγγελματικούς και προσωπικούς μου στόχους.

*Σας ευχαριστώ όλους θερμά.*

Ιωάννης Β. Ντάλας

Μάρτιος 2017



## **ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ** (αλφαβητικά)

AA: Arachidonic acid, Αραχιδονικό οξύ

ADP: Adenosine Diphosphate, Διφωσφορική αδενοσίνη

AEE- Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο

ALT: Αλανική αμινοτρανσφεράση

Ang1: Angiotensin-1, Αγγειοποιητίνη-1

AST: Ασπαρτική αμινοτρανσφεράση

ATP: Adenosine Triphosphate, Τριφωσφορική αδενοσίνη

Bfgf: Basic Fibroblast Growth Factor, Βασικός Φιμπροβλαστικός αυξητικός παράγοντας

BMS: Bare Metal Stent, Γυμνό μεταλλικό stent

β-TG: β-Transforming growth factor, Αυξητικός παράγοντας μετασχηματισμού

CABG: Coronary Artery Bypass Graft surgery, Χειρουργική επέμβαση αορτοστεφανιαίας παράκαμψης

cAMP: Cyclic adenosine monophosphate, Κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη

CAPRIE trial: Clopidogrel versus Aspirin in Patients at Risk of Ischaemic Events

CB: Clopidogrel besylate, Βεσυλική κλοπιδογρέλη

CCB: Calcium channels blockers, Αναστολείς διαύλων ασβεστίου

CD40L: CD 40 Ligand, Προσδέτης του CD40

cGMP: Cyclic guanosine monophosphate, Κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη

CHARISMA trial: Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management, and Avoidance

CHS: Clopidogrel Hydrogen Sulfate, Όξινη θειϊκή κλοπιδογρέλη

CLEAN trial: Clopidogrel trial in patients with Elective percutaneous coronary intervention for stable ANgina and old myocardial infarction

CURE trial: Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events

CT: Computed Tomography, Αξονική Τομογραφία

ΓΕΣ: Γαστρεντερικό σύστημα

DES: Drug Eluting Stent, Φαρμακοεκλύον stent

dL: Δεκατόλιτρο που ισοδυναμεί με  $10^{-15}$  Λίτρα

EGF: Epidermal Growth Factor, Επιδερμικός αυξητικός παράγοντας

FGF: Fibroblast Growth Factor, Φιμπροβλαστικός αυξητικός παράγοντας

fl: fem to Litre, Μονάδα μέτρησης όγκου που ισοδυναμεί με  $10^{-15}$  λίτρα

g: Γραμμάριο

GFR: Glomerular Filtration Rate, Κάθαρση κρεατινίνης

GP: Glycoprotein, Γλυκοπρωτεΐνη

HGF: Hepatocyte Growth Factor, Ηπατοκυτταρικός αυξητικός παράγοντας

ΗΚΓ: Ηλεκτροκαρδιογράφημα

ICAM-1: Intercellular Adhesion Molecule-1, Ενδοκυτταρικό μόριο προσκόλλησης 1

IGF: Insulin-like Growth Factor, Αυξητικός παράγοντας ομοιάζων με ινσουλίνη

KM: Κολπική μαρμαρυγή

L: Λίτρο

LBBB: Left Bundle Branch Block, Αποκλεισμός αριστερού σκέλους

LMWH: Low Molecular Weight Heparin, Χαμηλού μοριακού βάρους Ηπαρίνη

MATCH trial: Management of Atherothrombosis with Clopidogrel in High-risk patients

MCP-1: Monocyte chemoattractant protein-1, Μονοκυτταρική χημειοελκυστική πρωτεΐνη-1

mg: Μικρογραμμάριο

MIF: Macrophage migration inhibitory factor, Ανασταλτικός παράγοντας μετανάστευσης μακροφάγων

min: Λεπτό

μl: Μικρόλιτρο που ισοδυναμεί με  $10^{-6}$  λίτρα

μm: Μικρόμετρο που ισοδυναμεί με  $10^{-6}$  μέτρα

mRNA: Messenger Ribonucleic acid, Αγγελιοφόρο RNA

mV: milliVolt

nm: Νανόμετρο που ισοδυναμεί με  $10^{-9}$  μέτρα

NOACs: New / Novel Oral Anticoagulants, Νεώτερα από του στόματος αντιπηκτικά

NSTEMI: Non ST-Elevation Myocardial Infarction, Έμφραγμα του μυοκαρδίου χωρίς ανάσπαση του διαστήματος ST του ηλεκτροκαρδιογραφήματος

ΟΣΣ: Οξύ Στεφανιαίο Σύνδρομο

ΠΑΝ: Περιφερική αρτηριακή νόσος

PARs: Proteinase-Activated Receptors, Ενεργοποιημένοι υποδοχείς πρωτεασών

PAF: Platelet activating factor, Παράγοντας ενεργοποίησης αιμοπεταλίων

PCI: Percutaneous Coronary Intervention, Διαδερμική επέμβαση στεφανιαίων αρτηριών, Αγγειοπλαστική

PDGF: Platelet-derived growth factor, Αυξητικός παράγοντας αιμοπεταλιακής προέλευσης

PF4: Platelet Factor 4, Αιμοπεταλιακός παράγοντας 4

PLATO trial: Platelet inhibition and patient outcomes

PLT: Platelets, Αιμοπετάλια

PPIs: Proton pump inhibitors, Αναστολείς αντλίας πρωτονίων

S1P: Sphingosine-1-phosphate, Λυσοσφιγγολιπίδιο

ΣΝ: Στεφανιαία νόσος

STEMI: ST-Elevation Myocardial Infarction, Έμφραγμα του μυοκαρδίου με ανάσπαση του διαστήματος ST του ηλεκτροκαρδιογραφήματος

TGF- $\beta$ : Transforming Growth Factorbeta, Μετασχηματίζων αυξητικός παράγοντας- $\beta$

TIA: Transient ischemic attack, Παροδικό ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο

TIMPs: Tissue Inhibitors of Metalloproteinases, Ιστικοί αναστολείς μεταλλοπρωτεϊνών

TRITON-TIMI 38 trial: Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition with Prasugrel-Thrombolysis in Myocardial Infarction

TSP-1: Θρομβοσπονδίνη-1

TxA2: Θρομβοξάνιο A2

UA: Unstable Angina, Ασταθή Στηθάγχη

VASP-P: Vasodilator-stimulated phosphoprotein, Αγγειοδιασταλτική διεγερτική φωσφοπρωτεΐνη

VCAM-1: Vascular cell adhesion protein-1, Προσκολλητικό μόριο του αγγειακού τοιχώματος-1

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor, Αγγειακός ενδοθηλιακός αυξητικός παράγοντας

VKA: Ανταγωνιστής βιταμίνης Κ

vWF: von Willebrand Factor, Παράγοντας von Willebrand





## **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ-ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ</b> .....	1
<b>ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ</b> .....	5
<b>ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ</b> .....	15
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	15
1. Αιμοπετάλια.....	15
1.1 Δομή αιμοπεταλίων .....	15
1.2 Αιμοπεταλιακοί υποδοχείς.....	21
α) Υποδοχείς που διαμεσολαβούν στη συγκέντρωση των αιμοπεταλίων στην αγγειακή βλάβη.....	21
β) Υποδοχείς που διαμεσολαβούν στην προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων.....	22
γ) Υποδοχείς που συμμετέχουν στην ενίσχυση της προσκόλλησης και συσσώρευσης των αιμοπεταλίων .....	24
1.3 Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων.....	24
α) Προσκόλληση.....	25
β) Έκκριση.....	26
γ) Συσσώρευση.....	27
δ) Θρομβοποίηση.....	28
1.4 Παθοφυσιολογικός ρόλος αιμοπεταλίων.....	28
α) Αιμόσταση .....	28
β) Αθηροσκλήρωση.....	30
γ) Φλεγμονή .....	33
δ) Αγγειογένεση .....	35
2. Αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα.....	39

2.1	Αναστολείς της κυκλοξυγονάσης-1.....	39
	α) Ασπιρίνη.....	39
	β) Τριφλουζάλη .....	39
2.2	Ανταγωνιστές του υποδοχέα P2Y <sub>12</sub> του ADP.....	40
	α) Κλοπιδογρέλη .....	40
	β) Πρασουγρέλη.....	44
	γ) Τικαγρελόρη.....	46
	δ) Καγκρελόρη.....	47
	ε) Τικλοπιδίνη.....	48
2.3	Αναστολείς των φωσφοδιεστερασών .....	48
2.4	Αναστολείς του υποδοχέα GP IIb/IIIa .....	49
2.5	Ανταγωνιστής του υποδοχέα PAR-1 της θρομβίνης.....	49
3.	Κατευθυντήριες οδηγίες για τη χρήση των αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων .....	51
4.	Κλοπιδογρέλη.....	57
4.1	Σύγκριση κλοπιδογρέλης και ασπιρίνης .....	57
4.2	Αντίσταση στην κλοπιδογρέλη.....	57
4.3	Πιθανές αιτίες αντίστασης στην κλοπιδογρέλη .....	58
4.4	Μέθοδοι εκτίμησης δραστηριότητας αιμοπεταλίων και ανίχνευσης αντίστασης στην κλοπιδογρέλη .....	61
4.5	Γενόσημες-ομοιοδραστικές μορφές κλοπιδογρέλης .....	63
5.	Σκοπός της ερευνητικής εργασίας .....	75
	<b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....</b>	<b>77</b>
6.	Μέθοδος.....	77
6.1	Κριτήρια ένταξης στη μελέτη .....	77

6.2	Κριτήρια αποκλεισμού .....	80
6.3	Σχεδιασμός της μελέτης .....	80
7.	Τυχαιοποίηση .....	81
8.	Παρακολούθηση.....	81
9.	Καταληκτικά σημεία μελέτης .....	81
10.	Βιοηθική.....	84
11.	Στατιστική ανάλυση .....	84
	<b>ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>87</b>
12.	Αποτελέσματα 6μηνης παρακολούθησης.....	87
12.1	Καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας.....	91
12.2	Καταληκτικά σημεία ασφάλειας .....	96
13.	Αποτελέσματα 12μηνης παρακολούθησης.....	99
13.1	Καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας.....	101
13.2	Καταληκτικά σημεία ασφάλειας .....	107
13.3	Σύγκριση καταληκτικών σημείων αποτελεσματικότητας και ασφάλειας σε υποομάδες ασθενών με διπλή αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία και μονοθεραπεία κλοπιδογρέλης.....	111
	<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....</b>	<b>113</b>
14.	Περιορισμοί της μελέτης .....	115
	<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>117</b>
	<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ.....</b>	<b>119</b>
	<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ-SUMMARY .....</b>	<b>125</b>
	<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>129</b>



## **ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

### **1. Αιμοπετάλια**

Τα αιμοπετάλια ή θρομβοκύτταρα είναι απύρρηνα κύτταρα, δισκοειδούς αμφίκυρτου σχήματος διαμέτρου 2-4  $\mu\text{m}$  και όγκου 7 fl [1]. Παράγονται στο μυελό των οστών από τα μεγακαρυοκύτταρα. Ο μυελός των οστών ενός φυσιολογικού ενήλικα περιέχει 100.000.000 μεγακαρυοκύτταρα. Ένα μεγακαρυοκύτταρο παρουσιάζει 10-20 προαιμοπετάλια και παράγει 3.000 αιμοπετάλια. Καθημερινά παράγονται περίπου  $14-40 \times 10^9$  αιμοπετάλια ώστε να διατηρείται ο αριθμός των αιμοπεταλίων στην περιφέρεια φυσιολογικός. Ο φυσιολογικός αριθμός τους στο περιφερικό αίμα κυμαίνεται από 150.000-400.000/ $\mu\text{l}$ . Τα αιμοπετάλια βρίσκονται συνήθως ανά μικρές ομάδες αλλά και διάσπαρτα ανάμεσα στα υπόλοιπα έμμορφα στοιχεία, έχουν χρόνο ζωής 7-10 ημέρες και αν δεν διεγερθούν καταστρέφονται στο δικτυοενδοθηλιακό σύστημα του σπλήνα ή του ήπατος [2].

#### **1.1 Δομή αιμοπεταλίων**

Η κατασκευαστική και η μορφολογική ιδιαιτερότητα των αιμοπεταλίων είναι αυτή που τους επιτρέπει να επιτελέσουν την αποστολή τους μετά από διαδοχικές μεταβολές του σχήματός τους. Δομικά τα αιμοπετάλια αποτελούνται από:

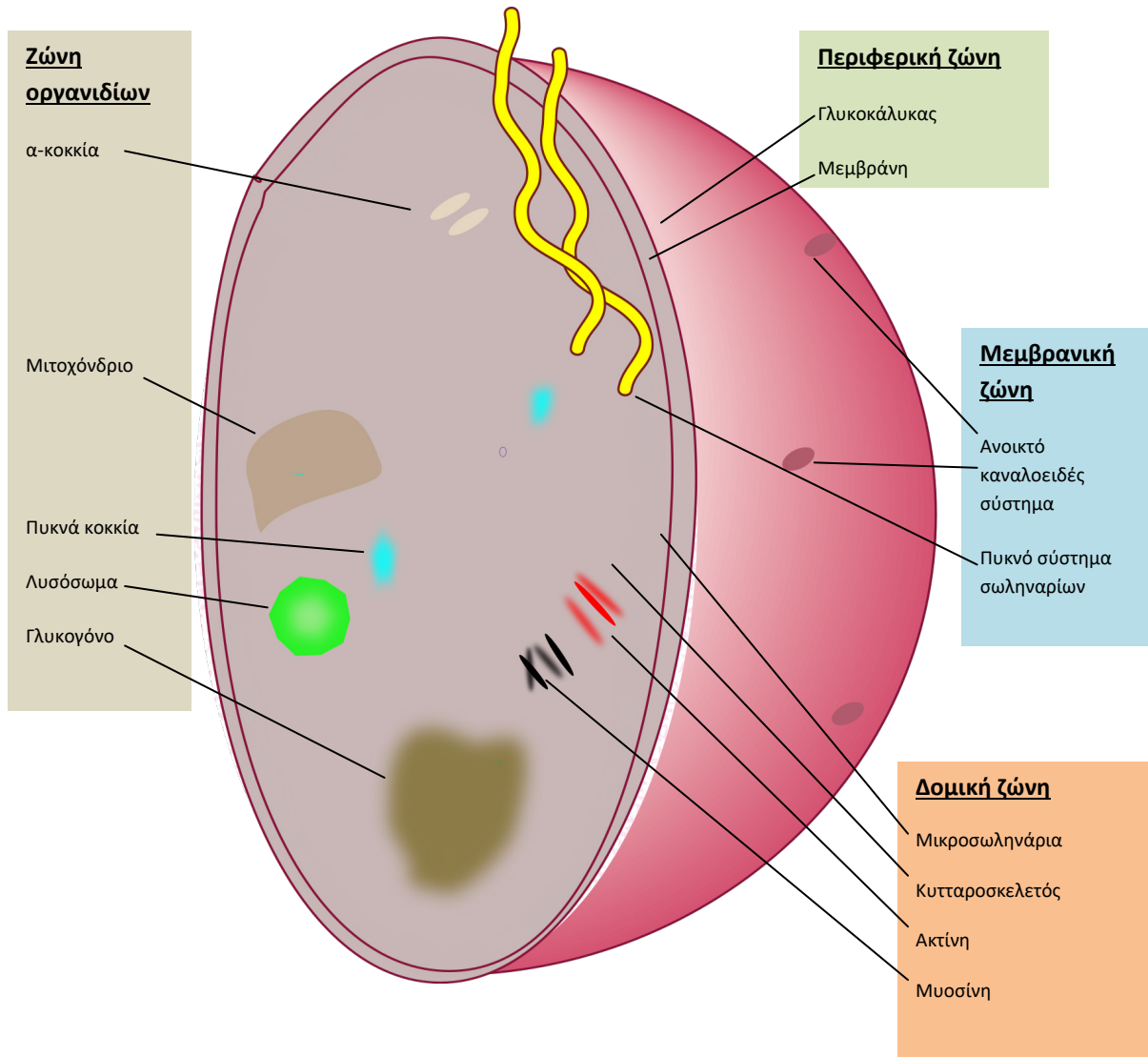
A) Περιφερική ζώνη

B) Δομική ζώνη

Γ) Ζώνη οργανιδίων

Δ) Μembranική ζώνη

Η δομή των αιμοπεταλίων απεικονίζεται στο Σχήμα 1.

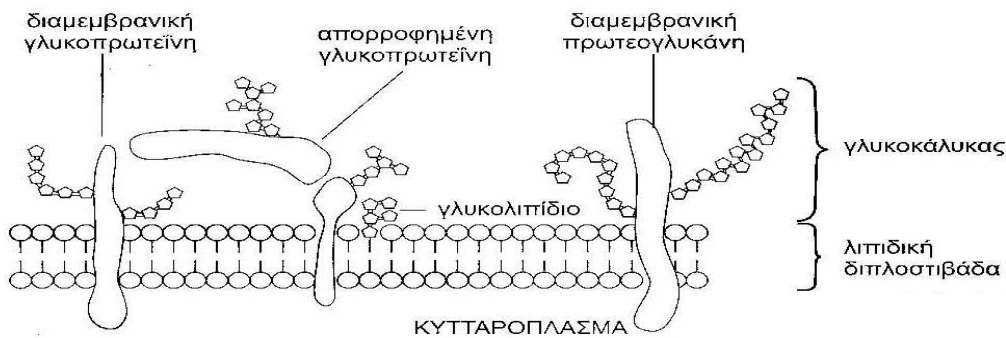


Σχήμα 1. Δομή αιμοπεταλίων

Αναλυτικά:

### *A) Περιφερική ζώνη*

Η περιφερική ζώνη των αιμοπεταλίων συμπεριλαμβάνει το γλυκοκάλυκα, που εσωκλείει την εξωκυτταρική και ενδοκυτταρική μεμβράνη, και ένα ανοιχτό καναλοειδές σύστημα. Ο γλυκοκάλυκας έχει πάχος 10-50nm και αποτελείται από πρωτεΐνες, βλεννοπολυσακχαρίτες και σε μεγάλη ποσότητα από σιαλικό οξύ, που μαζί με τις γλυκοπρωτεΐνες αποδίδουν τον όρο του γλυκοκάλυκα και προσδίδουν το ηλεκτραρνητικό φορτίο στη μεμβράνη. Η μεμβράνη του αιμοπεταλίου έχει πάχος 7-9 nm και είναι διάτρητη από ένα σύστημα μικροσωληναρίων, το οποίο αυξάνει εντυπωσιακά την έκταση αλλά και τη λειτουργικότητα της. Ειδικότερα η μεμβράνη αποτελεί φυσικό και χημικό φραγμό, μεταδίδει μηνύματα και επιδράσεις από το εξωτερικό περιβάλλον στο εσωτερικό του κυττάρου και επιτρέπει την ενεργό διόδο ιόντων και μεταβολιτών. Τα κύρια συστατικά της είναι τα λιπίδια (35%), οι πρωτεΐνες (57%) και οι υδατάνθρακες (8%), ενώ στην εξωτερική της επιφάνεια υπάρχει μεγάλος αριθμός υποδοχέων. Η μεμβράνη των αιμοπεταλίων έχει ασύμμετρη όψη και δομή και αποτελείται από τρεις στοιβάδες, δυο φωσφολιπιδικές και μια πρωτεϊνική που βρίσκεται ανάμεσα τους. Η λιπιδική στοιβάδα αποτελείται εξωτερικά από σφιγγομυελίνη και φωσφατιδυλοχολίνη, με ουδέτερο ηλεκτρικό φορτίο (που δεν παίρνει μέρος στην αιμόσταση), ενώ εσωτερικά αποτελείται κυρίως από φωσφατιδυλοσερίνη (ps) και φωσφατιδυλεθανολαμίνη (pe) που έχει αρνητικό φορτίο με προπηκτικές ιδιότητες (Σχήμα 2). Πρέπει να τονιστεί ότι η εντόπιση των αρνητικά φορτισμένων φωσφολιπιδίων στο εσωτερικό του κυττάρου όταν τα αιμοπετάλια βρίσκονται στην ήρεμη μη ενεργοποιημένη μορφή τους αποτελεί τρόπο πρόληψης μιας ανεξέλεγκτης και απρόσφορης διαδικασίας πήξης.



Σχήμα 2. Απεικόνιση της μεμβράνης των αιμοπεταλίων.

Κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων η εσωτερική στοιβάδα ξεδιπλώνεται προς τα έξω αποκαλύπτοντας έτσι τις απαραίτητες πρωτεΐνες-υποδοχείς που θα πάρουν μέρος στην αιμόσταση και οι οποίες θα περιγραφούν αναλυτικότερα παρακάτω. Οι γλυκοπρωτεΐνες παρουσιάζουν λειτουργίες υποδοχέα καθώς σε αυτές υπάρχουν σημεία σύνδεσης με σαφώς καθορισμένους συνδέσμους, οι οποίοι προσδένονται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων χάρη στη μεγάλη χημική συγγένεια που διαθέτουν. Έχουν ταυτοποιηθεί περίπου 50 γλυκοπρωτεΐνες και πολλές από αυτές απαντώνται με τη μορφή μη ομοιοπολικών συμπλεγμάτων, έτσι ώστε το κάθε σύμπλεγμα να θεωρείται ως μια ενιαία πρωτεΐνη. Τα σημαντικότερα συμπλέγματα για τη λειτουργία των αιμοπεταλίων είναι τα GPIB-IX, GPIA-IIA και GPIIB-IIIA.

### B) Δομική ζώνη

Η δομική ζώνη βρίσκεται εσωτερικά της περιφερικής ζώνης και περιλαμβάνει τον κυτταροσκελετό ο οποίος αποτελείται από την περιφερική δέσμη των μικροσωληναρίων και την ινώδη συσκευή στο κεντρικότερο μέρος.

Πιο αναλυτικά η περιφερική δέσμη των μικροσωληναρίων αποτελείται από 7-20 σωληνάρια τα οποία σχηματίζουν κύκλο κάτω από τη μεμβράνη. Το δομικό υλικό των μικροσωληναρίων είναι η πρωτεΐνη θρομβοσθενίνη ή τομπουλίνη. Τα μικροσωληνάρια συμμετέχουν στη διατήρηση του σχήματος των αιμοπεταλίων.



Η ινώδης συσκευή του κυτταρικού σκελετού αποτελείται από:

i) Το σύστημα των πυκνών σωληναρίων που βρίσκεται αμέσως κάτω από το σύστημα των μικροσωληναρίων και προς το εσωτερικό του αιμοπεταλίου και αποτελεί κύρια αποθήκη ελεύθερων ιόντων ασβεστίου ( $Ca^{++}$ ) τα οποία παίζουν τον κεντρικό ρόλο στην ενεργοποίηση αλλά και στη ρύθμιση του μεταβολισμού των αιμοπεταλίων. Πιθανολογείται ότι αποτελεί και μείζονα θέση παραγωγής προσταγλανδίνης και θρομβοξανίου.

ii) Το σύστημα των ανοικτών σωληναρίων που αποτελεί την επέκταση της κυτταρικής μεμβράνης του αιμοπεταλίου προς το εσωτερικό του. Οι κυριότερες λειτουργίες του συστήματος αυτού είναι αφενός ότι επιτρέπει την είσοδο και τη μετακίνηση εξωγενούς υλικού προς το εσωτερικό του κυττάρου και αφετέρου ότι συμβάλλει στη μετακίνηση των κοκκίων όταν τα αιμοπετάλια διεγερθούν. Επιπλέον φαίνεται ότι η μεμβράνη του ανοικτού συστήματος σωληναρίων αποτελεί τόπο όπου εδράζονται, δίκην αποθήκης, γλυκοπρωτεΐνες της κυτταρικής μεμβράνης οι οποίες αποκαλύπτονται προς το εξωτερικό του κυττάρου όταν αυτό ενεργοποιηθεί.

iii) Τις συσταλτές πρωτεΐνες όπως η ακτίνη, η μυοσίνη, η προφυλίνη, η προφυλακτίνη, η καλμοντουλίνη. Η ακτομυοσίνη, η σπουδαιότερη από τις συσταλτές πρωτεΐνες, (αποτελεί το 15% των πρωτεϊνών στα αιμοπετάλια) υπάρχει με τη μορφή συμπλέγματος δυο πρωτεϊνών, της ακτίνης και της μυοσίνης. Ως ακτομυοσίνες χαρακτηρίζονται οι πρωτεΐνες που είναι ικανές να συστέλλονται, όταν βρεθούν μαζί με ATP, ελάχιστες ποσότητες  $Ca^{++}$  και ακόμη μικρότερες ποσότητες μαγνησίου ( $Mg^{++}$ ). Ο πολυμερισμός των ινιδίων της ακτομυοσίνης αποτελεί σημαντικό βήμα στην ενεργοποίηση και την ικανότητα συστολής των αιμοπεταλίων. Η ακτομυοσίνη (θρομβοσθενίνη) υπάρχει με τη μορφή μονομερών στα ήρεμα αιμοπετάλια και με τη μορφή πολυμερών στα ενεργοποιημένα. Στη φάση της ενεργοποιημένης κατάστασης των αιμοπεταλίων (που αντιστοιχεί στο δενδριτικό τύπο) τα νηματοειδή πολυμερή της ακτομυοσίνης γεμίζουν τις προσεκβολές (τους δενδρίτες). Η σύσπαση των ινιδίων της ακτομυοσίνης συντελεί στην αλλαγή σχήματος από

αμφίκυρτο δισκοειδές σε στρογγυλό με ανάπτυξη προσεκβολών και ψευδοποδιών (ενεργοποίηση). Επίσης συντελεί στη σύσπαση των κοκκίων και αποβολή του περιεχομένου τους.

### *Γ) Ζώνη οργανιδίων*

Η ζώνη οργανιδίων περιέχει πλήθος σωματιδίων που βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα και αποτελούν κυρίως χώρους αποθήκευσης πρωτεϊνών αλλά και άλλων ουσιών που είναι πρωταρχικής σημασίας για τη λειτουργία των αιμοπεταλίων. Τέτοια σωματίδια είναι:

- δ-κοκκία ή πυκνά κοκκία
- α-κοκκία
- λ κοκκία (λυσσοσώματα)
- μιτοχόνδρια
- κοκκία γλυκογόνου
- κοκκία θρομβοξανίου

Τα δ-κοκκία αποτελούν τον αποθηκευτικό χώρο ορισμένων αιμοπεταλιακών ουσιών μη σχετιζόμενων με μεταβολικές διεργασίες, όπως ιόντων  $Ca^{++}$  και σεροτονίνης. Ένας αριθμός των πρωτεϊνών των α-κοκκίων είναι εντελώς ειδικός για τη λειτουργία των αιμοπεταλίων, όπως ο vWF, η TSP, ο PDGF, η β-TG, PF4, TxA2, P-σελεκτίνη, αδενυλική κυκλάση. Τα ενδοθηλιακά κύτταρα, οι ινοβλάστες, οι λείες μυϊκές ίνες και τα μονοκύτταρα αποτελούν τα κύτταρα-στόχους για τις ειδικές αυτές πρωτεΐνες. Όλες αυτές οι πρωτεΐνες παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποκατάσταση της βλάβης του αγγείου, στην αποκατάσταση ενός τραύματος αλλά και στην αθηρογένεση. Τα λ-κοκκία περιέχουν υδρολυτικά ένζυμα που εκκρίνονται κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων.

## Δ) Μεμβρανική ζώνη

Η μεμβρανική ζώνη αποτελείται από ένα πυκνό σύστημα σωληναρίων ως χώρο αποθήκευσης ιόντων  $Ca^{++}$  και ένα σύστημα ενζύμων που συμμετέχουν στην παραγωγή προσταγλανδίνης.

### 1.2 Αιμοπεταλιακοί υποδοχείς

Οι υποδοχείς αυτοί αναγνωρίζουν είτε διαλυτούς αγωνιστές των αιμοπεταλίων είτε αγωνιστές των αιμοπεταλίων που είναι στο συνδετικό ιστό όπως είναι το κολλαγόνο. Θα πρέπει να τονιστεί ότι κάποιοι υποδοχείς εντοπίζονται στην εξωτερική πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης ενώ άλλοι βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα και μεταφέρονται στην κυτταρική μεμβράνη κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Πιο αναλυτικά οι υποδοχείς διακρίνονται στις εξής κατηγορίες:

#### *α) Υποδοχείς που διαμεσολαβούν στη συγκέντρωση των αιμοπεταλίων στην αγγειακή βλάβη*

Ο γλυκοπρωτεϊνικός υποδοχέας των αιμοπεταλίων Iba (GPIba), θεωρείται βασικός για τη συγκέντρωση των αιμοπεταλίων στο κατεστραμμένο ενδοθήλιο και κατέπекταση στην αγγειακή βλάβη. Βιοχημικά, υπάρχουν τέσσερις διαμεμβρανικές πρωτεΐνες, η GPIba, η GPIbβ, η GPIX, και η GPV, οι οποίες συγκεντρώνονται στην επιφάνεια των μεγακαρυοκυττάρων του μυελού των οστών και δημιουργούν τελικά τον λειτουργικό υποδοχέα GPIb. Η ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων οδηγεί στην παροδική εξάλειψη του GPIb από την επιφάνεια των αιμοπεταλίων, ενώ μετά από 30-60 min παρατηρείται μια σταδιακή επανεμφάνιση σε φυσιολογικά επίπεδα. Η εξωκυτταρική περιοχή της GPIb αποτελεί τη θέση πρόσδεσης για τον vWF και την P-σελεκτίνη. Θα πρέπει να τονιστεί ο διττός ρόλος του σύμπλοκου GPIb που λειτουργεί και ως υποδοχέας για τους παράγοντες πήξης XI, XII και τη θρομβίνη και για το λόγο αυτό ο GPIb θεωρείται πολύ σημαντικός υποδοχέας αφού συνδέει την πρωτογενή με τη δευτερογενή αιμόσταση. Η πρόσδεση της θρομβίνης στο GPIba φαίνεται να ευνοεί την παρουσίαση της θρομβίνης στον

κατάλληλο υποδοχέα της, τον ενεργοποιημένο από πρωτεάσες υποδοχέα (PAR1). Επιπλέον ο GPIb-IX διευκολύνει την πρόσδεση της θρομβίνης στην GPIbα, ενώ αλληλεπιδρά και με την αγγειακή P-σελεκτίνη, γεγονός που καταδεικνύει και τη λειτουργία του στη διαμεσολαβούμενη από τα αιμοπετάλια φλεγμονώδη διαδικασία. Σε περίπτωση ανωμαλίας σε τρία από τα γονίδια που κωδικοποιούν την GPIb [που βρίσκονται στα χρωμοσώματα 17p12 (GPIbA), 22q11.2 (GPIbβ), 3q29(GP5) και 3q21 (GP9)] εκδηλώνεται το σύνδρομο Bernard-Soulier που χαρακτηρίζεται από μορφολογικές ανωμαλίες των αιμοπεταλίων και οδηγεί σε σοβαρή αιμορραγική διάθεση. Πρόκειται για αυτοσωμικό υπολειπόμενο νόσημα με συχνότητα 1 στα 10<sup>6</sup> νεογέννητα ή παιδιά με συμπτώματα όπως η εμφάνιση αυτόματων μωλώπων, επιστάξεων ή ουλορραγιών ενώ σε μεγαλύτερα άτομα τα συμπτώματα μπορούν να περιλαμβάνουν σοβαρή ή παρατεταμένη εμμηνορρυσία, αιμορραγία μετά από οδοντιατρικές εργασίες ή χειρουργεία.

### *β) Υποδοχείς που διαμεσολαβούν στην προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων*

Οι υποδοχείς αυτοί είναι κατά κύριο λόγο οι αιμοπεταλιακοί υποδοχείς του κολλαγόνου όπως οι GPIa/IIa, α2β1, GPIIb/IIIa, αIIbβ3, GPIV, GPVI με πιο σημαντικούς τον α2β1 (ο οποίος έχει υψηλότερη συγγένεια για το κολλαγόνο αλλά χρειάζεται ενεργοποίηση για την πλήρη έκφρασή του) και τον GPVI (που ενεργοποιεί τα αιμοπετάλια). Το κολλαγόνο είναι αναπόσπαστα από τους πλέον σημαντικούς αγωνιστές των αιμοπεταλίων και οι τύποι I, III, IV, V, VI και VIII διαμέσου της αλληλεπίδρασης τους με τα κυκλοφορούντα αιμοπετάλια συμμετέχουν και στο σχηματισμό του θρόμβου. Άλλοι εντοπίζονται στο εξωτερικό μέρος της μεμβράνης, άλλοι είναι διαλυτοί και βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα, ενώ άλλοι εντοπίζονται σε υποκυτταρικό επίπεδο και σε μεμβράνες ενδοαιμοπεταλιακών σωματιδίων. Πολύ σημαντικά είναι τα γλυκοπρωτεϊνικά συμπλέγματα της μεμβράνης όπως GPIb/IX/V-ειδικός υποδοχέας για τον vWF (προσκόλληση), GPIa/IIa-υποδοχέας

κολλαγόνου (προσκόλληση), GPIIb/IIIa-υποδοχέας ινωδογόνου (συσσώρευση).

Με βάση την ειδικότητα και τη χημική συμπεριφορά τους οι υποδοχείς διακρίνονται στον πίνακα 1 σε ιντεγκρίνες και μη-ιντεγκρινικούς (όπως υποδοχείς πλούσιους σε λευκίνη, σελεκτίνες, ανοσοσφαιρινικοί κτλ.).

<b>Ιντεγκρίνες</b>	
GPIa-IIa	Υποδοχέας κολλαγόνου, $\alpha 2\beta 1$ , VLA-2
GPIc-IIa	Υποδοχέας φμπρονεκτίνης, $\alpha 5\beta 1$ , VLA-5
GPIc-IIa	υποδοχέας λαμνίνης, $\alpha 6\beta 1$ , VI.A-6
GPIIb-IIIa	$\alpha IIb\beta 3$
GPIIb-IIIa	υποδοχέας βιτρονεκτίνης, $\alpha v\beta 3$
<b>Πλούσιοι σε λευκίνη</b>	
GPIb-V-IX	–
GPIV	GPIIIb
<b>Σελεκτίνες</b>	
P-σελεκτίνη	GMP 140
<b>Ανοσοσφαιρινικοί</b>	
ICAM-2	–
PCAM-1	–
<b>Ενσωματωμένοι λυσσωμικοί</b>	
CP53	–

Πίνακας 1. Υποδοχείς που διαμεσολαβούν στην προσκόλληση και συσσώρευση των αιμοπεταλίων.

Οι ιντεγκρίνες αποτελούν εξειδικευμένα τμήματα των γλυκοπρωτεϊνών της μεμβράνης και το μόριο τους αποτελείται από δυο ανόμοιες πεπτιδικές αλυσίδες, μια  $\alpha$  και μια  $\beta$ . Είναι δηλαδή ετεροδιμερή συμπλέγματα, π.χ.  $\alpha 2\beta 1$ . Είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες-υποδοχείς και διακρίνονται σε ένα μεγάλο εξωκυττάριο τμήμα, ένα μεμβρανικό και ένα ενδοκυττάριο ή αλλιώς ουραίο τμήμα που συνδέεται με την ακτίνη. Επομένως οι ιντεγκρίνες είναι συνδετικές ουσίες μεταξύ του κυτταροσκελετού και πρωτεϊνών ή άλλων μορίων προσκόλλησης (ινωδογόνο).

Οι μη-ιντεγκρινικοί υποδοχείς (υποδοχείς ενσωματωμένοι στις G-πρωτεΐνες) είναι τριμερείς διαμεμβρανικοί υποδοχείς. Εδράζονται στην υποομάδα  $\alpha$  ενός ετεροτριμερούς μορίου, που αποτελείται από μονή πεπτιδική αλυσίδα, η οποία διαπερνά τη μεμβράνη επτά φορές. Οι άλλες υποομάδες  $\beta$  και  $\gamma$  είναι ενδοκυττάρια. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα

προκαλεί έναν καταρράκτη μηνυμάτων με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων.

*γ) Υποδοχείς που συμμετέχουν στην ενίσχυση της προσκόλλησης και συσσώρευσης των αιμοπεταλίων*

Οι υποδοχείς αυτοί είναι συνδεδεμένοι με G-πρωτεΐνες (GPCRs), μια οικογένεια υποδοχέων με 7-διαμεμβρανικές περιοχές που μεταδίδουν μηνύματα μέσω των ετεροτριμερών G πρωτεϊνών και μέσω του ιοντικού διαύλου P2X<sub>1</sub>. Στους υποδοχείς αυτούς συνδέονται οι διαλυτοί αγωνιστές των αιμοπεταλίων όπως το TxA<sub>2</sub>, που παράγεται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, και το ATP και ADP, που απελευθερώνονται στην κυκλοφορία από τα κατεστραμμένα ερυθροκύτταρα αλλά και τα πυκνά κοκκία των αιμοπεταλίων. Πιο αναλυτικά το TxA<sub>2</sub> προσδέεται στον υποδοχέα TxA<sub>2</sub>/prostaglandin H<sub>2</sub> receptor (TP) και έτσι ενισχύει την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων, το ATP συντελεί στην ταχύτερη ενεργοποίηση μέσω της εισροής ιόντων Ca<sup>2+</sup> διαμέσου του υποδοχέα P2X<sub>1</sub>, ενώ το ADP μέσω των υποδοχέων P2Y<sub>1</sub> (συζευγμένου με G<sub>q</sub> πρωτεΐνες) και του P2Y<sub>12</sub> (συζευγμένου με G<sub>i</sub> πρωτεΐνες).

### *1.3 Ενεργοποίηση αιμοπεταλίων*

Τα αιμοπετάλια κυκλοφορούν σε ανενεργό μορφή και ενεργοποιούνται από το κατεστραμμένο ενδοθήλιο, από τις αλλαγές της ροής του αίματος (λόγω συνθηκών διατμητικής τάσης, αρτηριοσκλήρυνσης ή αγγειοσπασίας) και από χημικούς διεγέρτες που παράγονται τοπικά με αποτέλεσμα την έκφραση της λειτουργικής τριάδας προσκόλληση-έκκριση-συσσώρευση.

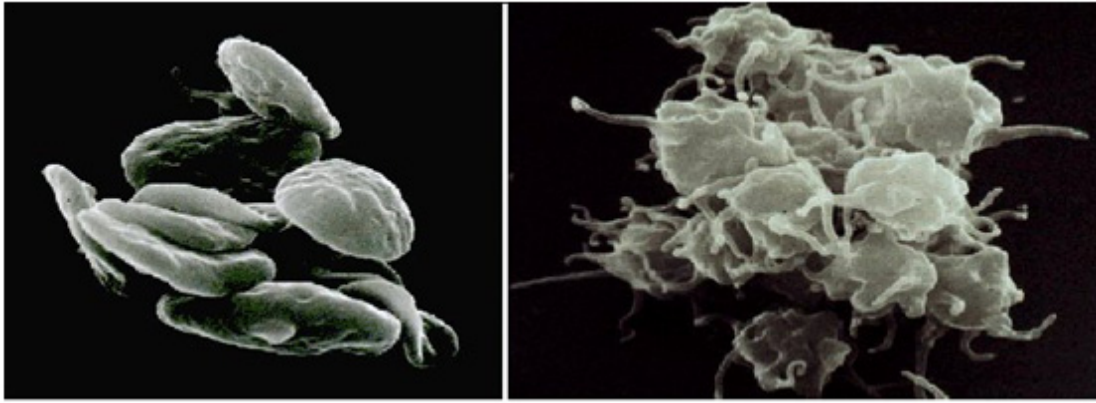
Η λειτουργική κατάσταση των αιμοπεταλίων εξαρτάται από τη δράση διεγερτικών αλλά και ανασταλτικών ερεθισμάτων. Κύριοι διεγέρτες της ενεργοποίησης είναι το ADP, η σεροτονίνη, τα ιόντα Ca<sup>++</sup>, το TxA<sub>2</sub>, ο PAF (εκκρίνονται από τα αιμοπετάλια), η αδρεναλίνη (προσέρχεται με την

κυκλοφορία), η θρομβίνη (παράγεται τοπικά) και το κολλαγόνο (αποκαλύπτεται τοπικά).

Οι διεγέρτες αυτοί ασκούν την επίδραση τους, μόνοι η συνεργικά, συνδεδεμένοι με διάφορους υποδοχείς της επιφάνειας των αιμοπεταλίων. Η σύνδεση του διεγέρτη με τον υποδοχέα του (ιντεγκρίνη η άλλο) αποτελεί το έναυσμα της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων στα πρώιμα στάδια της λειτουργικότητας τους (πυροδότηση) και οριοθετεί την έναρξη της ενδοκυττάριας μετάδοσης του σήματος με την αποφασιστική συμμετοχή ειδικών πρωτεϊνών μεσολάβησης, των G-πρωτεϊνών. Η αλλαγή του σχήματος των αιμοπεταλίων από δισκοειδές σε σφαιρικό με ανάπτυξη προσεκβολών και ψευδοποδίων είναι η πρωιμότερη απάντηση των αιμοπεταλίων σε διάφορους διεγέρτες. Η αλλαγή αυτή επιτυγχάνεται με την επανοργάνωση της ακτομυοσίνης του κυτταροσκελετού, την αποκάλυψη των γλυκοπρωτεϊνών-υποδοχέων της μεμβράνης και την αποβολή του περιεχομένου των κοκκίων.

#### *α) Προσκόλληση*

Προσκόλληση των αιμοπεταλίων ονομάζεται το φυσικό και βιοχημικό φαινόμενο κατά το οποίο τα αιμοπετάλια μετά την επαφή τους με το απογυμνωμένο τοίχωμα των αγγείων αλλάζουν συμπεριφορά, μεταβάλλουν το φορτίο της μεμβράνης και το σχήμα τους και τελικά προεκβάλλουν ψευδοπόδια, απλώνονται και προσκολλώνται πάνω στην επιφάνεια της βλάβης (σχήμα 3). Η προσκόλληση των αιμοπεταλίων πραγματοποιείται πάνω στο απογυμνωμένο ενδοθήλιο και στις ίνες του κολλαγόνου της υπενδοθηλιακής στοιβάδας είτε άμεσα με τους υποδοχείς GPIa/GPIIa, α2β1, GPVI, είτε έμμεσα με την παρουσία του vWF, ο οποίος γεφυρώνει τις ίνες του υπενδοθηλιακού κολλαγόνου με τον υποδοχέα GPIB/IX/V.



Ήρεμα αιμοπετάλια

Ενεργοποιημένα αιμοπετάλια

Σχήμα 3. Απεικόνιση των αιμοπεταλίων με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

### β) Έκκριση

Ταυτόχρονα τα αιμοπετάλια αρχίζουν να εκκρίνουν, μεγάλο αριθμό αιμοπεταλιακών ουσιών (TxA<sub>2</sub>, ADP, PAF, PF<sub>4</sub>, PF<sub>3</sub>, B-TG, FXII, FV, FI, FVIII, FXIII) που βρίσκονται αποθηκευμένες στα κοκκία του πρωτοπλάσματος. Οι ουσίες αυτές είναι απαραίτητες για την ενεργοποίηση παρακείμενων αιμοπεταλίων και για την ολοκλήρωση της επίσχεσης της αιμορραγίας με το σχηματισμό θρομβίνης. Με την τοπική αντίδραση απελευθέρωσης απελευθερώνεται ADP και TxA<sub>2</sub> που πυροδοτούν την ταυτόχρονη έναρξη του φαινομένου της συσσώρευσης. Η αντίδραση απελευθέρωσης συμβαίνει προ και κατά τη συσσώρευση τους. Είναι η τρίτη από τις κοινές λειτουργίες των αιμοπεταλίων, που εμφανίζεται μετά την επαφή τους με τη βλάβη του τοιχώματος των αγγείων και διακρίνεται σε αναστρέψιμη και μη αναστρέψιμη. Πρόκειται για το σύνολο των ενδο- και εξωαιμοπεταλιακών μεταβολών, που συμβαίνουν κατά την ενεργοποίησή τους και καθιστούν τα αιμοπετάλια ικανά να συνδέονται μεταξύ τους με τη βοήθεια ινωδογόνου και Ca<sup>++</sup> που παίζουν το ρόλο γέφυρας. Το ADP που απελευθερώνεται από τα αιμοπετάλια κατά την ενεργοποίησή τους, αλληλεπιδρά με δύο υποδοχείς της μεμβράνης του αιμοπεταλίου (P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub>), οι οποίοι δρουν μέσω διαφορετικών ενδοκυτταρικών σημάτων. Η ενεργοποίηση του P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub> επάγει





### *δ) Θρομβοποίηση*

Θρομβοποίηση ονομάζεται το σύνολο των διεργασιών που οδηγούν στην παραγωγή αιμοπεταλίων. Στις διεργασίες αυτές εμπλέκονται κυτταρικοί και χημικοί παράγοντες. Οι κυτταρικές προβαθμίδες των αιμοπεταλίων βρίσκονται στο μυελό των οστών. Προέρχονται από το πολυδύναμο μυελικό προγονικό κύτταρο. Οι ανάγκες θρομβοποίησης επιτελούνται με βραχυπρόθεσμους ή μακροπρόθεσμους ρυθμιστικούς μηχανισμούς. Η άμεση βραχυπρόθεσμη απάντηση εκδηλώνεται με την απελευθέρωση αγγειοσυσπαστικών ουσιών που προκαλούν απελευθέρωση των αποθηκευμένων αιμοπεταλίων από το σπλήνα. Η μόνιμη μακροπρόθεσμη απάντηση εκδηλώνεται με την παραγωγή αιμοπεταλίων από το μυελό. Καθοριστικός στη θρομβοποίηση είναι ο αριθμός των αιμοπεταλίων που κυκλοφορεί στην περιφέρεια. Ελάττωση του αριθμού τους διεγείρει την παραγωγή τους, ενώ αύξησή τους τη μειώνει. Αδιευκρίνιστο παραμένει το πώς μεταφέρεται το μήνυμα στο μυελό των οστών. Πιθανολογείται η ύπαρξη χημικού δρόμου με τη συμμετοχή κυρίως της θρομβοποιητίνης.

#### *1.4 Παθοφυσιολογικός ρόλος αιμοπεταλίων*

Τα αιμοπετάλια δεν διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο μόνο στην αιμόσταση αλλά παίρνουν μέρος και σε άλλες διαδικασίες του οργανισμού όπως στην αθηροσκλήρωση, στη φλεγμονή και στην αγγειογένεση.

##### *α) Αιμόσταση*

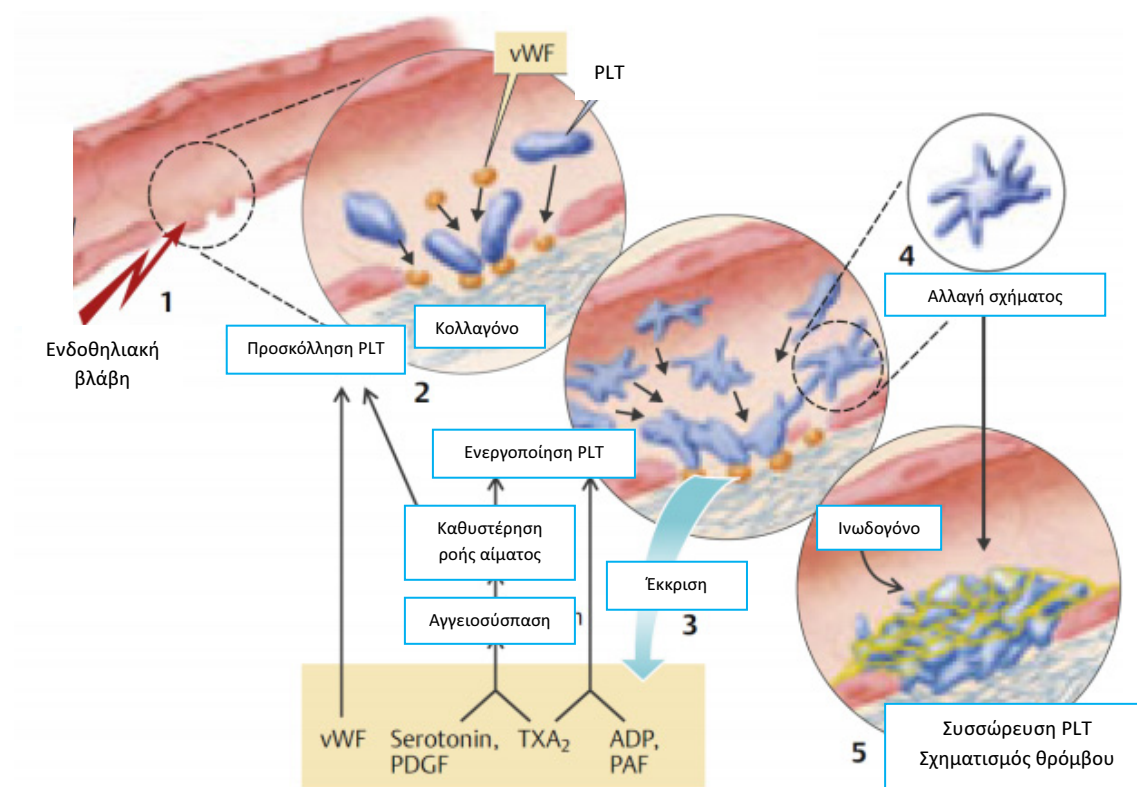
Η αιμόσταση είναι ο φυσιολογικός μηχανισμός άμυνας του οργανισμού που εμποδίζει την απώλεια του αίματος από τις μικρές ή μεγάλες βλάβες των αιμοφόρων αγγείων και εξασφαλίζει την ομαλή κυκλοφορία του σε αυτά. Αυτή η πολυεπίπεδη λειτουργία της αιμόστασης επιτελείται άμεσα με τρεις κύριες βιολογικές συνιστώσες: τα αιμοπετάλια, τους παράγοντες της αιμόστασης που εμπεριέχονται στο πλάσμα και το τοίχωμα των αγγείων του αίματος. Επίσης, στη λειτουργία της αιμόστασης έμμεσα συμμετέχουν τα

ερυθρά αιμοσφαίρια (ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια με την τοπική προσφορά ADP αιμολυόμενα στον εξωαγγειακό χώρο) καθώς και τα λευκά αιμοσφαίρια και κυρίως τα μονοκύτταρα (ενεργοποιούν τα αιμοπετάλια ή την πήξη με παράγοντες που απελευθερώνουν). Το ενιαίο φαινόμενο της αιμόστασης διακρίνεται στα ακόλουθα στάδια:

i) Την αρχική αιμόσταση όπως ονομάζεται το αρχικό τμήμα του συνολικού φαινομένου της αιμόστασης και αναφέρεται στις μεταβολές (ποσοτικές, δομικές και άλλες) που παθαίνουν τα αιμοπετάλια από την επαφή τους με τη βλάβη του τοιχώματος των αγγείων και οι οποίες οδηγούν στην έστω και παροδική επίσχεση της αιμορραγίας. Τα αιμοπετάλια φυσιολογικά κυκλοφορούν μοναχικά χωρίς να προσκολλώνται πουθενά. Καθώς προσκολλώνται στο σημείο της βλάβης και ερεθιζόμενα από αυτήν, ενεργοποιούνται, εκκρίνουν ουσίες όπως ADP, PAF, αλλάζουν σχήμα, συσσωρεύονται και τελικά συντελούν στη δημιουργία του λευκού αιμοστατικού θρόμβου (από αιμοπετάλια και ινώδες) που οδηγεί στην παροδική έστω διακοπή της αιμορραγίας (Σχήμα 5). Τονίζεται ότι στα αιμοπετάλια, όπως και στα ενδοθηλιακά κύτταρα του τοιχώματος των αγγείων, υπάρχουν μηχανισμοί διέγερσης και αναστολής που με δυναμική ισορροπία διατηρούν και το τοίχωμα των αγγείων ακέραιο και τα μετακινούμενα με την κυκλοφορία αιμοπετάλια μη ενεργοποιημένα (δεν προσκολλώνται δηλαδή στο ενδοθήλιο και δεν συσσωρεύονται μεταξύ τους). Αν συμβεί να ενεργοποιηθούν πάνω στη βλάβη του αγγείου, τότε τα αιμοπετάλια παθαίνουν βαθιές δομικές και βιοχημικές μεταβολές, οι οποίες οδηγούν στην επίσχεση της αιμορραγίας με την αυτοκαταστροφή τους.

ii) Την πήξη του αίματος, η οποία είναι το σύνολο της αλληλοδιαδοχής ενεργοποίησης των πρωτεϊνών του πλάσματος (παραγόντων της πήξης), οι οποίες οδηγούν στην παραγωγή θρομβίνης και στο σχηματισμό ινικής (του ερυθρού θρόμβου) που έχει σαν αποτέλεσμα τη μόνιμη επίσχεση της αιμορραγίας.

iii) Την ινωδολύση που είναι το τελευταίο βήμα της αιμόστασης και οδηγεί στην αποκατάσταση των βλαβών, λύνοντας το θρόμβο και ομαλοποιώντας το ενδοθηλιακό τοίχωμα των αγγείων.

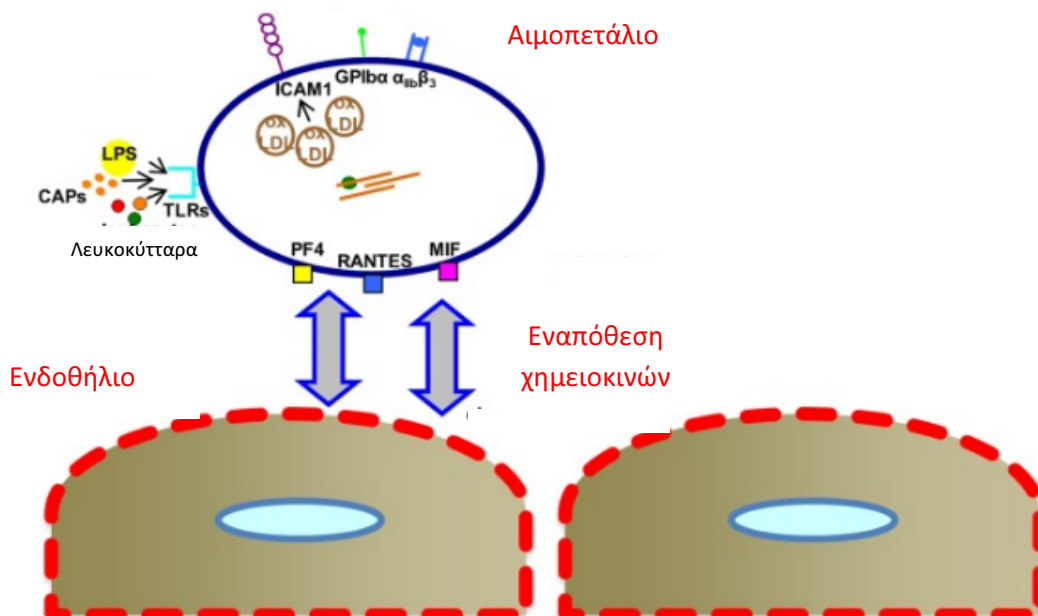


Σχήμα 5. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων (PLT) στην αιμόσταση.

### β) Αθηροσκλήρωση

Κατά την ενεργοποίηση εντός του μικροπεριβάλλοντος της αθηρωματικής πλάκας ή ακόμη και σε πολύ πρώιμα στάδια της αθηρογένεσης σε περιοχές υψηλής διατμητικής τάσης, τα αιμοπετάλια εκφράζουν αυξημένα επίπεδα φλεγμονωδών υποδοχέων προσκόλλησης όπως ICAM-1, GPIba, GP $\alpha$ <sub>IIb</sub> $\beta$ 3 που συνδέονται με την προσδεδεμένη οξειδωμένη LDL (oxLDL) στα αιμοπετάλια. Μια από τις πιο σημαντικές λειτουργίες των αιμοπεταλίων στην αθηροσκλήρωση είναι η στρατολόγηση λευκοκυττάρων μέσω των άμεσων αλληλεπιδράσεων με Toll-like υποδοχέων. Οι ίδιοι υποδοχείς μπορούν να αλληλεπιδράσουν με λιποπολυσακχαρίτες (LPS), ή καρβοξυαλκυκυρρόλες

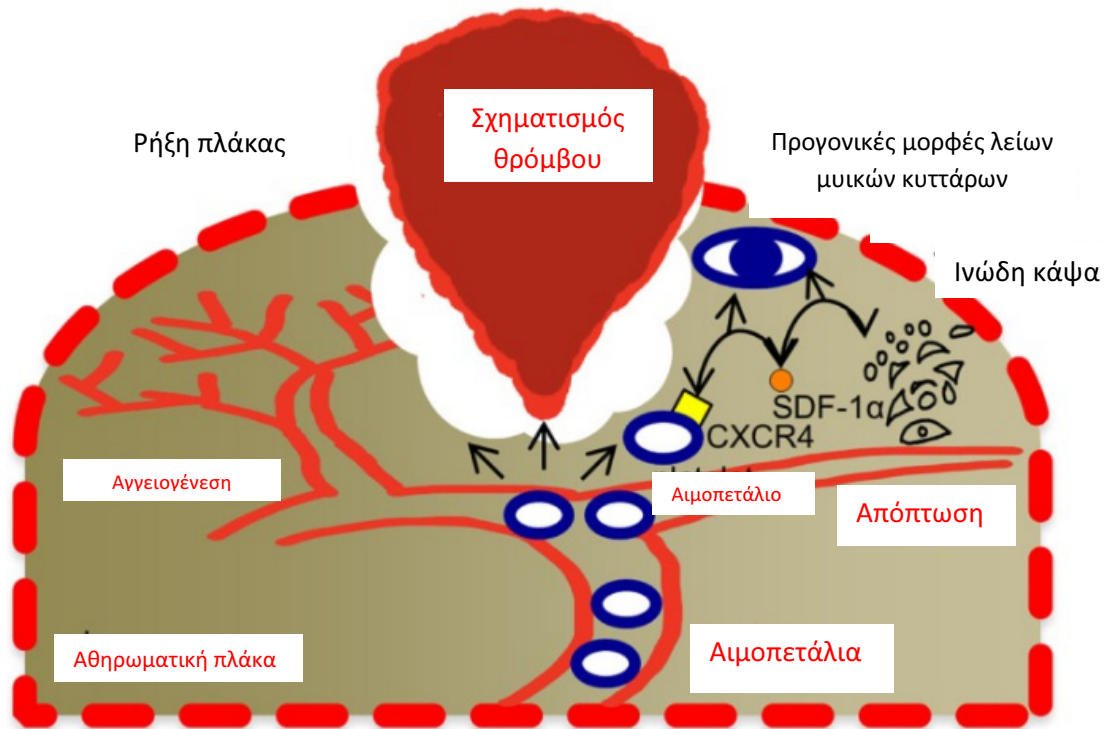
(CAPS). Ταυτόχρονα τα αιμοπετάλια συμμετέχουν στην έναρξη αθηροσκλήρωσης με απελευθέρωση χημειοκίνης και αλληλεπίδρασης έτσι με το ενδοθήλιο μέσω των χημειοκινών PF4 και MIF. Τα ανωτέρω απεικονίζονται στο σχήμα 6.



Σχήμα 6. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στην έναρξη της αθηροσκλήρωσης.

Συνοπτικά τα αιμοπετάλια συμβάλλουν στην εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης με εναπόθεση χημειοκινών, στρατολόγηση λευκοκυττάρων, με την ικανότητα να μεταφράζουν και να τροποποιούν το mRNA προωθώντας τη φλεγμονή και την ενδοθηλιακή πόλωση. Επιπλέον, η αλληλεπίδραση με δενδριτικά κύτταρα που παρουσιάζουν αντιγόνο μπορεί να συμβάλει στην πρόοδο της αθηρωματικής διαδικασίας. Επιπρόσθετα, μια από τις πιο γνωστές λειτουργίες των αιμοπεταλίων στην αθηροσκλήρωση είναι η έκφραση υποδοχέων του συμπληρώματος που έχουν σημασία για τη λειτουργία των αιμοπεταλίων. Πληθώρα συστατικών του συμπληρώματος μπορούν να δεσμεύονται στην επιφάνεια των αιμοπεταλίων. Ιδιαίτερη σημασία έχει η έκφραση των υποδοχέων του συμπληρώματος στα αιμοπετάλια που συσχετίζεται θετικά με δείκτες ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων, όπως η P-σελεκτίνη σε ασθενείς με αθηροσκλήρωση. Υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί

πως τα αιμοπετάλια επηρεάζουν στη συνέχεια τη ρήξη της πλάκας. Αρχικά είναι γνωστό ότι τα αιμοπετάλια ρυθμίζουν την αγγειογένεση, η οποία αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για τη σταθερότητα πλάκας. Τα αιμοπετάλια έχουν επίσης βρεθεί να προάγουν τη στρατολόγηση των προγονικών μορφών των λείων μυϊκών κυττάρων (SMC) μέσω σηματοδότησης CXCR4-SDF-1α. Τα SMC είναι υπεύθυνα για τη δημιουργία εξωκυττάριας μήτρας σταθεροποίησης της ινώδους κάψας της πλάκας (Σχήμα 7). Δεν θα πρέπει να αμεληθεί επίσης ότι ένζυμα των αιμοπεταλίων αποικοδομούν τη θεμέλια ουσία και σχηματίζουν ρωγμές στην ινώδη κάψα της αθηρωματικής πλάκας, κάνοντας την πλάκα πιο επιρρεπή στη ρήξη. Η διάβρωση της κάψας της αθηρωματικής πλάκας έχει ως αποτέλεσμα την επαφή των αιμοπεταλίων με το θρομβογόνο υλικό της πλάκας. Η αρχική αυτή επαφή οδηγεί σε προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο σημείο της ρήξης, στην ενεργοποίησή τους και στην έκκριση πληθώρας παραγόντων και κυτοκινών. Έτσι σχηματίζεται ο αιμοπεταλιακός θρόμβος και προκαλείται ΟΣΣ.

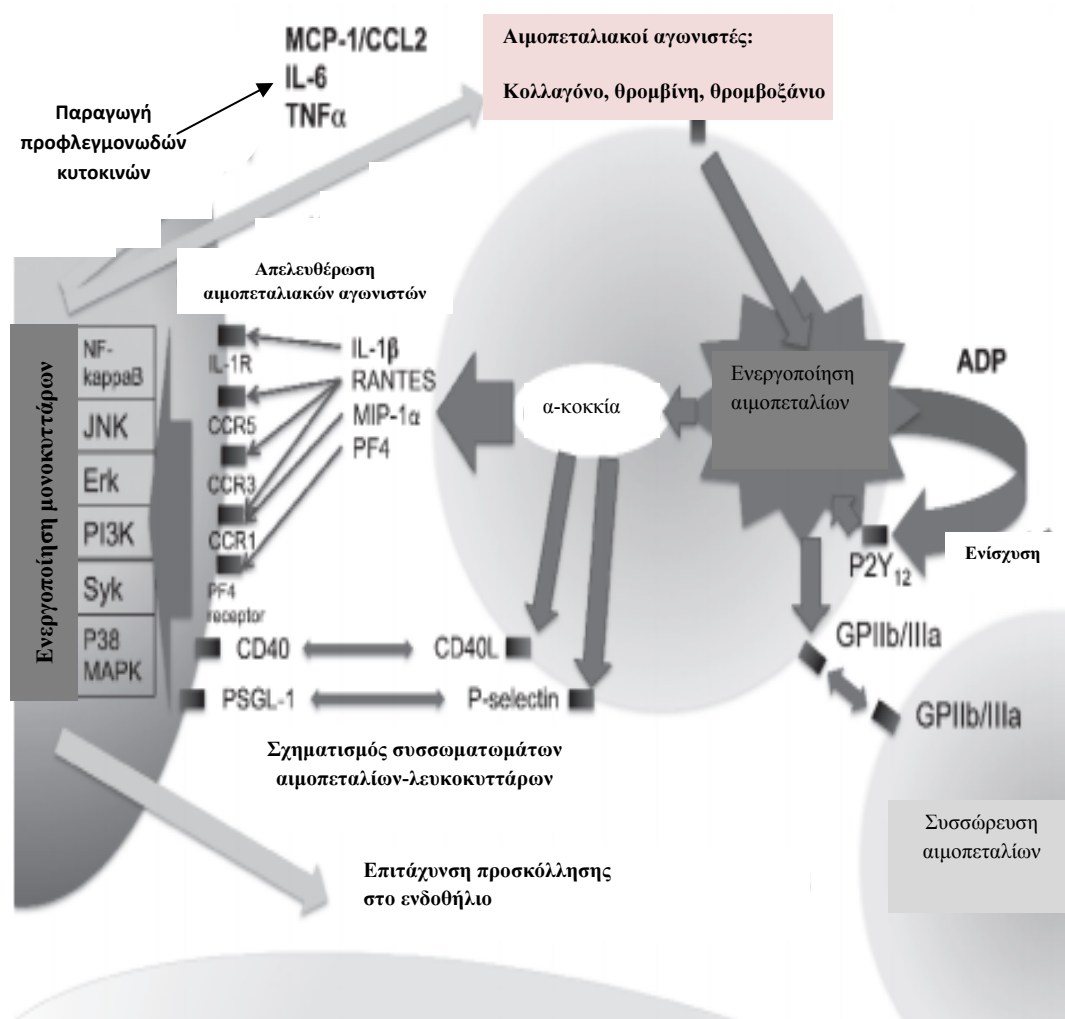


Σχήμα 7. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στη ρήξη της αθηρωματικής πλάκας.

### γ) Φλεγμονή

Τα αιμοπετάλια όταν ενεργοποιούνται είτε σχηματίζουν συσσωματώματα με τα λευκοκύτταρα και αλληλεπιδρούν με τα ενδοθηλιακά κύτταρα είτε προσκολλώνται στο ενδοθήλιο και στη συνέχεια προσελκύουν τα λευκοκύτταρα στο ενδοθήλιο. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές διαμεσολαβούνται από προφλεγμονώδεις παράγοντες όπως είναι τα μόρια προσκόλλησης. Η πρόσδεση της αιμοπεταλιακής Ρ-σελεκτίνης στον υποδοχέα PSGL-1 των μονοκυττάρων επάγει την ενεργοποίηση των β1 και β2 ιντεγκρινών. Τα αιμοπετάλια αλληλεπιδρούν επίσης με τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Μετά την ενεργοποίησή τους, τα αιμοπετάλια εκφράζουν στην επιφάνειά τους το CD40L, που συνεισφέρει στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο ρυθμίζοντας την έκφραση της MCP-1, της E-σελεκτίνης, του VCAM-1 και του ICAM-1. Τα προαναφερθέντα μόρια συνδράμουν στην προσκόλληση των μονοκυττάρων και των λεμφοκυττάρων στο αρτηριακό τοίχωμα. Επιπλέον η χημειοκίνη PF4, που εκκρίνεται από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια, διευκολύνει τη στρατολόγηση των ουδετερόφιλων και των μονοκυττάρων στις

αθηρωματικές πλάκες. Παράλληλα στη στρατολόγηση των ουδετερόφιλων και των μονοκυττάρων στο ενεργοποιημένο ενδοθήλιο και στην προσκόλληση των αιμοπεταλίων στο ενδοθήλιο παρουσία ενεργοποιημένων μονοκυττάρων και ουδετεροφίλων συνεισφέρει και ο παράγοντας PAF που συντίθεται και εκφράζεται στην κυτταρική μεμβράνη ή εκκρίνεται από τα αιμοπετάλια, τα λευκοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στη φλεγμονή απεικονίζεται στο Σχήμα 8.



Σχήμα 8. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στη φλεγμονή.

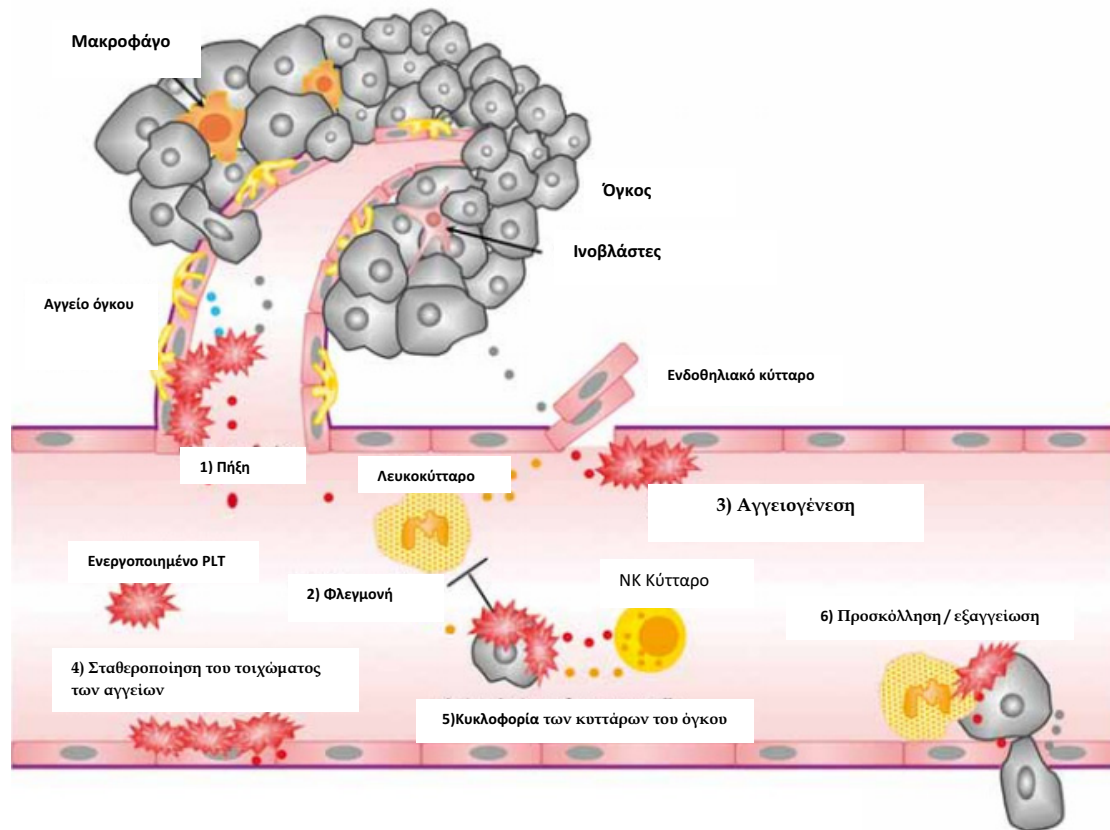


### δ) Αγγειογένεση

Τα αιμοπετάλια εκκρίνουν μεγάλο αριθμό παραγόντων που ευνοούν την αγγειογένεση καθώς και παράγοντες που αναστέλλουν την αγγειογένεση [3-7]. Στους παράγοντες που διεγείρουν την αγγειογένεση συγκαταλέγονται οι: VEGF, PDGF, FGF, EGF, HGF, IGF και ο TGF-β. Στους παράγοντες που αναστέλλουν τη αγγειογένεση συμπεριλαμβάνονται: η TSP-1, η αγγειοστατίνη, η ενδοστατίνη και οι TIMPs 1 και 4. Η ρύθμιση και η έκκριση των παραπάνω παραγόντων κατά την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων εξαρτώνται από ειδικούς υποδοχείς, όπως οι υποδοχείς PARs. Ο PAR-1 και ο PAR-4 είναι διαμεμβρανικοί υποδοχείς που ενεργοποιούνται από πρωτεάσες, εκφράζονται στην επιφάνεια των ανθρωπίνων αιμοπεταλίων και ενεργοποιούνται από τη θρομβίνη. Η διέγερση των ανθρωπίνων αιμοπεταλίων με τον αγωνιστή του PAR-1 οδηγεί σε αύξηση της έκκρισης του VEGF και μείωση της ενδοστατίνης. Αντίθετα η ενεργοποίηση του PAR-4 έχει ως αποτέλεσμα την έκφραση της ενδοστατίνης. Υπάρχουν διάφορα στάδια στη ρύθμιση της αγγειογένεσης ενός όγκου και της εξέλιξής του (Σχήμα 9):

- 1) Πήξη: Ερέθισμα για την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων έρχεται από τα ενδοθηλιακά κύτταρα όπως και από το στρώμα του όγκου (έκφραση θρομβίνης, ADP κτλ). Μετά την ενεργοποίηση τα αιμοπετάλια αλλάζουν το σχήμα τους, απελευθερώνουν μικροσωματίδια, α και πυκνά κοκκία και διεγείρουν τον καταρράκτη της πήξης.
- 2) Φλεγμονή: Χημειοκίνες (IL-8, ισταμίνη κλπ) που απελευθερώνονται από τα αιμοπετάλια είναι χημειοτακτικές για τα λευκοκύτταρα και τα πρόδρομα κύτταρα από το μυελό των οστών. Αυτά τα κύτταρα ρυθμίζουν επίσης το περιβάλλον του όγκου μέσω της απελευθέρωσης και ανάπτυξης αγγειογενετικών παραγόντων.
- 3) Η αγγειογένεση: Τα αιμοπετάλια συμμετέχουν επίσης στη ρύθμιση της αγγειογένεσης με την απελευθέρωση προ- και αντι-αγγειογενετικούς παράγοντες (VEGF, bFGF, PF-4, κλπ), καθώς και από την ενεργό απομόνωση των παραγόντων από την κυκλοφορία.

- 4) Σταθεροποίηση του τοιχώματος των αγγείων: Τα αιμοπετάλια σταθεροποιούν το τοίχωμα των αγγείων και διατηρούν μεσοκυττάρια συνδέσεις με την απελευθέρωση παραγόντων (όπως EGF, S1P, Ang-1, κλπ.) για την πρόληψη αιμορραγίας στη θέση της αγγειογένεσης και φλεγμονής.
- 5) Κυκλοφορία των κυττάρων του όγκου: Αιμοπετάλια προσκολλημένα σε κύτταρα όγκου προστατεύονται από την ανοσολογική αναγνώριση και τα κυτταροτοξικά αποτελέσματα των κυτοκινών κυττάρων natural killer (NK), και έτσι διευκολύνεται η επιβίωση, η κυκλοφορία και η μετανάστευση σε απομακρυσμένα μέρη του σώματος.
- 6) Προσκόλληση / εξαγγείωση: Μίγμα αιμοπεταλίων, λευκοκυττάρων και καρκινικών κυττάρων διευκολύνουν την προσκόλληση των καρκινικών κυττάρων στο ενδοθήλιο και την επακόλουθη εξαγγείωση σε μακρινούς ιστούς. Τα αιμοπετάλια απελευθερώνουν επίσης παράγοντες (π.χ. VEGF) που προωθούν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την αύξηση της διαπερατότητας του αγγειακού τοιχώματος.



Σχήμα 9. Ο ρόλος των αιμοπεταλίων στη ρύθμιση της αγγειογένεσης και στην εξέλιξη ενός καρκινικού όγκου. Συντομογραφίες: PLT-αιμοπετάλιο, NK -Natural killer.



## 2. Αντιαιμοπεταλιακά φάρμακα

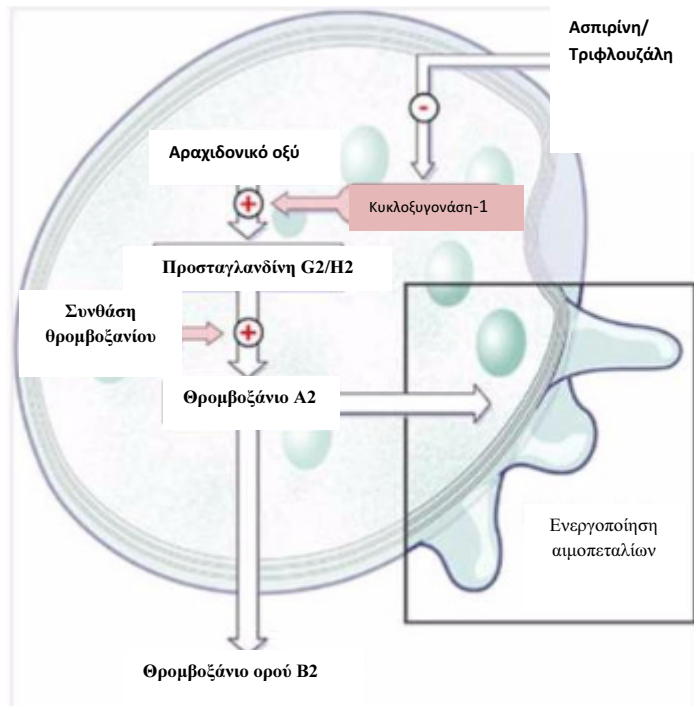
### 2.1 Αναστολείς της κυκλοξυγονάσης-1

#### α) Ασπιρίνη

Η ασπιρίνη (ακετυλοσαλικυλικό οξύ) δρα αναστέλλοντας μη αναστρέψιμα την κυκλοξυγονάση-1 (COX-1) ακετυλιώνοντας την υδροξυλομάδα της σερίνης 529 που υπάρχει στο καταλυτικό της κέντρο. Μέσω της αναστολής της COX-1 η ασπιρίνη συντελεί στην αναστολή της σύνθεσης του προθρομβωτικού TxA<sub>2</sub>, το οποίο παίζει σημαντικό ρόλο όπως περιγράφηκε παραπάνω για την ενεργοποίηση των αιμοπεταλίων. Η αναστολή της COX-1 είναι υπεύθυνη τόσο για το όφελος στις καρδιαγγειακές παθήσεις, όσο και για τις ανεπιθύμητες αιμορραγίες από το ΓΕΣ. Επιπρόσθετα η ασπιρίνη σε υψηλές συγκεντρώσεις αποτελεί ισχυρό αναστολέα της ισομορφής κυκλοξυγονάσης-2 (COX-2) που συμμετέχει στην παραγωγή των προσταγλανδινών και παίζει ρόλο στη φλεγμονώδη απάντηση. Συνοπτικά ο μηχανισμός δράσης της ασπιρίνης απεικονίζεται στο σχήμα 10.

#### β) Τριφλουζάλη

Έχοντας δομικές ομοιότητες με το ακετυλοσαλικυλικό οξύ η τριφλουζάλη δρα αναστέλλοντας την COX-1 των αιμοπεταλίων και έτσι την παραγωγή του TxA<sub>2</sub> (Σχήμα 10). Επίσης, η τριφλουζάλη αναστέλλει τη φωσφοδιεστεράση των αιμοπεταλίων, αυξάνοντας έτσι τα επίπεδα των c-AMP και c-GMP που έχουν ισχυρή αντιαιμοπεταλιακή δράση.

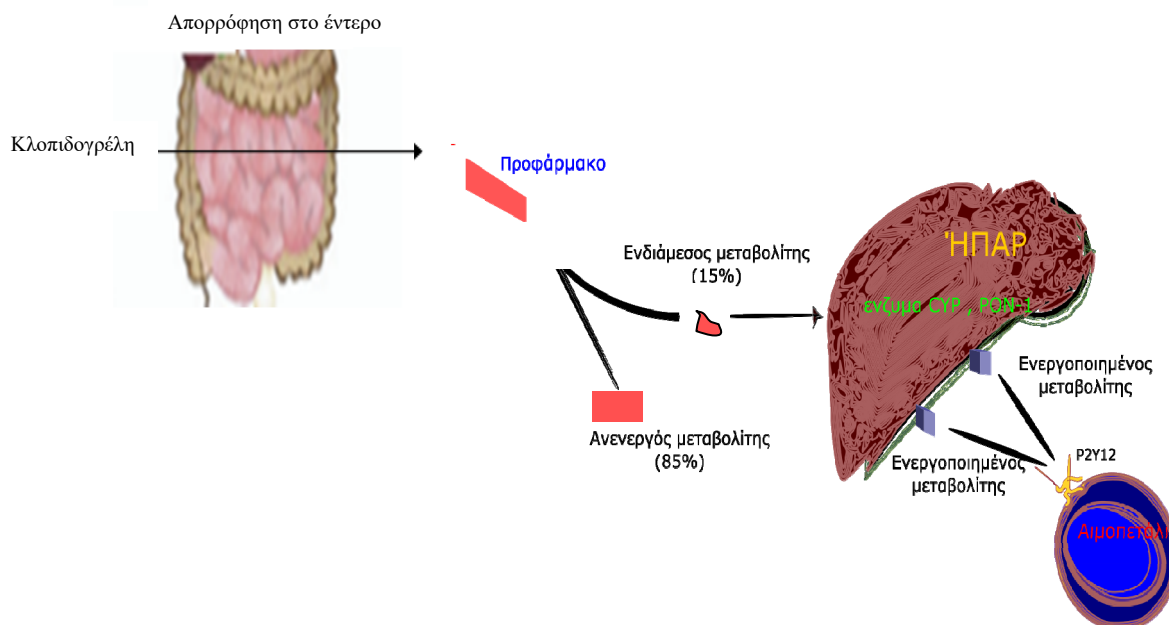


Σχήμα 10. Ο μηχανισμός δράσης της ασπιρίνης και τριφλουζάλης

## 2.2 Ανταγωνιστές του υποδοχέα P2Y12 του ADP

### a) Κλοπιδογρέλη

Η κλοπιδογρέλη ανήκει στις θειενοπυριδίνες και είναι ένα προ-φάρμακο που χορηγείται από το στόμα. Περίπου το 85% του προ-φαρμάκου υδρολύεται από εστεράσες στο αίμα σε ένα παράγωγο ανενεργού καρβοξυλικού οξέος, και μόνο το 15% του προ-φαρμάκου μεταβολίζεται από το σύστημα του κυτοχρώματος P450 στο ήπαρ για να παράγει ένα δραστικό μεταβολίτη. Ο μηχανισμός ενεργοποίησης της κλοπιδογρέλης απεικονίζεται στο σχήμα 11.

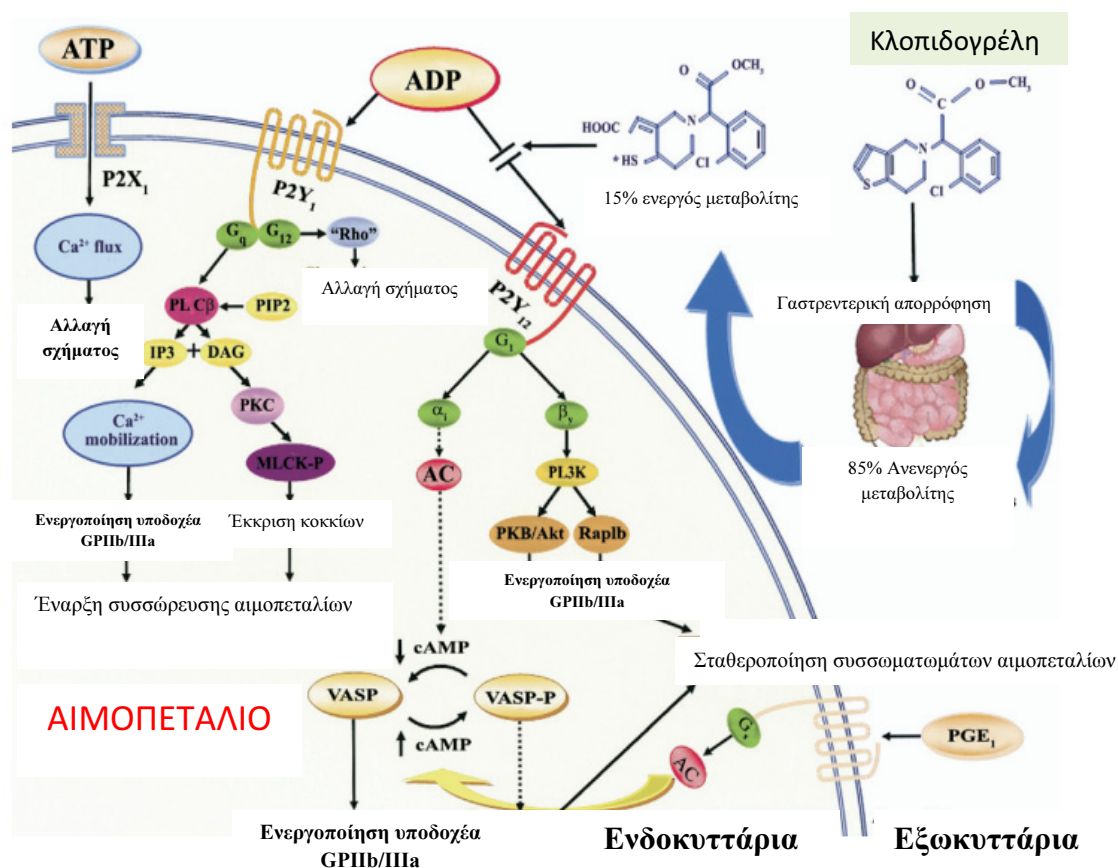


Σχήμα 11. Ο μηχανισμός ενεργοποίησης της κλοπιδογρέλης.

Ο ενεργός μεταβολίτης της κλοπιδογρέλης που μεταβολίζεται μέσω των ισοενζύμων CYP3A4 και CYP2C19 του κυτοχρώματος P450 στο ήπαρ, αναστέλλει μη αναστρέψιμα το ADP των υποδοχέων P2Y<sub>12</sub>. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως το ADP που απελευθερώνεται από τα αιμοπετάλια κατά την ενεργοποίησή τους, αλληλεπιδρά με δύο υποδοχείς της μεμβράνης του αιμοπεταλίου (P2Y<sub>1</sub>, P2Y<sub>12</sub>), οι οποίοι δρουν μέσω διαφορετικών ενδοκυτταρικών σημάτων. Η ενεργοποίηση του P2Y<sub>1</sub> επάγει αλλαγές στη μορφή του αιμοπεταλίου και δίνει το έναυσμα της ενεργοποίησης των υποδοχέων GPIIb/IIIa, ενώ ο P2Y<sub>12</sub> παρατείνει την ενεργοποίηση αυτή κι έχει καθοριστικό ρόλο στην σταθεροποίηση των συσσωματωμάτων των αιμοπεταλίων. Η ενεργοποίηση των P2X<sub>1</sub> και P2Y<sub>1</sub> υποδοχέων οδηγεί σε αλλαγή στο σχήμα και ξεκινά μια αδύναμη και παροδική φάση συσσώρευσης αιμοπεταλίων. Ο P2X<sub>1</sub> μεσολαβεί στην εξωκυτταρική εισροή ασβεστίου και χρησιμοποιεί ATP ως αγωνιστή. Η σύνδεση του ADP με την Gq-συζευγμένο υποδοχέα P2Y<sub>1</sub> οδηγεί στην ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C (PLC), η οποία παράγει διακυλογλυκερόλη (DAG) και τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP3) από διφωσφορική φωσφατιδυλινοσιτόλη (PIP2). Η διακυλογλυκερόλη

ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση C (PKC) που οδηγεί σε φωσφορυλίωση της μυοσίνης ελαφριάς αλυσίδας κινάσης (MLCK-P). Η IP<sub>3</sub> οδηγεί σε κινητοποίηση του ενδοκυτταρικού ασβεστίου. Ο P<sub>2</sub>Y<sub>1</sub> υποδοχέας επίσης ενώνεται και με μια άλλη πρωτεΐνη G, την G<sub>12</sub>, η οποία ενεργοποιεί την πρωτεΐνη 'Rho' και οδηγεί σε μεταβολή του σχήματος των αιμοπεταλίων. Η δέσμευση του ADP με την G<sub>i</sub> συζευγμένου υποδοχέα P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> απελευθερώνει τις πρωτεϊνικές υπομονάδες G<sub>i</sub> α<sub>i</sub> και β<sub>γ</sub> και οδηγεί στη σταθεροποίηση των συσσωματωμάτων των αιμοπεταλίων. Η υπομονάδα α<sub>i</sub> οδηγεί σε αναστολή της αδενυλικής κυκλάσης (AC), η οποία μειώνει τα επίπεδα της κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP) επίπεδα. Αυτό, με τη σειρά του, μειώνει τη μεσολαβούμενη μέσω cAMP φωσφορυλίωσης της VASP σε VASP-P. Η ιδιότητα της VASP-P είναι να ρυθμίζει την ενεργοποίηση του υποδοχέα GP IIb/IIIa. Η υπομονάδα β<sub>i</sub> ενεργοποιεί την φωσφατιδυλινοσιτόλη 3-κινάση (PI3K), η οποία οδηγεί σε ενεργοποίηση του υποδοχέα GP IIb/IIIa μέσω ενεργοποίησης μιας σερίνης-θρεονίνης πρωτεΐνης κινάσης B (PKB / Akt) και δεσμευτικών πρωτεϊνών Rap1b GTP. Η προσταγλανδίνη E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>) ενεργοποιεί την AC, η οποία αυξάνει τα επίπεδα της cAMP και τη συγκέντρωση της VASP-P. Με αυτό το μηχανισμό ο ανταγωνισμός του υποδοχέα P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> μέσω της κλοπιδογρέλης δεν θα αναστείλει μόνο την συσσώρευση των αιμοπεταλίων, αλλά θα προκαλέσει και αποδιοργάνωση των ήδη σχηματισμένων συσσωματωμάτων των αιμοπεταλίων [8]. Στο σχήμα 12 απεικονίζεται η προαναφερθείσα πολύπλοκη διαδικασία.





Σχήμα 12. Ο μηχανισμός δράσης της κλοπιδογρέλης.

Βέλη με συνεχή γραμμή= ενεργοποίηση, βέλη με διακεκομμένη γραμμή= αναστολή.

Η κλοπιδογρέλη προκαλεί δόσο- και χρονο- εξαρτώμενη αναστολή της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων. Χορήγηση της συνήθους δόσης 75 mg την ημέρα προκαλεί μέγιστη αναστολή της επαγόμενης από το ADP συσσώρευσης των αιμοπεταλίων με τη συμπλήρωση 24 ωρών από την πρώτη δόση [9]. Χορήγηση δόσης φόρτισης 300 mg επιταχύνει την επίτευξη του σχεδόν μέγιστου αντιαιμοπεταλιακού αποτελέσματος στις 6 ώρες [10-11], ενώ το πλήρες αντιαιμοπεταλιακό αποτέλεσμα από τη χορήγηση της δόσης φόρτισης των 600 mg επιτυγχάνεται στις 2 ώρες [12]. Δόσεις φόρτισης κλοπιδογρέλης μεγαλύτερες των 600 mg δεν προκαλούν περαιτέρω ενίσχυση της αντιαιμοπεταλιακής της δράσης [13-14]. Η δράση της κλοπιδογρέλης είναι μη αντιστρεπτή κι επομένως απαιτείται διακοπή της τουλάχιστον 5 ημέρες πριν από μείζονες χειρουργικές επεμβάσεις για την αποφυγή αιμορραγικών συμβαμάτων, χρονικό διάστημα απαραίτητο για την παραγωγή νέων

αιμοπεταλίων και ανανέωσή τους σε ποσοστό τουλάχιστον 50% [15-17]. Η κλινική αποτελεσματικότητα από την προσθήκη κλοπιδογρέλης στη θεραπεία με ασπιρίνη (διπλή αντιαιμοπεταλιακή αγωγή) στα οξέα στεφανιαία σύνδρομα αλλά και στους ασθενείς που υποβάλλονται σε αγγειοπλαστική (στα πλαίσια ΟΣΣ ή χρόνιας στεφανιαίας νόσου) έχει δειχθεί με μια σειρά μελετών [18-22].

Στον ασθενή που διαγιγνώσκεται STEMI και πρόκειται να υποβληθεί σε πρωτογενή PCI η χορήγηση διπλής αντιαιμοπεταλιακής αγωγής με δόση φόρτισης 150-325 mg ασπιρίνης και τουλάχιστον 300mg, αλλά κατά προτίμηση 600mg κλοπιδογρέλης, αποτελεί την καθιερωμένη πρακτική την τελευταία δεκαετία και μάλιστα με ένδειξη Class I ακόμη και από τις κατευθυντήριες οδηγίες του 2008 της Ευρωπαϊκής Καρδιολογικής Εταιρίας για το STEMI [23].

### *β) Πρασουγρέλη*

Η πρασουγρέλη είναι τρίτης γενιάς θειενοपुरιδίνη και είναι επίσης προ-φάρμακο. Σε δόση 60 mg φόρτισης και 10 mg / ημέρα δόση συντήρησης έχει ταχύτερη έναρξη και πιο ισχυρή ανασταλτική δράση από την κλοπιδογρέλη. Η πρασουγρέλη αρχικά υφίσταται μια ταχεία υδρόλυση από εστεράσες σε ανενεργή θειολακτόνη η οποία κατόπιν μεταβολίζεται στον ενεργό μεταβολίτη μέσω του κυτοχρώματος P450. Στην μετατροπή αυτή ενέχονται κυρίως τα ένζυμα CYP3A4/5 και CYP2B6 και λιγότερο το CYP2C19 και το CYP2C9 [24]. Ο ενεργός μεταβολίτης της πρασουγρέλης επιτυγχάνει την μέγιστη συγκέντρωσή του στο πλάσμα σε 30 λεπτά [25]. Η μετατροπή της πρασουγρέλης σε ενεργό μεταβολίτη φαίνεται να είναι εφικτή με οποιοδήποτε από τα προηγούμενα 4 ένζυμα. Συνεπώς παράγοντες που μπορεί να οδηγήσουν στη μείωση της δραστηριότητας ενός CYP ενζύμου, αν και μπορεί να προκαλέσουν μείωση της παραγωγής του ενεργού μεταβολίτη της κλοπιδογρέλης, δεν θα επηρεάσουν τον σχηματισμό του ενεργού μεταβολίτη της πρασουγρέλης [26]. Όπως συμβαίνει και με την κλοπιδογρέλη, ο ενεργός

μεταβολίτης της πρασουγρέλης προκαλεί μη αντιστρεπτή αναστολή της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων από το ADP καθώς συνδέεται ομοιοπολικά με τον υποδοχέα P<sub>2</sub>Y<sub>12</sub> του ADP. Σε αντίθεση με την κλοπιδογρέλη, η ενεργοποίηση της πρασουγρέλης στο ήπαρ δεν επηρεάζεται από γονιδιακούς πολυμορφισμούς και έτσι σπάνια εμφανίζεται το φαινόμενο της αντίστασης [27]. Η πρασουγρέλη μελετήθηκε και συγκρίθηκε ενάντια στη δόση συντήρησης 300 mg φόρτισης και 75 mg / ημέρα κλοπιδογρέλης στη μελέτη TRITON-TIMI 38, στην οποία ασθενείς με ΟΣΣ (STEMI και NSTEMI) είχαν προγραμματιστεί για PCI και έλαβαν τα φάρμακα κατά τη διάρκεια ή μετά την αγγειοπλαστική [28]. Στους 10.074 ασθενείς με NSTEMI τα επαναλαμβανόμενα καρδιαγγειακά συμβάντα ήταν μειωμένα σε ασθενείς που έλαβαν πρασουγρέλη για 15 μήνες παρακολούθησης [από 11.2% σε 9.3%; σχετικός κίνδυνος (RR) 0.82 (95% CI 0.73-0.93), p=0.002]. Παρατηρήθηκε επίσης σημαντική μείωση του ποσοστού OEM [από 9.2% σε 7.1%; RRR 23.9% (95% CI 12.7-33.7), p <0.001]. Σοβαρές αιμορραγικές επιπλοκές ήταν πιο συχνές με πρασουγρέλη [μη σχετιζόμενη με CABG μείζων αιμορραγία κατά TIMI 2.4% έναντι 1.8% αναλογία κινδύνου (HR) 1.40 (95% CI 1.05-1.88), p=0.02], λόγω της αύξησης στις αυτόματες αιμορραγίες [1.6% έναντι 1.1%; HR 1.51 (95% CI 1.09-2.08), p=0.01] και θανατηφόρες αιμορραγίες [0.4% έναντι 0.1%; HR 4.19 (95% CI 1.58-11.11), p=0.002]. Τα αιμορραγικά επεισόδια αυξήθηκαν περισσότερο από τέσσερις φορές σε ασθενείς υπό αγωγή που παραπέμφθηκαν νωρίς για CABG. Με βάση την αισθητή μείωση των επιβεβαιωμένων ή πιθανών θρομβώσεων των stents που παρατηρήθηκε στην TRITON-TIMI 38 συνολικά [1.13% στο σκέλος πρασουγρέλης έναντι 2.35% στο σκέλος της κλοπιδογρέλης; HR 0.48 (95% CI 0.36-0.64), p<0.0001] και πιο ειδικά σε ασθενείς με DES [0.84% έναντι 2.31%, αντίστοιχα; HR 0.36 (95% CI 0.22-0.58), p<0.0001], η πρασουγρέλη θα πρέπει να χορηγείται σε ασθενείς οι οποίοι παρουσιάζουν θρόμβωση stent, παρά τη συμμόρφωση στη θεραπεία με κλοπιδογρέλη. Η πρασουγρέλη αντενδείκνυται σε ασθενείς με προηγούμενο ΑΕΕ / ΤΙΑ λόγω των επιβλαβών συνεπειών της σε αυτούς τους ασθενείς στη μελέτη TRITON-TIMI 38. Επιπλέον, η μελέτη αυτή δεν έδειξε κανένα εμφανές

όφελος σε ασθενείς ηλικίας > 75 ετών ή με χαμηλό σωματικό βάρος (<60 kg) και έτσι δεν συνιστάται η χρήση της πρασουγρέλης στους ασθενείς αυτούς.

### γ) Τικαγρελόρη

Η τικαγρελόρη είναι ένας νέος, ισχυρός, εκλεκτικός, αντιστρεπτός (σε αντίθεση με τις θειενοπυριδίνες) αναστολέας του υποδοχέα P2Y<sub>12</sub> του ADP. Η τικαγρελόρη καθώς χορηγείται από το στόμα σε ενεργό μορφή, απορροφάται γρήγορα από το γαστρεντερικό σωλήνα, συνδέεται άμεσα με τον αιμοπεταλιακό υποδοχέα και δεν χρειάζεται προηγούμενη ενεργοποίηση. Αφού αποικοδομηθεί στο ήπαρ με τη δράση των ισομορφών του CYP450, CYP3A4/5, απεκκρίνεται μέσω της χοληφόρου οδού. Έτσι ο χρόνος ημιζωής της είναι 6-8h. Η αποικοδόμηση της τικαγρελόρης οδηγεί στην παραγωγή ενεργών και αδρανών μεταβολιτών και συμβάλει κατά 30-40% στη συνολική αντιαιμοπεταλιακή δράση της τικαγρελόρης. Η τικαγρελόρη αυξάνει τα επίπεδα των φαρμάκων που μεταβολίζονται μέσω του CYP3A, όπως η σιμβαστατίνη, ενώ μέτριας ισχύος αναστολείς του CYP3A, όπως η διλτιαζέμη, αυξάνουν τα επίπεδα της τικαγρελόρης στο πλάσμα και μπορεί να καθυστερήσουν την αποτελεσματικότητά της. Η βασική κλινική μελέτη που καθιέρωσε την τικαγρελόρη στη φαρέτρα των σύγχρονων αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων ήταν η μελέτη PLATO που περιλάμβανε 18.624 ασθενείς με ΟΣΣ με μέτριας έως υψηλής επικινδυνότητας NSTEMI (που προγραμματίζονταν είτε για συντηρητική αντιμετώπιση είτε για PCI) ή STEMI και οι οποίοι τυχαιοποιήθηκαν είτε σε κλοπιδογρέλη με δόση φόρτισης 300-600 mg και δόση συντήρησης 75 mg / ημέρα είτε σε τικαγρελόρη 180 mg δόση φόρτισης ακολουθούμενη από 90 mg δύο φορές την ημέρα. Οι ασθενείς που υποβάλλονταν σε PCI έλαβαν μια επιπλέον δόση 300 mg φόρτισης κλοπιδογρέλης (συνολική δόση φόρτισης 600 mg) ή εικονικό φάρμακο [29]. Η θεραπεία συνεχίστηκε για 12 μήνες, με μέση διάρκεια έκθεσης στο φάρμακο τους 9 μήνες. Στην υποομάδα NSTEMI (n = 11.080), το πρωταρχικό σύνθετο τελικό σημείο αποτελεσματικότητας (θάνατος από έμφραγμα μυοκαρδίου ή ΑΕΕ) ήταν μειωμένο σημαντικά στην ομάδα της τικαγρελόρης σε σύγκριση με

την κλοπιδογρέλη [10.0% έναντι 12.3%; HR 0.83 (95% CI 0.74-0.93),  $p=0.0013$ ] με παρόμοιες μειώσεις για τα ποσοστά καρδιαγγειακού θανάτου [3.7% έναντι 4.9%; HR 0.77 (95% CI 0.64-0.93),  $p=0.0070$ ] και θανάτου από κάθε αιτία [4.3% έναντι 5.8%; HR 0.76 (95% CI 0.64-0.90),  $p=0.0020$ ] Οι διαφορές στις συχνότητες των αιμορραγιών ήταν επίσης παρόμοιες στην υποομάδα NSTEMI σε σύγκριση με τη συνολική μελέτη, με αυξημένο κίνδυνο μειζόνων αιμορραγιών με την τικαγρελόρη σε σύγκριση με την κλοπιδογρέλη σε ασθενείς που υποβάλλονταν σε CABG [4.8% έναντι 3.8%; HR 1.28 (95% CI 1.05-1.56),  $p=0.0139$ ], αλλά καμία διαφορά σε απειλητικές για τη ζωή ή θανατηφόρες αιμορραγίες. Αντίστοιχα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και για τους ασθενείς με STEMI. Τα οφέλη της τικαγρελόρης σε σύγκριση με την κλοπιδογρέλη σε NSTEMI ήταν ανεξάρτητα από το αν η επαναγγείωση έγινε τις πρώτες 10 ημέρες ή αργότερα μετά από την τυχαιοποίηση. Εκτός από την αύξηση των ποσοστών των ήσσονος σημασίας ή μη σχετιζόμενων με CABG αιμορραγιών με τικαγρελόρη, στις ανεπιθύμητες ενέργειες περιλαμβάνονταν η δύσπνοια (χωρίς βρογχόσπασμο), η αύξηση της συχνότητας των ασυμπτωματικών κοιλιακών παύσεων και η αύξηση του ουρικού οξέος.

#### δ) Καγκρελόρη

Η καγκρελόρη είναι ένα τριφωσφορικό ανάλογο της αδενοσίνης που αναστέλλει άμεσα και αντιστρεπτά τον υποδοχέα P2Y<sub>12</sub> του ADP. Χορηγείται ενδοφλέβια, έχει ταχεία έναρξη δράσης μερικών δευτερολέπτων και βραχύ χρόνο ημιζωής λιγότερο από 10 min. Η δράση της καγκρελόρης μπορεί να αναστραφεί 60 min μετά τη διακοπή της έγχυσης του φαρμάκου. Η καγκρελόρη αφού συνδεθεί με τον υποδοχέα P2Y<sub>12</sub> απενεργοποιείται από μία ADPάση που βρίσκεται στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων των αγγείων. Η καγκρελόρη σε δόση 30 μg / kg bolus και 4 μg / kg / min έγχυση που χορηγήθηκε κατά την έναρξη της PCI έχει εξεταστεί σε τρεις κλινικές μελέτες στις οποίες συμμετείχαν συνολικά 24.910 ασθενείς: η μία με την κλοπιδογρέλη (600 mg) που δόθηκε στην αρχή της PCI [η καγκρελόρη έναντι της καθιερωμένης θεραπείας για να επιτευχθεί η βέλτιστη διαχείριση στην

αναστολή των αιμοπεταλίων (CHAMPION-PCI)], μια με την κλοπιδογρέλη (600 mg) που ξεκίνησε στο τέλος της PCI (CHAMPION-PLATFORM), και μια με την κλοπιδογρέλη (300 ή 600 mg) που ξεκίνησε είτε πριν είτε μετά την PCI (CHAMPION-PHOENIX) σε ασθενείς χωρίς προηγούμενη χορήγηση P2Y<sub>12</sub> ή IIb / IIIa αναστολέα [30-32]. Σε μετα-ανάλυση αυτών των μελετών, στις οποίες το 69% των ασθενών υποβάλλονταν σε PCI για ACS, παρατηρήθηκε μείωση του RR 19% σε θάνατο περιεπεμβατικά, έμφραγμα μυοκαρδίου, ισχαιμία με γνώμονα την επαναγγείωση και θρόμβωση του stent [καγκρελόρη 3.8% έναντι κλοπιδογρέλης 4.7%; OR 0.81 (95% CI 0.71-0.91), p=0.007], με RR 39% μόνο της θρόμβωσης stent [καγκρελόρη 0.5% έναντι κλοπιδογρέλης 0.8%; OR 0.61 (95% CI 0.43-0.80), p=0.008]. Ο συνδυασμός των TIMI μειζόνων και ελασσόνων αιμορραγιών αυξήθηκε [καγκρελόρη 0.9% έναντι κλοπιδογρέλης 0.6%; OR 1.38 (95% CI 1.03-1.86), p=0.007], αλλά δεν υπήρξε καμία αύξηση του ποσοστού των μεταγγίσεων [33].

### ε) Τικλοπιδίνη

Η τικλοπιδίνη ήταν η πρώτη θειενοπυριδίνη που μελετήθηκε στα οξέα στεφανιαία σύνδρομα, αλλά γρήγορα αντικαταστάθηκε από την κλοπιδογρέλη λόγω της πιο αργής έναρξης δράσης της και των συχνότερων ανεπιθύμητων ενεργειών (ουδετεροπενία, θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα, ηπατική δυσλειτουργία με διάρροια και εξάνθημα) που την κάνουν λιγότερο ασφαλή [34-35]. Η τικλοπιδίνη απορροφάται ταχέως έως και 90%, φθάνοντας τη μέγιστη συγκέντρωση στο πλάσμα σε 1-3 ώρες μετά από μια δόση 250 mg από το στόμα. Ο χρόνος ημίσειας ζωής μιας εφάπαξ δόσης είναι 24-36 ώρες ενώ μετά από συνεχή χορήγηση για 14 μέρες είναι 96 ώρες λόγω της συσσώρευσης του φαρμάκου.

### 2.3 Αναστολείς των φωσφοδιεστερασών

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν η διπυριδαμόλη και σιλοσταζόλη που αναστέλλουν τις φωσφοδιεστεράσες 3 και 5 των κυκλικών νουκλεοτιδίων c-AMP και c-GMP, αντίστοιχα, με αποτέλεσμα την αύξηση της

ενδοαίμοπεταλιακής συγκέντρωσης των νουκλεοτιδίων αυτών και έτσι την αναστολή της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων. Επιπρόσθετα, η διπυριδαμόλη αναστέλλει τη δέσμευση και μεταφορά της αδενοσίνης στα κύτταρα. Η απορρόφηση της κλασικής φαρμακοτεχνικής μορφής διπυριδαμόλης ποικίλλει, ενώ η βιοδιαθεσιμότητά της είναι χαμηλή. Ο χρόνος ημίσειας ζωής της διπυριδαμόλης είναι περίπου 10 ώρες.

#### *2.4 Αναστολείς του υποδοχέα GP IIb/IIIa*

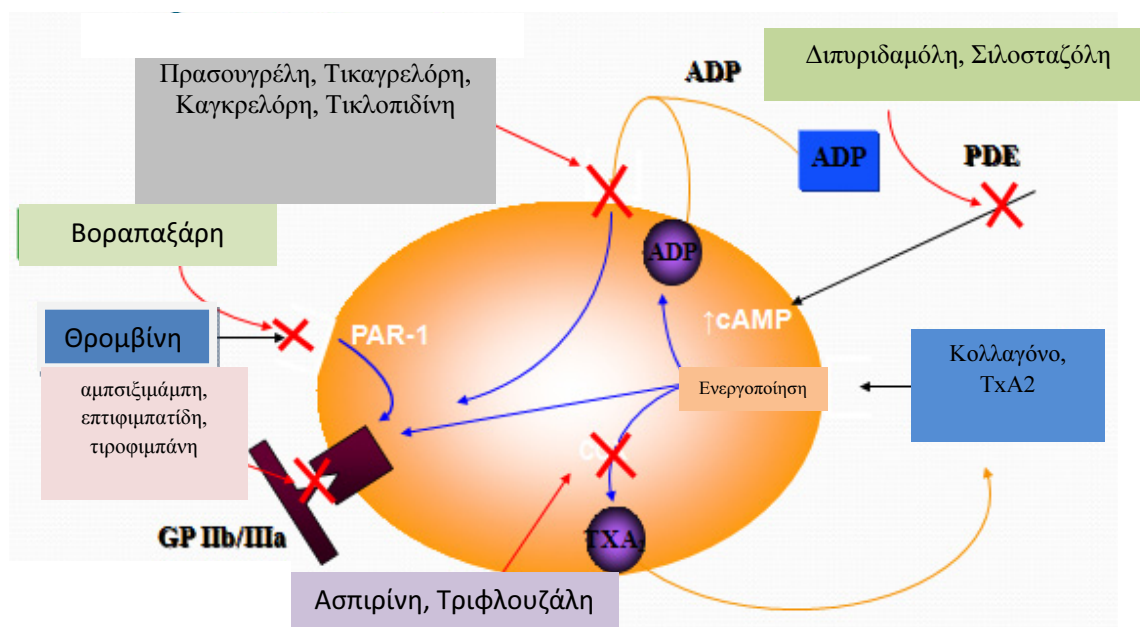
Οι αναστολείς του υποδοχέα GPIIb/IIIa (αμπσιξιμάμπη, επιφιμπατίδη, τιροφιμπάνη) αναστέλλουν την πρόσδεση του ινώδους στους υποδοχείς GPIIb/IIIa εμποδίζοντας έτσι τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων και την ενεργοποίησή τους. Η αμπσιξιμάμπη (0.125 μg/Kg/min) είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που αποδείχθηκε ότι μειώνει τις καρδιακές επιπλοκές και τους θανάτους μετά από αγγειοπλαστική. Η επιφιμπατίδη (0.75 μg/Kg/min) και η τιροφιμπάνη (0.15 μg/Kg/min) είναι μικρά μόρια που έχουν βραχύτερο χρόνο ημιζωής και αποδείχθηκαν ότι είναι αποτελεσματικά στην ασταθή στηθάγχη και στο έμφραγμα. Κύρια παρενέργεια αυτών των φαρμάκων είναι οι αιμορραγίες και για αυτό απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή σε όσους λαμβάνουν συγχρόνως και άλλα αντιαίμοπεταλιακά ή αντιπηκτικά φάρμακα.

#### *2.5 Ανταγωνιστής του υποδοχέα PAR-1 της θρομβίνης*

Η βοραπαξάρη δρα αναστέλλοντας τη θρομβίνη και έτσι τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Σε αντίθεση με τα υπόλοιπα αντιαίμοπεταλιακά φάρμακα, η βοραπαξάρη δεν επηρεάζει τη μεσολαβούμενη μέσω ADP συσσώρευση των αιμοπεταλίων. Η κύρια μελέτη της βοραπαξάρης ήταν η TRA 2P-TIMI 50 που διεξήχθη σε ασθενείς που είχαν ιστορικό εμφράγματος μυοκαρδίου, ΑΕΕ ή ΠΑΝ. Σε αυτή τη μελέτη διάρκειας τριών ετών με πάνω από 26.000 ασθενείς, η προσθήκη βοραπαξάρης στην κλασική θεραπεία (ασπιρίνη ή/και ένας ανταγωνιστής ADP, όπως η κλοπιδογρέλη) μείωσε σημαντικά τον κίνδυνο του πρωτεύοντος σύνθετου τελικού σημείου του καρδιαγγειακού θανάτου,

εμφράγματος μυοκαρδίου, ΑΕΕ ή επείγουσας PCI κατά 12% σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο μαζί με τη κλασσική θεραπεία (11.2% έναντι 12.4%,  $p = 0.001$ ). Ιδιαίτερα στους ασθενείς με ιστορικό εμφράγματος μυοκαρδίου η βοραπαξάρη μείωσε το σχετικό κίνδυνο καρδιαγγειακού θανάτου, εμφράγματος μυοκαρδίου ή ΑΕΕ κατά 20%. Στη μελέτη υπήρξε μια αύξηση στη μέτρια ή σοβαρή αιμορραγία, αλλά όχι στατιστικά σημαντική αύξηση στις θανατηφόρες αιμορραγίες [36].

Στο σχήμα 13 απεικονίζονται οι μηχανισμοί δράσης όλων των ανωτέρω αντιαιμοπεταλιακών σκευασμάτων.



Σχήμα 13. Μηχανισμοί δράσης αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων. Συντομογραφίες: ADP-Διφωσφορική αδενοσίνη, cAMP-Κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη, COX-Κυκλοξυγονάση, PAR-Υποδοχέας ενεργοποιημένης πρωτεάσης, PDE-Φωσφοδιεστεράση, TxA2-Θρομβοξάνιο A2



### *3. Κατευθυντήριες οδηγίες για τη χρήση των αντιαιμοπεταλιακών φαρμάκων*

#### *i) Ασθενείς με σταθερή ΣΝ*

Για τους ασθενείς με σταθερή ΣΝ που έχουν υποβληθεί σε PCI με τοποθέτηση stent DES, προτείνεται ασπιρίνη 75-100 mg ημερησίως συν πρασουγρέλη (10 mg ημερησίως) ή τικαγρελόρη (90 mg ανά 12ώρες) ή κλοπιδογρέλη (75 mg ημερησίως) για τουλάχιστον 6 με 12 μήνες [37-38]. Για ασθενείς επίσης με σταθερή ΣΝ που έχουν υποβληθεί σε PCI με τοποθέτηση BMS η διπλή αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία (DAPT) συνιστάται για 1 μήνα τουλάχιστον και στη συνέχεια μονή αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία με ασπιρίνη ή κλοπιδογρέλη ή πρασουγρέλη ή τικαγρελόρη. Η DAPT έως 12 μήνες συνιστάται για ασθενείς με OEM αν έχει γίνει πρωτογενής PCI ή θρομβόλυση, ενώ η DAPT συνιστάται για τουλάχιστον 1 έως 12 μήνες εάν δεν έχει εφαρμοστεί καμία μέθοδος επαναιμάτωσης.

Στους ασθενείς οι οποίοι μπορεί να είναι υποψήφιοι για λιγότερο από ένα χρόνο DAPT περιλαμβάνονται εκείνοι με σχετικά υψηλό κίνδυνο αιμορραγίας: ιστορικό ΑΕΕ / ΤΙΑ, ηλικία  $\geq 75$  ετών, προδιάθεση για αιμορραγία (π.χ. πρόσφατο τραύμα ή χειρουργική επέμβαση, πρόσφατη ή επαναλαμβανόμενη γαστρεντερική αιμορραγία, ενεργό πεπτικό έλκος, σοβαρή ηπατική ανεπάρκεια), σωματικό βάρος  $< 60$  kg, ή ταυτόχρονη χρήση φαρμάκων που αυξάνουν τον κίνδυνο [από του στόματος αντιπηκτικά ή μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ)].

Για ασθενείς που έχουν ολοκληρώσει με επιτυχία ένα έτος DAPT, μπορεί να συζητηθούν τα οφέλη και οι κίνδυνοι συνέχισης της θεραπείας. Χρησιμοποιείται κλινική κρίση, καθώς και το DAPT score για να καθοριστεί εάν η DAPT πέραν των 12 μηνών είναι λογική [39]. Για τους ασθενείς με βαθμολογία  $< 2$ , γενικά σταματάει η DAPT στους 12 μήνες. Για τους ασθενείς με βαθμολογία 2 ή μεγαλύτερη, γενικά συνεχίζεται η DAPT για επιπλέον 18

μήνες. Αυτό δεν αποκλείει την πιθανότητα ότι ορισμένες κατηγορίες ασθενών μπορούν να αποκομίσουν μεγαλύτερο όφελος [40], όπως εκείνες με :

- Πολύπλοκη PCI σε διχασμό ή τοποθέτηση stent στο στέλεχος αριστερής στεφανιαίας αρτηρίας, μεγάλου μήκους βλάβες, μοσχεύματα σαφηνούς φλέβας,
- Τοποθέτηση stent με λιγότερο βέλτιστο αποτέλεσμα (π.χ. μη ικανοποιητική έκπτυξη stent, υπολειμματική στένωση),
- Εμφύτευση παλαιότερης γενιάς DES, όπως sirolimus, paclitaxel ή νεώτερης γενιάς everolimus stent,
- Μειωμένη συστολική λειτουργικότητα της αριστερής κοιλίας,
- Πρώιμη θρόμβωση stent ή ένα καρδιαγγειακό ισχαιμικό επεισόδιο μέσα στους πρώτους 12 μήνες της DAPT,
- Σακχαρώδης διαβήτης.

#### *ii) Ασθενείς με ΑΕΕ*

Όσον αφορά τους ασθενείς αυτούς δεν συνιστάται η διπλή αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία με ασπιρίνη και κλοπιδογρέλη για την πρόληψη νέου ΑΕΕ σε μακροπρόθεσμη βάση (πέραν των 90 ημερών μετά το πρώτο ΑΕΕ). Η μελέτη MATCH, με πάνω από 7.500 ασθενείς με ΑΕΕ ή ΤΙΑ, όπου σύγκρινε το συνδυασμό ασπιρίνης και κλοπιδογρέλης έναντι μονοθεραπείας με κλοπιδογρέλη, κατέληξε στο ότι ο συνδυασμός ασπιρίνης και κλοπιδογρέλης δεν προσφέρει μεγαλύτερο όφελος για την πρόληψη του ΑΕΕ από κάθε παράγοντα ξεχωριστά, αλλά αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο αιμορραγικών επιπλοκών [41].

Επιπλέον, η μελέτη CHARISMA αξιολόγησε την ασπιρίνη με κλοπιδογρέλη έναντι ασπιρίνης σε 15.603 ασθενείς είτε με τεκμηριωμένη καρδιαγγειακή νόσο (στεφανιαία νόσο, ισχαιμικό ΑΕΕ ή ΠΑΝ) είτε, σε 21% των ασθενών, με πολλαπλούς παράγοντες αθηροθρομβωτικού κινδύνου (π.χ., διαβήτης,

υπέρταση, υπερχοληστερολαιμία, κάπνισμα, ασυμπτωματική καρωτιδική στένωση  $\geq 70\%$ ) [42]. Οι ασθενείς χωρίστηκαν τυχαία σε χαμηλή δόση ασπιρίνης (75 έως 162 mg / ημέρα) συν είτε κλοπιδογρέλη (75 mg / ημέρα) είτε εικονικό φάρμακο. Οι ακόλουθες παρατηρήσεις έγιναν μετά από χορήγηση 28 μηνών κατά μέσο όρο:

- Ο συνδυασμός ασπιρίνης και κλοπιδογρέλης δεν μειώνει τον κίνδυνο του σύνθετου κύριου τελικού σημείου (έμφραγμα μυοκαρδίου, ΑΕΕ από οποιαδήποτε αιτία ή θανάτου από καρδιαγγειακά αίτια) σε σύγκριση με την ασπιρίνη μόνη [6.8% έναντι 7.3%, RR 0.93, 95% CI 0.83 - 1.05].
- Η θεραπεία συνδυασμού συσχετίστηκε με μια σημαντική αύξηση σε μέτρια αιμορραγία (2.1% έναντι 1.3% με ασπιρίνη μόνο) και με μη σημαντική αύξηση σε σοβαρή αιμορραγία (1.7% έναντι 1.3% αντίστοιχα). Αξίζει να σημειωθεί ότι παρά την εισαγωγή νεότερων και ισχυρότερων ανταγωνιστών του υποδοχέα P2Y<sub>12</sub> στην κλινική πράξη (πρασουγρέλη και τικαγρελόρη), η κλοπιδογρέλη εξακολουθεί να έχει ένδειξη Class I στις τελευταίες ανανεωμένες οδηγίες για το STEMI του 2012 στην περίπτωση που δεν είναι διαθέσιμος κάποιος από τους νεότερους παράγοντες ή υπάρχει αντένδειξη στη χορήγησή του [37]. Κυριότερες ανεπιθύμητες ενέργειες της κλοπιδογρέλης είναι οι αιμορραγίες και η ουδετεροπενία.
- Οι αναστολείς GPIIb/IIIa πρέπει να χρησιμοποιούνται σε STEMI όταν υπάρχει αγγειογραφική απόδειξη μαζικού θρόμβου, αργή ροή ή no-reflow φαινόμενο ή θρομβωτική επιπλοκή.
- Η ασπιρίνη και οι θειενοπυριδίνες έχουν συνεργική δράση και ο συνδυασμός τους αναστέλλει τη συσσώρευση των αιμοπεταλίων σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι η μονοθεραπεία με καθεμία από τις δύο ουσίες [43].

Ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Εγκεφαλικών συστήνει σε ασθενείς με αθηροθρομβωτικό ισχαιμικό ΑΕΕ, κενοτοπιώδες-lacunar έμφρακτο ή έμφρακτο άγνωστης αιτίας χορήγηση συνδυασμού ασπιρίνης-διπυριδαμόλης ή μόνο κλοπιδογρέλης, όπου αυτό είναι δυνατό. Εναλλακτικά μπορεί να χορηγηθεί μόνο ασπιρίνη ή μόνο τριφλουζάλη.

### *iii) Ασθενείς με ΠΑΝ*

Σε ασθενείς με συμπτωματική ΠΑΝ, συμπεριλαμβανομένων εκείνων με χωλότητα, συνιστάται αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία για να μειωθεί ο κίνδυνος εμφράγματος μυοκαρδίου, ΑΕΕ, και καρδιαγγειακού θανάτου [44-46]. Η ασπιρίνη είναι ο αντιαιμοπεταλιακός παράγοντας εκλογής, ενώ η κλοπιδογρέλη μπορεί να χρησιμοποιηθεί εάν η ασπιρίνη δεν μπορεί να γίνει ανεκτή. Για δευτερογενή πρόληψη σε ασθενείς με ΠΑΝ δεν χρησιμοποιείται διπλή αντιαιμοπεταλιακή αγωγή, ελλείψει άλλων ενδείξεων (π.χ. τοποθέτηση DES).

### *iv) Ασθενείς με νόσο κρωτίδων*

Διπλή αντιαιμοπεταλιακή αγωγή με ασπιρίνη και κλοπιδογρέλη συνιστάται για ασθενείς που υποβάλλονται σε αγγειοπλαστική κρωτίδας για διάρκεια τουλάχιστον 1 μήνα. Σε ασθενείς με αποφρακτική ή μη αποφρακτική αθηρωματική κρωτιδική νόσο που έχουν υποστεί ισχαιμικό ΑΕΕ ή ΤΙΑ, αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία με ασπιρίνη (75 έως 325 mg ημερησίως), ή κλοπιδογρέλη (75 mg ημερησίως) ή συνδυασμός ασπιρίνης και διπυριδαμόλης βραδείας αποδέσμευσης συνιστάται και προτιμάται έναντι του συνδυασμού ασπιρίνης και κλοπιδογρέλης. Στους συμπτωματικούς ασθενείς με αθηρωματική κρωτιδική νόσο συνιστάται η χρόνια λήψη αντιαιμοπεταλιακής αγωγής. Η χορήγηση ασπιρίνης (75-100 mg ημερησίως), κλοπιδογρέλης (75 mg ημερησίως), ή του συνδυασμού ασπιρίνης-διπυριδαμόλης (25/200 mg δυο φορές ημερησίως), είναι αποδεκτές επιλογές. Στους ασυμπτωματικούς ασθενείς με αθηρωματική κρωτιδική νόσο συνιστάται η δια βίου λήψη ασπιρίνης. Σε περίπτωση αντένδειξης για λήψη

ασπιρίνης στους ασυμπτωματικούς ασθενείς, η χορήγηση κλοπιδογρέλης θεωρείται ως λογική εναλλακτική θεραπεία. Η αντιαιμοπεταλιακή θεραπευτική αγωγή θα πρέπει να εξατομικεύεται με βάση τους παράγοντες κινδύνου, το κόστος, την ανοχή και άλλα κλινικά χαρακτηριστικά καθώς και τη καθοδήγηση από τους ρυθμιστικούς οργανισμούς [47].

*υ) Ασθενείς με ΚΜ*

Όταν οι ασθενείς με ΚΜ μη βαλβιδικής αιτιολογίας αρνούνται τη χρήση οποιουδήποτε από του στόματος αντιπηκτικού (είτε VKA είτε NOACs), αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία θα πρέπει να χορηγείται, χρησιμοποιώντας συνδυασμό ασπιρίνης 75-100 mg και κλοπιδογρέλης 75 mg ημερησίως (όπου υπάρχει χαμηλός κίνδυνος αιμορραγίας) ή λιγότερο αποτελεσματικά ασπιρίνη 75-325 mg ημερησίως σαν μονοθεραπεία ή κλοπιδογρέλη 75 mg ημερησίως σε αυτούς που είναι αλλεργικοί ή έχουν δυσανεξία σε ασπιρίνη [48].



## 4. Κλοπιδογρέλη

### 4.1 Σύγκριση κλοπιδογρέλης και ασπιρίνης

Σύμφωνα με τη μελέτη CAPRIE αρκεί να θεραπευθούν 200 ασθενείς για ένα έτος με κλοπιδογρέλη αντί με ασπιρίνη για να προληφθεί ένα νέο μείζον ισχαιμικό συμβάν με κόστος 92.000£. Στην ίδια μελέτη ο κίνδυνος για νέο ισχαιμικό συμβάν στους ασθενείς που έλαβαν ασπιρίνη ήταν 5.8% ενώ με σε αυτούς που έλαβαν κλοπιδογρέλη ήταν 5.3% [49]. Όσον αφορά την ασφάλεια, ασπιρίνη και κλοπιδογρέλη στη μελέτη CAPRIE είχαν παρόμοια ποσοστά διαταραχών από το ΓΕΣ. Στις μελέτες CURE και PCI-CURE 75 mg κλοπιδογρέλης συνδεόταν με ελαφρώς χαμηλότερα ποσοστά ενοχλημάτων από το ΓΕΣ σε σχέση με δόση ασπιρίνης 325 mg [21-22]. Ο κίνδυνος ενοχλημάτων από το ΓΕΣ μπορούσε να μειωθεί με μικρότερες δόσεις ασπιρίνης. Η κλοπιδογρέλη επίσης συνδέεται με αυξημένη συχνότητα δερματικών εξανθημάτων σε σχέση με την ασπιρίνη [21-22].

### 4.2 Αντίσταση στην κλοπιδογρέλη

Παρά την επιβεβαιωμένη αποτελεσματικότητα της κλοπιδογρέλης σε ασθενείς με ΟΣΣ συνοδευόμενο ή όχι με PCI, υπάρχει ένας αριθμός ασθενών που συνεχίζει να παρουσιάζει καρδιαγγειακά συμβάντα. Αυτοί οι ασθενείς παρότι λαμβάνουν κλοπιδογρέλη εμφανίζουν αυξημένη αιμοπεταλιακή αντιδραστικότητα με αποτέλεσμα ένας σημαντικός αριθμός ασθενών να παρουσιάζει φτωχή ή και καθόλου απόκριση στην κλοπιδογρέλη. Αυτοί οι ασθενείς που ανέρχονται μέχρι και 35% χαρακτηρίστηκαν ως ασθενείς με αντίσταση στην κλοπιδογρέλη. Το φαινόμενο αυτό περιγράφηκε για πρώτη φορά το 2003. "Αντίσταση" ή "μη απόκριση" σε ένα αντιαιμοπεταλιακό φάρμακο είναι ένα φαρμακοδυναμικό φαινόμενο όπου δεν υπάρχει κλινικά σημαντική αλλαγή στη λειτουργία των αιμοπεταλίων μετά τη θεραπεία σε σύγκριση με την αρχική κατάσταση. Σε μελέτες που χρησιμοποιούν διαπερατότητα φωτός συσσωματομετρίας, μια αλλαγή στη μέγιστη συσσωμάτωση  $\leq 10\%$  από την αρχική τιμή, με τη χρήση ADP ως αγωνιστή,

ορίζεται ως "αντίσταση". Ο όρος αντίσταση έχει επίσης χρησιμοποιηθεί εναλλακτικά με "μη ανταπόκριση" ή "υπο-ανταπόκριση" [50]. Ο βαθμός της μεταβολής από την έναρξη της λειτουργίας των αιμοπεταλίων (ανταπόκριση) έχει επίσης κατηγοριοποιηθεί σε ποικίλους βαθμούς. Για παράδειγμα, "μη αποκρινόμενα" ( $\leq 10\%$ ), "υπο-απόκριση" (10 έως 20%) και "ανταποκρινόμενα" ( $> 20\%$ ). Τελευταία όμως έχει προταθεί και χρησιμοποιείται ο όρος "υψηλή αντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων κατά τη θεραπεία με κλοπιδογρέλη" (high on-treatment platelet reactivity- HTPR) [51-52]. Η μείωση της αντιδραστικότητας των αιμοπεταλίων με την πάροδο του χρόνου (μετά την έναρξη της θεραπείας) έχει παρατηρηθεί σε ορισμένες [53-55] αλλά όχι σε όλες τις μελέτες [56]. Για παράδειγμα, δύο μελέτες έδειξαν μια μείωση στην HTPR έως και 50% κατά την 30<sup>η</sup> ημέρα σε σύγκριση με την πρώτη ημέρα μετά την τοποθέτηση stent [53,57]. Ο λόγος για αυτή τη χρονικά εξαρτώμενη μείωση δεν είναι σαφής.

#### 4.3 Πιθανές αιτίες αντίστασης στην κλοπιδογρέλη

Η μεταβλητότητα στην απάντηση της κλοπιδογρέλης έχει αποδοθεί σε μεταβλητότητα στην παραγωγή ενεργού μεταβολίτη που προκαλείται από:

- i) μεταβλητή απορρόφηση, η οποία επηρεάζεται από το πολυμορφισμό ενός γονιδίου ABCB1 [51, 58-60].
- ii) λειτουργική μεταβλητότητα στη δράση του ισοενζύμου CYP, η οποία επηρεάζεται από πολυμορφισμούς μονών νουκλεοτιδίων (SNPs) και
- iii) αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα.

Όπως αναφέρθηκε η κλοπιδογρέλη είναι ένα προ-φάρμακο που απαιτεί μετατροπή σε ένα ενεργό μεταβολίτη για βιολογική δραστηριότητα. Περίπου το 85% της απορροφούμενης κλοπιδογρέλης υδρολύεται από την ανθρώπινη καρβοξυλεστεράση-1 σε ένα ανενεργό μεταβολίτη καρβοξυλικού οξέος, και 15% μεταβολίζεται σε ένα δραστικό μεταβολίτη με ηπατικό κυτόχρωμα (CYP) P450. Η ηπατική βιομετατροπή περιλαμβάνει μια οξειδωτική διαδικασία δύο



σταδίων. Στο πρώτο στάδιο, ο δακτύλιος θειοφαινίου κλοπιδογρέλης οξειδώνεται για να σχηματίσει 2-οξο-κλοπιδογρέλη από το CYP2C19, CYP1A2, CYP2B6. Στο δεύτερο στάδιο, CYP3A4, CYP2B6, CYP2C19, CYP2C9 καταλύουν το σχηματισμό του δραστικού μεταβολίτη (R-130964). Έχει προταθεί ότι το CYP2C19 είναι το κύριο ένζυμο που εμπλέκεται στην παραγωγή του ενεργού μεταβολίτη της κλοπιδογρέλης και διάφορες μεταλλάξεις έχουν ενοχοποιηθεί για την αντίσταση στην κλοπιδογρέλη [61].

Επιπλέον, οι δημογραφικές μεταβλητές όπως η ηλικία, η νεφρική ανεπάρκεια, ο διαβήτης και ο δείκτης μάζας σώματος επηρεάζουν επίσης την απόκριση των αιμοπεταλίων σε ADP είτε επηρεάζοντας άμεσα τη λειτουργία των αιμοπεταλίων είτε επηρεάζοντας τον μεταβολισμό της κλοπιδογρέλης.

Ο μεταβολισμός της κλοπιδογρέλης δυνητικά επηρεάζεται από συγχορηγούμενα φάρμακα όπως οι PPIs, CCB ή κουμαρινικά αντιπηκτικά, τα οποία αναστέλλουν ή ενισχύουν την δραστηριότητα του CYP ή ανταγωνίζονται την κλοπιδογρέλη κατά τη διάρκεια του ηπατικού μεταβολισμού μέσω του CYP P450 [50]. Αν και η επίδραση αυτών των αλληλεπιδράσεων στη φαρμακοκινητική και φαρμακοδυναμική της κλοπιδογρέλης έχει αναφερθεί, δεν υπάρχει προοπτική μελέτη που να αποδεικνύει πειστικά την κλινικά σημαντική επίδραση αυτών των φαρμάκων σε ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με κλοπιδογρέλη. Ο τελικός φαινότυπος αντιδραστικότητας των αιμοπεταλίων και τα κλινικά αποτελέσματα των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με κλοπιδογρέλη είναι το αποτέλεσμα όλων αυτών των επιρροών [51]. Τα ακόλουθα φάρμακα έχουν ενοχοποιηθεί:

- Οι στατίνες. Αν και μερικές μελέτες έχουν καταδείξει μια σχέση μεταξύ λιποδιαλυτής στατίνης και φαρμακοδυναμικών επιδράσεων της κλοπιδογρέλης, η κλινική σημασία του γεγονότος αυτού δεν έχει επιβεβαιωθεί. Αν και η σχέση μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι ορισμένες στατίνες μεταβολίζονται από μερικές από τις ίδιες οδούς όπως η κλοπιδογρέλη, το σύνολο των στοιχείων δείχνουν ότι οι κλινικοί γιατροί δεν

χρειάζεται να συνταγογραφήσουν μια συγκεκριμένη στατίνη όταν η συγχορήγηση κλοπιδογρέλης είναι αναγκαία [62-65].

- Οι PPIs. Υπήρχε ένας μικρός αριθμός μελετών παρατήρησης της αλληλεπίδρασης μεταξύ των PPIs και κλοπιδογρέλης [66-70]. Ωστόσο το 2009 σύμφωνα με ανακοίνωση του οργανισμού διαχείρισης Τροφίμων και Φαρμάκων (Food and Drug Administration) των Ηνωμένων Πολιτειών Αμερικής οι ασθενείς που λαμβάνουν κλοπιδογρέλη θα πρέπει να συζητούν με τον κλινικό ιατρό τους εάν ήδη λαμβάνουν ή προτίθεται να λάβουν ένα PPI. Μια μετανάλυση έξι μελετών παρατήρησης το 2015 έδειξε αυξημένη HR και αντίστοιχα διαστήματος εμπιστοσύνης (Confidence Interval-CI) για ένα έτος στο σύνθετο αποτέλεσμα θανάτου, εμφράγματος μυοκαρδίου ή ΑΕΕ που σχετίζεται με pantoprazole (HR 1.38, 95% CI 1.12-1.70), lansoprazole (HR 1.29, 95% CI 1.09 - 1.52), και esomeprazole (HR 1.27, 95% CI 1.02 - 1.58), αλλά όχι με omeprazole (HR 1.16, 95% CI 0.93 - 1.44) [71].

- Οι CCB αναστέλλουν το CYP3A4, και υπήρξε μια ανησυχία ότι μπορεί να μειώσουν την αποτελεσματικότητα της κλοπιδογρέλης. Κάποιες μελέτες έχουν δείξει μια πιθανή επιβλαβή επίδραση των CCB στην αποτελεσματικότητα της κλοπιδογρέλης [72-73]. Με βάση όμως τρέχοντα αποδεικτικά στοιχεία, δεν συνιστάται ο περιορισμός της χρήσης CCB σε ασθενείς στους οποίους συνταγογραφείται κλοπιδογρέλη [74]. Έτσι όσον αφορά την αιτιολογία γενετικοί και κλινικοί παράγοντες αλλά και αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα θεωρούνται υπεύθυνα για την HTPR όπως φαίνεται στον πίνακα 2.

Γενετικοί παράγοντες	Κλινικοί παράγοντες	Αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα
CYP2C19	Ηλικία	PPIs
CYP2C19*2	Νεφρική ανεπάρκεια	CCB
CYP2C19*17	Φύλο	Κουμαρινικά
CYP2C19*3, *4, *5, *6, *7, *8	Δείκτης μάζας - σώματος	Στατίνες
CYP3A4	Σακχαρώδης Διαβήτης	
CYP3A5	Συστηματική φλεγμονή	
MDR1	Οξύ Στεφανιαίο Σύνδρομο	
P2Y <sub>12</sub>	Καρδιογενές shock	
ITGB3	Χαμηλό Κλάσμα εξώθησης	
PON-1	Κάπνισμα	
	Μη συμμόρφωση στην αγωγή	

Πίνακας 2. Πιθανές αιτίες για την HTPR.

#### 4.4 Μέθοδοι εκτίμησης δραστηριότητας αιμοπεταλίων και ανίχνευσης αντίστασης στην κλοπιδογρέλη

##### a) Συσσωρευομετρία οπτικής διαπερατότητας (*Light transmittance aggregometry, LTA*)

Η μέθοδος LTA θεωρείται σήμερα ο χρυσός κανόνας εκτίμησης της αιμοπεταλιακής λειτουργίας. Η μέθοδος απαιτεί την παρασκευή ενός διαλύματος πλούσιου σε αιμοπετάλια (Platelet Rich Plasma-PRP) και πραγματοποιείται σε ειδικό όργανο, το συσσωρευόμετρο (aggregometer). Η προσθήκη ενός αγωνιστή σε PRP προκαλεί αύξηση της αλληλεπίδρασης των αιμοπεταλίων, με αποτέλεσμα τη μεταβολή της διαπερατότητας του φωτός. Με την LTA μετράται η αύξηση στην μετάδοση του φωτός μέσω ενός εναιωρήματος αιμοπεταλίων, που προκαλείται όταν τα αιμοπετάλια

συσσωρεύονται σε απάντηση ενός αγωνιστή. Η συσσώρευση των αιμοπεταλίων εκφράζεται σαν το μέγιστο ποσοστό αύξησης της μετάδοσης του φωτός σε σχέση με την αρχική τιμή αναφοράς 5 λεπτά μετά την προσθήκη του αγωνιστή. Αρκετές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει τη συσχέτιση μεταξύ ισχαιμικών συμβάντων (π.χ. θρόμβωση του stent) και πτωχής απάντησης στην κλοπιδογρέλη εκτιμώμενη με LTA [12, 75- 77].

### *β) Μελέτη της φωσφορυλίωσης της VASP-P*

Τα επίπεδα της φωσφορυλιωμένης VASP αντιπροσωπεύουν την ανενεργή της μορφή, ενώ τα επίπεδα της αποφωσφορυλιωμένης είναι ενδεικτικά της ενεργής μορφής. Ως γνωστόν οι P2Y<sub>12</sub> ανταγωνιστές προσδένονται αντιστρεπτά ή μη αντιστρεπτά στον υποδοχέα P2Y<sub>12</sub>, παρεμποδίζοντας την πρόσδεση του ADP στον υποδοχέα του αναστέλλοντας την αποφωσφορυλίωση της VASP. Παρουσία της προσταγλανδίνης E1 η σύνδεση του ADP στον υποδοχέα P2Y<sub>12</sub> επάγει την αποφωσφορυλίωση της VASP. Ο υποδοχέας P2Y<sub>12</sub> αποτελεί τον μοριακό στόχο των θειενοπυριδινών, επομένως τα επίπεδα φωσφορυλίωσης της VASP αντανακλούν την αναστολή του P2Y<sub>12</sub> υποδοχέα. Η απόκριση των αιμοπεταλίων στη δράση των P2Y<sub>12</sub> ανταγωνιστών ποσοτικοποιείται με τον δείκτη αιμοπεταλιακής δραστηριότητας (Platelet Reactivity Index, PRI) [78]. Μελέτες έχουν δείξει ότι σε σύγκριση με τις υπόλοιπες μεθόδους έχει την ισχυρότερη συσχέτιση με την LTA [79-81].

Άλλες μέθοδοι εκτίμησης της αιμοπεταλιακής λειτουργίας είναι η συσκευή Verify-Now (που αποτελεί μια απλή μέθοδο μέτρησης της αιμοπεταλιακής λειτουργίας, αφού γίνεται παρά την κλίνη του ασθενούς και δεν απαιτεί εξειδικευμένη γνώση από τον χειριστή), το Multiplate Analyser, η PFA-100, η μέτρηση συσσώρευσης σε πλήρες αίμα (Whole Blood Aggregometry - WBA), οι συσκευές Plateletworks και Impact Cone and Platelet Analyser.

Το 2010 η Ομάδα Εργασίας που ασχολείται με την HTPR εξέδωσε μια ομόφωνη θέση (consensus) πάνω στον ορισμό της HTPR για τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μεθόδους μέτρησης της αιμοπεταλιακής λειτουργίας. Τα ενδεικτικά όρια της παρουσίας HTPR για κάθε μέθοδο καθορίστηκαν ως εξής:

- >46% μέγιστη συσσώρευση σε απάντηση προσθήκης 5μM ADP με τη μέθοδο LTA,
- >468 μονάδες συσσώρευσης (AU) x min για το Multiplate Analyser,
- $\geq 235$  μονάδες αντιδραστικότητας των αιμοπεταλίων (PRU) για το VerifyNow P2Y<sub>12</sub> και
- >50% PRI για τη μέθοδο VASP [51].

#### 4.5 Γενόσημες-ομοιοδραστικές μορφές κλοπιδογρέλης

Η κλοπιδογρέλη είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο φάρμακο κατά των αιμοπεταλίων με κλινικό όφελος για τη δευτερογενή πρόληψη των αθηροθρομβωτικών επεισοδίων, σε συνδυασμό με ασπιρίνη ή ως μονοθεραπεία και έχει καθιερωθεί από μια πληθώρα μεγάλων κλινικών δοκιμών καθώς και στην κλινική πράξη [18-22, 49, 82-83]. Όλη αυτή η γνώση και η εμπειρία έχουν παραχθεί σύμφωνα με το αρχικό προϊόν, την όξινη θειϊκή κλοπιδογρέλη (Plavix®/ Iscover®). Μετά τη λήξη των φαρμακευτικών διπλωμάτων ευρεσιτεχνίας της, η κλοπιδογρέλη έχει καταστεί γενόσημη και έτσι διάφορα εμπορικά σκευάσματα έχουν αναπτυχθεί και εγκριθεί για χρήση σε όλο τον κόσμο, συμπεριλαμβανομένης της Ευρώπης και των ΗΠΑ, για τη δευτερογενή πρόληψη των αθηροθρομβωτικών επεισοδίων. Η πρώτη γενόσημη κλοπιδογρέλη στην Ευρώπη έλαβε άδεια διάθεσης στην αγορά το 2009 με εναλλακτικές μορφές αλάτων κλοπιδογρέλης και έχει ήδη κερδίσει αρκετά μεγάλο μερίδιο αγοράς (35% - 50% στη Γαλλία και τη Γερμανία και έως και 80% στο Ηνωμένο Βασίλειο). Οι γενόσημες μορφές περιλαμβάνουν τη βάση κλοπιδογρέλης (clopidogrel base) καθώς και διάφορα άλατα όπως τη ρητινική κλοπιδογρέλη (clopidogrel resinate), την υδροχλωρική κλοπιδογρέλη (clopidogrel hydrochloride), τη ναπαδισιλική κλοπιδογρέλη (clopidogrel napadisilate) και τη CB [84-86]. Η χρήση αυτών των γενόσημων κλοπιδογρέλης αυξάνεται σε όλο τον κόσμο, κυρίως λόγω του σημαντικά χαμηλότερου κόστους σε σχέση με το πρωτότυπο προϊόν.

Οι περισσότερες από τις μελέτες που έχουν διεξαχθεί μέχρι σήμερα έδειξαν ότι η φαρμακοδυναμική δραστικότητα κάποιων γενόσημων αλάτων κλοπιδογρέλης είναι παρόμοια με την πρωτότυπη CHS [84, 87-91]. Παρόλα αυτά, η φαρμακοδυναμική μελέτη της βάσης κλοπιδογρέλης που πραγματοποιήθηκε σε μια σχετικά μεγάλη ομάδα ασθενών έδειξε ότι αυτή η σύνθεση είναι λιγότερο αποτελεσματική στην αναστολή της επαγόμενης από ADP ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων σε σύγκριση με αυτή της CHS [92]. Τα ανωτέρω αποτελέσματα δείχνουν ότι μπορεί να υπάρχουν διαφορές στην έναρξη της δράσης μεταξύ των διαφόρων γενόσημων αλάτων κλοπιδογρέλης που χορηγούνται ως δόσεις φόρτισης ή συντήρησης. Χαμηλή αντιαιμοπεταλιακή αποτελεσματικότητα από ένα συγκεκριμένο γενόσημο άλας κλοπιδογρέλης μπορεί να έχει σημαντικές συνέπειες στην κλινική του αποτελεσματικότητα. Σύμφωνα με αυτή την πρόταση είναι τα αποτελέσματα μιας ακόμη μελέτης αναφορικά με μια απροσδόκητη αύξηση στη συχνότητα εμφάνισης επιβεβαιωμένης οξείας και υποξείας θρόμβωσης stents μετά από επιτυχή PCI που συμπίπτει με τη χρήση των γενόσημων αλάτων κλοπιδογρέλης [93]. Τα παραπάνω αποτελέσματα είναι ο κύριος λόγος για τον οποίο οι κλινικοί γιατροί είναι επιφυλακτικοί στην αντικατάσταση του αρχικού άλατος με μια γενόσημη μορφή.

Δεδομένου ότι υπάρχει μια έλλειψη στοιχείων για τη φαρμακοδυναμική δραστικότητα καθώς επίσης και σχετικά με την κλινική αποτελεσματικότητα και την ισχύ για τα περισσότερα διαθέσιμα σκευάσματα γενόσημων αλάτων κλοπιδογρέλης σε καρδιαγγειακούς ασθενείς, συστήνεται ότι θα πρέπει να γίνονται στο εγγύς μέλλον μελέτες που αποσκοπούν στην αντιμετώπιση του παραπάνω θέματος. Σύμφωνα με την παραπάνω πρόταση ήταν η 4 εβδομάδων πολυκεντρική, προοπτική, ανοικτή, τυχαιοποιημένη μελέτη με στόχο να αξιολογήσει την αποτελεσματικότητα και την ανεκτικότητα της αντιαιμοπεταλιακής αγωγής με NC σε σύγκριση με CHS [94]. Η NC περιέχει μονοϋδρική 2-ναφθαλινο-σουλφονικό οξύ, αντί διθειϊκό άλας και είναι οπτικώς καθαρό και πιο σταθερό στην υγρασία και τη θερμότητα από την CHS [95]. Οι συμμετέχοντες της μελέτης ήταν ασθενείς άνδρες και γυναίκες,

ηλικίας μεταξύ 20 και 85 ετών που είχαν υποβληθεί σε PCI με DES έως και 43 μήνες μέχρι τη στρατολόγηση. Οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν να λάβουν 75 mg / ημέρα, είτε NC (n=59) ή CHS (n=56). Όλοι οι ασθενείς έλαβαν ταυτόχρονα 100 mg / ημέρα ασπιρίνη. Η αποτελεσματικότητα έναντι των αιμοπεταλίων μελετήθηκε χρησιμοποιώντας τη συσκευή Verify Now [96]. Το κύριο αποτέλεσμα ήταν η διαφορά της ποσοστιαίας αναστολής P2Y<sub>12</sub> μεταξύ των ομάδων στις 4 εβδομάδες. Δευτερεύοντα αποτελέσματα ήταν: (1) η έναρξη και αλλαγή των μονάδων αντίδρασης P2Y<sub>12</sub> (PRU) μεταξύ των ομάδων (2) τα μείζονα καρδιακά συμβάντα (MACEs-σύνθετο σημείο θανάτου και εισαγωγή στο νοσοκομείο για επαναλαμβανόμενο έμφραγμα μυοκαρδίου), και (3) σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες. Δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές στα ανωτέρω πρωτεύοντα και δευτερεύοντα αποτελέσματα μεταξύ NC και CHS στον πληθυσμό της μελέτης. Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η ηλικία, το γυναικείο φύλο, ο σακχαρώδης διαβήτης, ο αιματοκρίτης και άλλες μεταβλητές συσχετίζονται με αυξημένα τιμές PRU [97-98]. Σε αυτή τη μελέτη, υπάρχει μια σημαντική διαφορά στο φύλο μεταξύ των ομάδων (P=0.001), αν και οι ομάδες ήταν τυχαίες. Ως εκ τούτου, οι συγγραφείς πραγματοποίησαν μια πρόσθετη ανάλυση προσαρμοσμένη για το φύλο για την αλλαγή των PRU μεταξύ των ομάδων και δεν βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά (p=0.091). Είναι σημαντικό ότι οι συγγραφείς δήλωσαν ότι δεν συνέβησαν MACEs κατά τη διάρκεια της περιόδου της μελέτης. Όσον αφορά το προφίλ ασφάλειας, οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στις ανεπιθύμητες ενέργειες μεταξύ των δυο ομάδων.

Θα πρέπει να επισημάνουμε ότι πολύ σημαντική παράμετρος για την αξιολόγηση της ασφάλειας της κλοπιδογρέλης είναι το ποσοστό αιμορραγιών [99], η οποία μπορεί να εκτιμηθεί από μια ποικιλία βαθμολογιών αιμορραγίας συμπεριλαμβανομένων των TIMI (Thrombolysis in Myocardial Infarction), GUSTO (Global Use of Strategies to Open Occluded Arteries) και BARC (Bleeding Academic Research Consortium) scores [100]. Είναι μείζονος κλινικής σημασίας ότι όλες οι μελέτες με στόχο να συγκρίνουν ένα γενόσημο άλας κλοπιδογρέλης με ένα πρωτότυπο παρέχουν αποτελέσματα σε

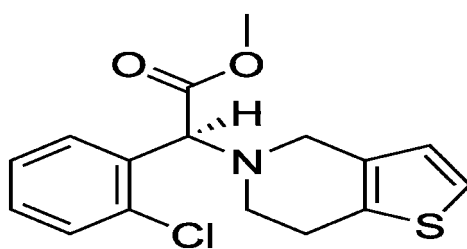
αιμορραγικά επεισόδια σύμφωνα με τα παραπάνω scores. Ωστόσο, η περίοδος παρακολούθησης 4 εβδομάδων που χρησιμοποιείται στην προαναφερθείσα μελέτη είναι πολύ σύντομη και πιθανώς ανεπαρκής για να επιτρέψει οριστικά συμπεράσματα σχετικά με τα ποσοστά της αιμορραγίας σε ασθενείς που αντιμετωπίζονται με NC. Πράγματι, στη μελέτη CLEAN [101] το ποσοστό των αιμορραγικών επεισοδίων στην ομάδα της κλοπιδογρέλης μετά από PCI σε 1 έτος παρακολούθησης ήταν 1.3%, σύμφωνα με τα κριτήρια TIMI και 0.6% σύμφωνα με τα κριτήρια GUSTO [102].

Κατά την ανάπτυξη μιας νέας γενόσημης μορφής, είναι σημαντικό να τηρείται η κατασκευαστική διαδικασία και να χρησιμοποιούνται τα ίδια έκδοχα όπως και στο αρχικό άλας, προκειμένου να ελαχιστοποιηθούν τα προβλήματα σταθερότητας και αποτελεσματικότητας. Συγκεκριμένα, κατά τη διάρκεια της φάσης ανάπτυξης μιας στερεής από του στόματος μορφής άλατος, αρκετές φυσικοχημικές καθώς και προπαρασκευαστικές δοκιμασίες διεξάγονται προκειμένου να επιτευχθεί ένα υψηλής ποιότητας προϊόν κοινής χρήσης εναλλακτικό με το αρχικό άλας από την άποψη της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας. Κατά συνέπεια, ένα γενόσημο προϊόν πρέπει να παρουσιάζει ένα προφίλ διάλυσης *in vitro*, παρόμοιο ή επικαλυπτόμενο με εκείνο του πρωτότυπου προϊόντος, ώστε να εξασφαλισθεί η επιτυχής βιοϊσοδυναμία του προϊόντος [103-108]. Ωστόσο, σύμφωνα με το βιοφαρμακευτικό σύστημα ταξινόμησης, η κλοπιδογρέλη είναι ένα προϊόν τάξης II (υψηλής διαπερατότητας, μικρής διαλυτότητας), έτσι η *in vitro* διάλυση δεν αρκεί για να αποδείξει ότι είναι ισάξιο με το πρωτότυπο σκεύασμα. Συνεπώς τα γενόσημα δισκία κλοπιδογρέλης θα πρέπει να υποβάλλονται σε μελέτη βιοϊσοδυναμίας σε σύγκριση με το πρωτότυπο σκεύασμα. Επιπλέον, είναι κρίσιμης σημασίας να αποδειχθεί ότι αυτά τα παρασκευάσματα έχουν παρόμοια φαρμακοδυναμική δραστικότητα στην αναστολή της δραστικότητας των αιμοπεταλίων και επίσης είναι κλινικά βιοϊσοδύναμα με το αρχικό άλας από την άποψη της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας. Σε αυτό το σημείο, θα πρέπει να τονιστεί ότι, σε αντίθεση με άλλα γενικά καρδιαγγειακά φάρμακα, όπως οι στατίνες ή τα

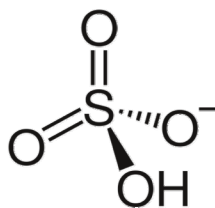


αντιυπερτασικά, για τα οποία μικρές διαφορές στη βιολογική αποτελεσματικότητά τους θα ήταν απίθανο να έχουν οποιαδήποτε διακριτό κλινικό αποτέλεσμα, μια μικρή μείωση στη φαρμακοδυναμική ισχύ της κλοπιδογρέλης θα μπορούσε να οδηγήσει σε σοβαρές ισχαιμικές θρομβωτικές επιπλοκές, ιδιαίτερα σε καταστάσεις όπου η θεραπευτική αποτελεσματικότητα είναι κρίσιμη, όπως αμέσως μετά από PCI.

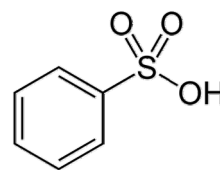
Η ανάγκη για την αξιολόγηση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας ενός γενόσημου άλατος κλοπιδογρέλης υποστηρίζεται περαιτέρω από τη σημαντική ετερογένεια μεταξύ των υφιστάμενων γενόσημων σκευασμάτων κλοπιδογρέλης, όσον αφορά το περιεχόμενο της κλοπιδογρέλης, το προφίλ καθαρότητας, τις ιδιότητες διάλυσης και σταθερότητας ακόμη και αν αυτές αφορούν το ίδιο το άλας. Από μελέτες του εργαστηρίου μας είχε μελετηθεί αν υπάρχει φαρμακοχημική ισοδυναμία μεταξύ δυο αλάτων της κλοπιδογρέλης και συγκεκριμένα της CHS (Plavix®) και της CB (Clovelen®) [109-110]. Η διαφορά τους έγκειται στο άλας που είναι προσκολλημένο σε κάθε μορφή. Στο σχήμα 14 απεικονίζεται η χημική δομή του μορίου της κλοπιδογρέλης και αν το μόριο αυτό ενωθεί με όξινο θειϊκό ιόν (Σχήμα 15α) δημιουργείται το άλας της CHS, ενώ αν ενωθεί με βενζενοσουλφονικό οξύ (Σχήμα 15β) σχηματίζεται το άλας της CB.



Σχήμα 14. Η χημική δομή του μορίου της κλοπιδογρέλης.

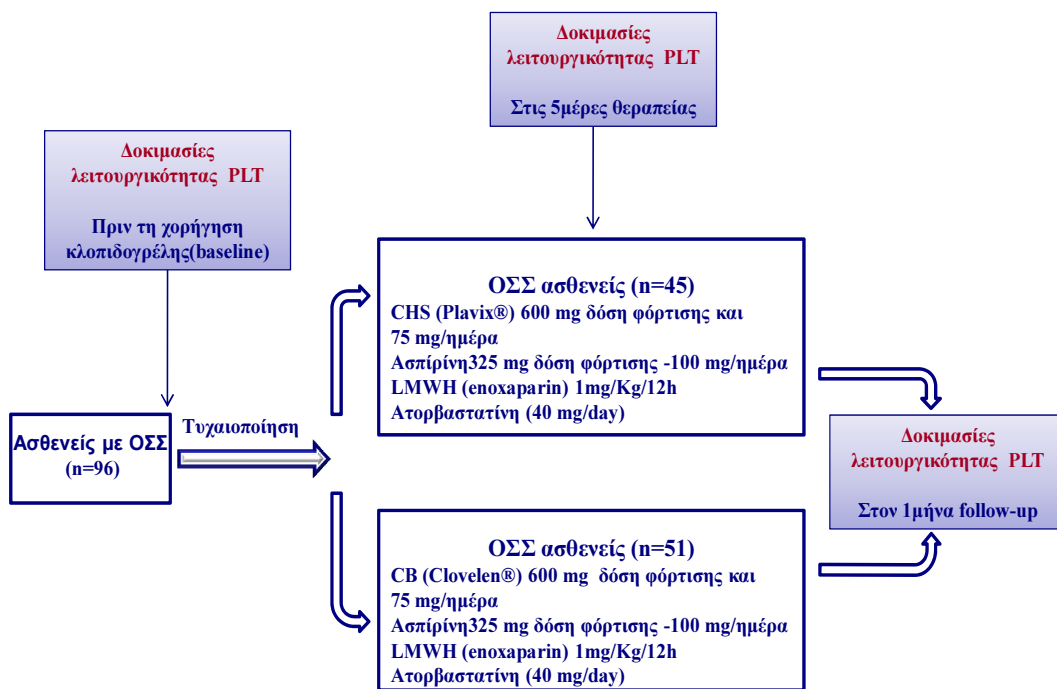


Σχήμα 15α. Όξινοθειϊκό ιόν



Σχήμα 15β. Βενζενοςουλφονικό οξύ

Αρχικά μελετήθηκε αν υφίσταται φαρμακοχημική ισοδυναμία σε 96 ασθενείς με ΟΣΣ που τυχαιοποιήθηκαν και έλαβαν οι 45 ασθενείς CHS 600 mg δόση φόρτισης και 75 mg/ημέρα και οι 51 ασθενείς CB 600 mg δόση φόρτισης και 75 mg/ημέρα (Σχήμα 16). Όλοι οι ασθενείς έλαβαν Ασπιρίνη 325 mg δόση φόρτισης και 100 mg/ημέρα, LMWH (enoxaparin) 1mg/Kg/12h κατά τη νοσηλεία και Ατορβαστατίνη (40 mg/day). Στεφανιογραφία διενεργήθηκε σε όλους τους ασθενείς εντός 72 ωρών από την εισαγωγή τους στο νοσοκομείο. 68 ασθενείς αντιμετωπίστηκαν με PCI εντός 4 ημερών από τη λήψη δόσης φόρτισης κλοπιδογρέλης, ενώ σε 28 ασθενείς επιλέχθηκε η συντηρητική αντιμετώπιση μετά τη στεφανιογραφία. Δοκιμασίες λειτουργικότητας PLT (φωσφορυλίωση πρωτεΐνης VASP, μέτρηση μέγιστης συγκέντρωσης PLT με τη μέθοδο LTA μετά από έγχυση αγωνιστών όπως αραχιδονικό οξύ, ADP, έκφραση P-selectin) διενεργήθηκαν πριν τη χορήγηση δόση φόρτισης κλοπιδογρέλης, στις 5 ημέρες θεραπείας και στον ένα μήνα θεραπείας. Διαπιστώθηκε έτσι, σύμφωνα με μετρήσεις που έγιναν (Σχήματα 17 και 18), ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στην αντιαιμοπεταλιακή δράση μεταξύ CB και CHS κατά τη χορήγηση τους σε ασθενείς με ΟΣΣ για 1 μήνα μετά το ΟΣΣ [109].

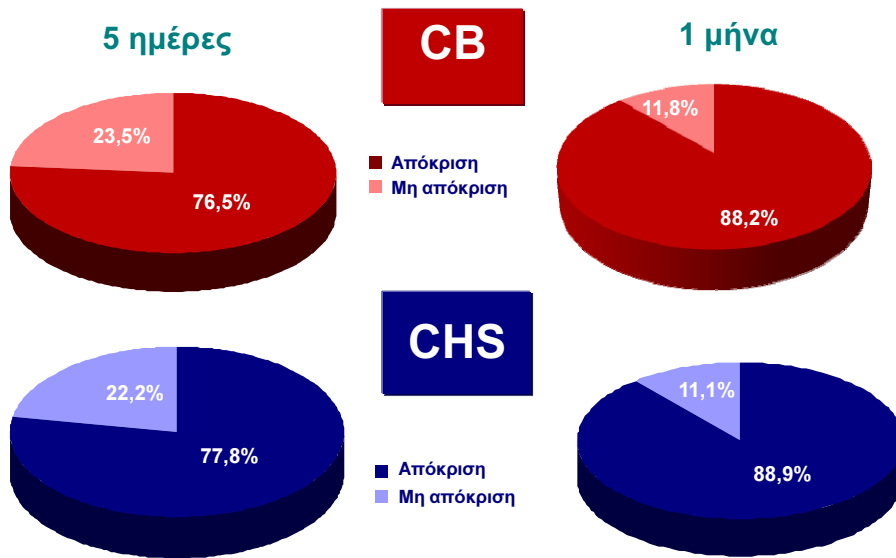


Στεφανιογραφία διενεργήθηκε σε όλους τους ασθενείς εντός 72 ωρών από την εισαγωγή τους στο νοσοκομείο.

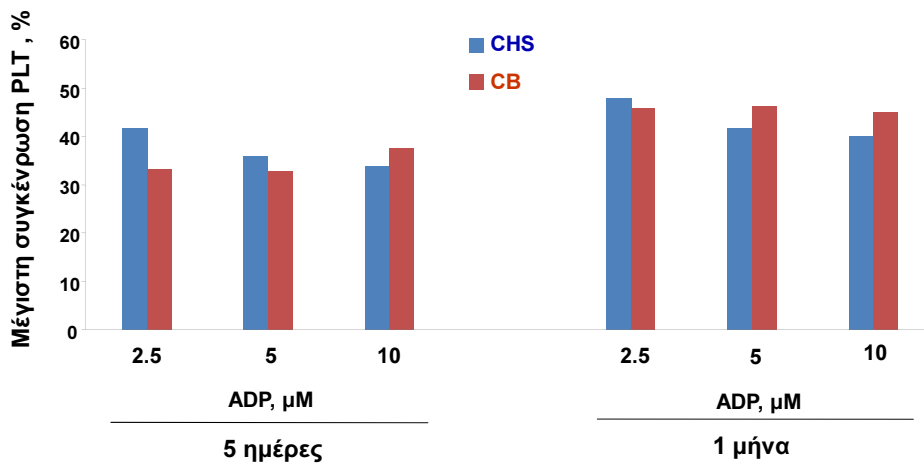
Οι ασθενείς υποβλήθηκαν σε αγγειοπλαστική εντός 4 ημερών από τη λήψη της δόσης φόρτισης κλοπιδογρέλης.

Σχήμα 16. Σχεδιασμός μελέτης παρακολούθησης ασθενών με ΟΣΣ για 1 μήνα.

## Ανάλυση VASP

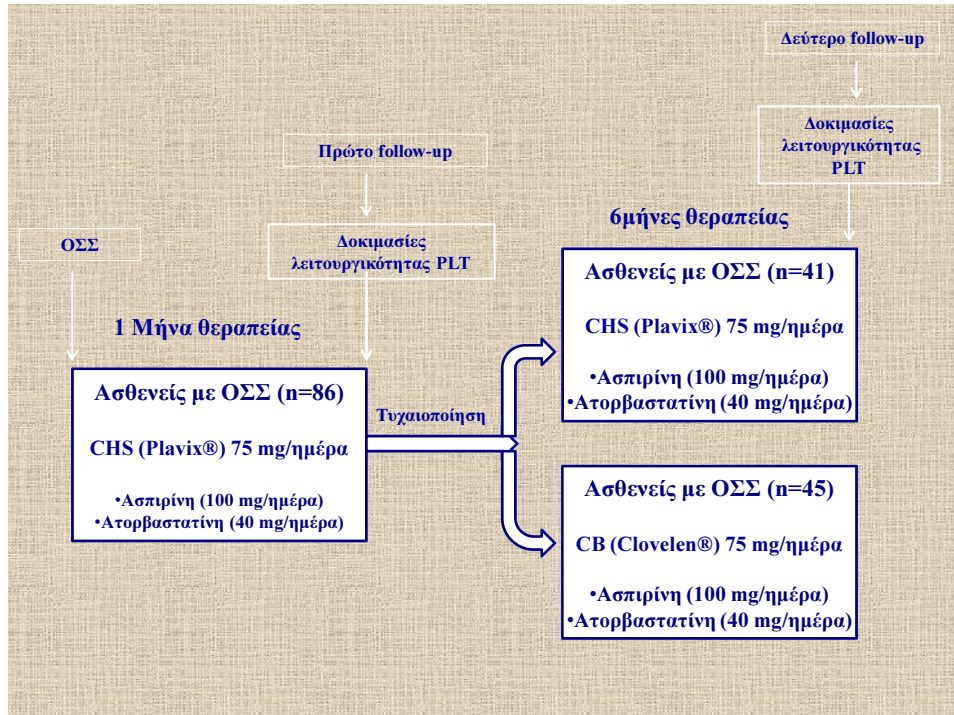


Σχήμα 17. Ανάλυση VASP στις 5 ημέρες και στον 1 μήνα θεραπείας μετά τη φόρτιση με κλοπιδογρέλη.



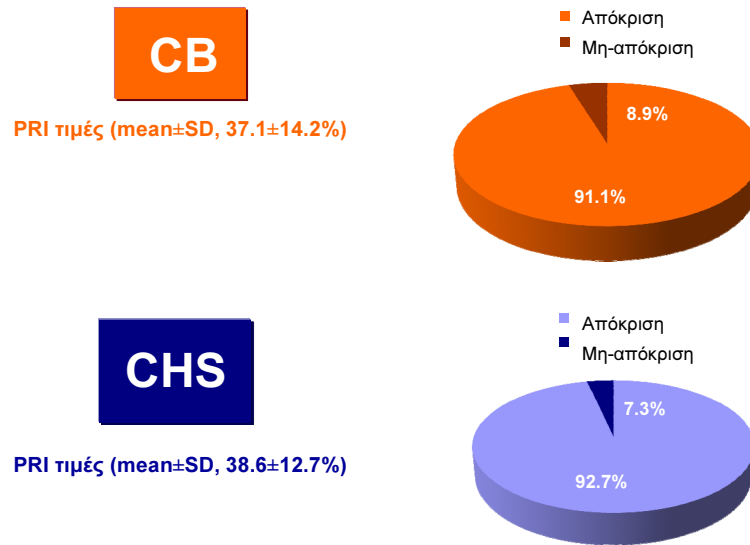
Σχήμα 18. Μέγιστες συγκεντρώσεις PLT με τη μέθοδο LTA μετά από ανάμιξη με διαφορετικές συγκεντρώσεις ADP σαν αγωνιστή στις 5 ημέρες και στον 1 μήνα θεραπείας μετά τη φόρτιση με κλοπιδογρέλη.

Στη δεύτερη μελέτη από την ερευνητική μας ομάδα μελετήθηκε η αντιαιμοπεταλιακή αποτελεσματικότητα θεραπείας με CHS έναντι CB για 6 μήνες σε ασθενείς με ιστορικό ΟΣΣ [110]. Έτσι 86 ασθενείς με ιστορικό ΟΣΣ από μηνός (από τους οποίους οι 55 είχαν υποβληθεί σε PCI και οι υπόλοιποι είχαν αντιμετωπιστεί συντηρητικά), που ήταν σε αγωγή με CHS (75 mg/ημέρα), Ασπιρίνη (100 mg/ημέρα) και Ατορβαστατίνη (40 mg/ημέρα), τυχαιοποιήθηκαν και έλαβαν οι 45 ασθενείς CB (75 mg/ ημέρα), ενώ οι 41 ασθενείς συνέχισαν την αγωγή τους με CHS (75 mg/ημέρα) (Σχήμα 19). Δοκιμασίες λειτουργικότητας PLT (φωσφορυλίωση πρωτεΐνης VASP, μέτρηση μέγιστης συγκέντρωσης PLT με τη μέθοδο LTA μετά από έγχυση αγωνιστών όπως αραχιδονικό οξύ, ADP, έκφραση P-selectin) διενεργήθηκαν πριν τη τυχαιοποίηση και στους 6 μήνες θεραπείας. Διαπιστώθηκε έτσι, σύμφωνα με μετρήσεις που έγιναν (Σχήματα 20 και 21), ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στην αντιαιμοπεταλιακή δράση μεταξύ CB και CHS κατά τη χορήγησή τους σε ασθενείς με ΟΣΣ για διάστημα έως και 6 μήνες μετά το ΟΣΣ [110].

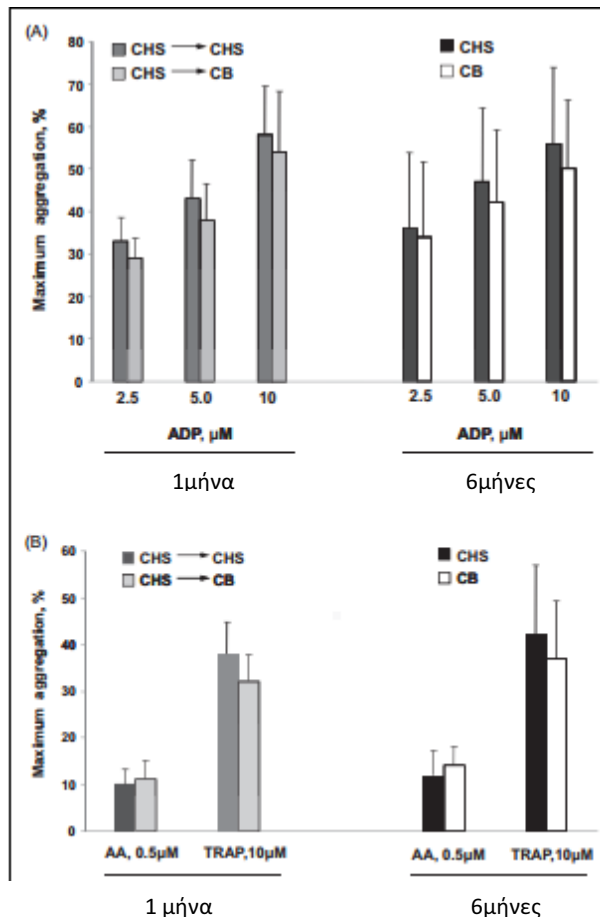


Σχήμα 19. Σχεδιασμός μελέτης παρακολούθησης ασθενών με ΟΣΣ για 6 μήνες.

## Ανάλυση VASP



Σχήμα 20. Ανάλυση VASP στους 6μήνες θεραπειάς με CB και CHS.



Σχήμα 21. Μέγιστες συγκεντρώσεις PLT με τη μέθοδο LTA σε διάφορες συγκεντρώσεις ADP (A) όπως και σε αραχιδονικό οξύ (AA) και ενεργοποιημένου με θρομβίνη πεπτιδιο-14 (TRAP) (B), σε ασθενείς με ACS που έλαβαν θεραπεία με CB ή CHS. Οι τιμές εκφράζονται ως μέσος όρος + SD.



### 5. Σκοπός της ερευνητικής εργασίας

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η ερευνητική μας ομάδα είχε διεξάγει 2 φαρμακοδυναμικές μελέτες όπου συγκρίθηκε η γενόσημη μορφή κλοπιδογρέλης CB με το πρωτότυπο άλας CHS με τις εμπορικές ονομασίες Clovelen® και Plavix® αντίστοιχα και ανευρέθη ότι δεν υπάρχει φαρμακοδυναμική διαφορά τόσο στον 1 όσο και στους 6 μήνες θεραπείας μετά από ΟΣΣ. Αποφασίσαμε να μελετήσουμε στη συνέχεια αν υφίσταται και κλινική ισοδυναμία μεταξύ των δυο σκευασμάτων που αποτέλεσε και το σκοπό της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Έτσι, πραγματοποιήσαμε μια τυχαιοποιημένη κλινική μελέτη φάσης 4 που ονομάστηκε SCIENCE (Salts of Clopidogrel: Investigation to ENSure Clinical Equivalence) με κωδικό καταχώρησης στο ClinicalTrials.gov: NCT02126982. Σκοπός ήταν να συγκριθεί η κλινική αποτελεσματικότητα και ασφάλεια του σκευάσματος CB σε σχέση με CHS, χορηγούμενου επί 12 μήνες σε ένα σχετικά μεγάλο αριθμό ασθενών που είχαν ένδειξη να λάβουν κλοπιδογρέλη σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες και ενδείξεις. Η ενδιάμεση ανάλυση αυτής της μελέτης πραγματοποιήθηκε στους 6 μήνες παρακολούθησης.



## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **6. Μέθοδος**

Η μελέτη SCIENCE ήταν μια προοπτική 2σκελών, ανοικτή, πολυκεντρική (30 κέντρα), φάσης 4 κλινική δοκιμή, που σχεδιάστηκε για να συγκρίνει τη βραχυπρόθεσμη (6μηνών) και μακροπρόθεσμη (12μηνών) αποτελεσματικότητα και ασφάλεια της CB έναντι CHS στη μείωση των αθηροθρομβωτικών επεισοδίων σε διάφορες κατηγορίες ασθενών που μπορούν να λάβουν κλοπιδογρέλη. Τα κέντρα (ερευνητές) που συμμετείχαν στη μελέτη ήταν αναλυτικά: Ερευνητικό Κέντρο Αθηροθρόμβωσης. (Ι. Γουδέβενος, Α. Τσελέπης, Χ. Μηλιώνης, Δ. Παναγιωτάκος, Ι. Ντάλας, Κ. Καλαντζή, Μ. Τσουμάνη), Ι. Βακάλης, Β. Βασιλακόπουλος, Κ. Βαρδάκης, Κ. Βέμμος, Μ. Βουκελάτου, Γ. Γιαννακούλας, Ι. Γιατράκος, Β. Γιόγιακας, Γ. Γκουμάς, Ν. Δημουλής, Α. Δραγανίγος, Ι. Ευθυμιάδης, Μ. Θωμά, Ε. Καζάκος, Ν. Κηπουρίδης, Σ. Κωνσταντίνου, Α. Μπουρδάκης, Δ. Νικολόπουλος, Λ. Πελτέκης, Ν. Προκοπάκης, Δ. Ρίχτερ, Ι. Σιντελής, Χ. Στρούμπης, Κ. Τερζούδη, Κ. Τσίλιας, Ι. Χαρακτοής, Χ.Χάρμπας, Γ. Χατζηαθανασίου, Ζ. Χριστογιάννης. Η μελέτη αυτή χρηματοδοτήθηκε εν μέρει από τη φαρμακευτική εταιρεία ELPEN (Ελλάδα), κατασκευάστρια εταιρεία του σκευάσματος της CB (CloveLen®) που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη. Ωστόσο, ο χορηγός δεν είχε καμία απολύτως συμμετοχή στο σχεδιασμό και τη διεξαγωγή της μελέτης, κατά τη συλλογή, διαχείριση, ανάλυση και ερμηνεία των δεδομένων ή στην προετοιμασία, διόρθωση, υποβολή και έγκριση των δημοσιευμένων άρθρων.

#### **6.1 Κριτήρια ένταξης στη μελέτη**

Ασθενείς που συμμετείχαν στη μελέτη ήταν άνδρες και γυναίκες > 18 ετών οι οποίοι ανήκαν σε μια από τις παρακάτω κατηγορίες σύμφωνα με τη κωδικοποίηση της Δέκατης Αναθεώρησης της Διεθνούς Ταξινόμησης των Νόσων (ICD-10-CM):

- α) ασθενείς με σταθερή ΣΝ (I51.9) να είναι σε θεραπεία με 75 mg CHS / ημέρα για ένα ελάχιστο χρονικό διάστημα δύο μηνών,
- β) ασθενείς οι οποίοι είχαν την ένδειξη να υποβληθούν σε PCI (Z98.61) κατά τη διάρκεια της τυχαιοποίησης,
- γ) ασθενείς που είχαν υποστεί ένα οξύ ισχαιμικό μη εμβολικό ΑΕΕ (I63) ή ΤΙΑ (Z86.73) κατά τους προηγούμενους 6 μήνες,
- δ) ασθενείς που είχαν ιστορικό ΠΑΝ (I73.9),
- ε) ασθενείς με νόσο καρωτίδων (I65.2),
- στ) ασθενείς με ΚΜ (I48) που αρνήθηκαν ή δεν ήταν κατάλληλοι για χρήση οποιουδήποτε από του στόματος αντιπηκτικού.

Θα πρέπει να τονιστεί ότι ασθενείς με STEMI (I21.0, I21.1, I21.2, I21.3) θα έπρεπε να παρουσιάζουν επίμονη ανόσπαση τουλάχιστον 0.1 mV σε τουλάχιστον δύο συνεχόμενες απαγωγές στο ΗΚΓ ή LBBB και αύξηση των επιπέδων της τροπονίνης I στο αίμα. Ασθενείς θεωρήθηκαν ότι έχουν σταθερή ΣΝ αν είχαν ένα ΟΣΣ και δεν υποβλήθηκαν σε PCI ή ήταν ασθενείς με ΣΝ (μετά από μη επεμβατική απεικόνιση) οι οποίοι δεν υποβλήθηκαν σε επεμβατική στεφανιογραφία ή PCI.

Επιπρόσθετα οι ασθενείς με ΟΣΣ που δεν εμφάνιζαν ανόσπαση ST διαστήματος στο ΗΚΓ θα έπρεπε να συνδυάζουν τουλάχιστον δύο από τα ακόλουθα τρία κριτήρια: αλλαγές ST-τμήματος στο ηλεκτροκαρδιογράφημα που να αποδεικνύουν ισχαιμία ή υψηλή τιμή βιοδείκτη (Τροπονίνη-I) που να υποδηλώνει νέκρωση του μυοκαρδίου ή έναν από τους πολλούς παράγοντες κινδύνου (ηλικίας  $\geq 60$  ετών, προηγούμενο έμφραγμα μυοκαρδίου ή να έχουν υποβληθεί σε αορτοστεφανιαία παράκαμψη, ΣΝ με στένωση  $\geq 50\%$  σε τουλάχιστον δύο αγγεία, προηγούμενο ισχαιμικό ΑΕΕ, ΤΙΑ, καρωτιδική στένωση τουλάχιστον 50%, ή εγκεφαλική επαναγγείωση, σακχαρώδη διαβήτη, ΠΑΝ ή χρόνια νεφρική δυσλειτουργία με GFR  $>60$  ml / min / 1,73m<sup>2</sup> επιφάνειας σώματος). Αναλόγως της ανίχνευσης ή όχι Τροπονίνης I οι

παραπάνω ασθενείς διακρίνονταν σε ασθενείς χωρίς ανάσπαση του ST διαστήματος ή με υψηλού κινδύνου ασταθή στηθάγχη [NSTEMI 73 (I21.4) ή UA (I20.0)].

Η διάγνωση του οξέος ισχαιμικού μη εμβολικού ΑΕΕ βασίστηκε στο ιστορικό (κλινική πορεία, συνδεδεμένα συμπτώματα), φυσική εξέταση (συμπεριλαμβανομένης της αξιολόγησης της νευρολογικής και καρδιακής λειτουργίας) και ακτινολογική μελέτη με CT εγκεφάλου χωρίς σκιαγραφικό εντός 6 μηνών. Περαιτέρω επιβεβαίωση πραγματοποιούνταν με πλήρη καρδιολογική αξιολόγηση (ιστορικό, φυσική εξέταση, ηλεκτροκαρδιογράφημα, διαθωρακικό υπερηχοκαρδιογράφημα) και Doppler υπερηχογράφημα καρωτιδών για να αποκλείεται μια καρδιακή ή / και καρωτιδική πηγή εμβόλων, και μια νέα CT εγκεφάλου όπου ενδεικνυόταν.

Η διάγνωση της ΠΑΝ έγινε με τη λήψη ενός πλήρους ιατρικού ιστορικού (συμπτώματα που σχετιζόνταν με διαλείπουσα χωλότητα), φυσική εξέταση (ψηλάφηση σφυγμού ή/και ανεύρεση φυσημάτων) και τον προσδιορισμό του σφυροβραχιόνιου δείκτη ( $\leq 0.9$ ) ή/και υπερηχογράφημα ή ιστορικό προηγούμενης αρτηριακής επέμβασης κάτω άκρου.

Τέλος, η διάγνωση της καρωτιδικής νόσου βασίστηκε στο ιστορικό (συμπτώματα που σχετιζόνταν με ΑΕΕ ή ΤΙΑ ή τύφλωση ή οφθαλμικό έλλειμμα) και νευρολογική εξέταση. Η στένωση καρωτιδικής αρτηρίας αξιολογήθηκε με υπερηχογράφημα Doppler. Επείγουσα απεικόνιση του εγκεφάλου και αξιολόγηση των αγγείων άνωθεν της αορτής με CT αγγειογραφία και μαγνητική αγγειογραφία πραγματοποιήθηκε σε όλους τους ασθενείς που παρουσίαζαν ΤΙΑ.

Η διάγνωση της κολπικής μαρμαρυγής επιβεβαιώθηκε από το ιατρικό ιστορικό αρρυθμίας και την απαιτούμενη τεκμηρίωση με ΗΚΓ.

## 6.2 Κριτήρια αποκλεισμού

Σημαντικά κριτήρια αποκλεισμού ήταν αντίδραση υπερευαισθησίας ή αντένδειξη για την κλοπιδογρέλη, ενεργός αιμορραγία ή ιστορικό σοβαρής αιμορραγίας (πεπτικό έλκος, τραύμα ή ενδοκρανιακή αιμορραγία), διαταραχές της πήξης του αίματος, ανεξέλεγκτη σοβαρή υπέρταση, εγκυμοσύνη ή θηλασμός, ηπατική νόσος (τιμές AST/ALT 3 φορές μεγαλύτερες από το ανώτερο φυσιολογικό όριο), ιστορικό χρήσης ναρκωτικών ή κατάχρησης αλκοόλ, χρόνια νεφρική νόσο σταδίων 3 έως 5 (υπολογιζόμενη GFR <60 ml / min / 1,73m<sup>2</sup>) ή ιστορικό κακοήθειας.

## 6.3 Σχεδιασμός της μελέτης

Από την 1<sup>η</sup> Οκτωβρίου του 2012 έως την 30<sup>η</sup> Σεπτεμβρίου 2013 1.864 διαδοχικοί ασθενείς ελέγχθηκαν προκειμένου να συμμετάσχουν στη μελέτη (Σχήμα 22). Η διαδικασία διαλογής γινόταν με την αξιολόγηση των συμπτωμάτων, τη λήψη ιατρικού ιστορικού και την καταγραφή δημογραφικών πληροφοριών και χορήγησης φαρμάκων, τη διεξαγωγή κλινικής εξέτασης, ηλεκτροκαρδιογραφήματος, υπερηχογραφήματος, ακτινογραφίας θώρακος, αξονικής τομογραφίας εγκεφάλου ή μαγνητικής τομογραφίας, προσδιορισμό του σφυροβραχιόνιου δείκτη ή άλλης απεικονιστικής τεχνικής, όπου ήταν αναγκαίο να καθοριστεί η διάγνωση, καθώς και αιματολογικές και βιοχημικές εργαστηριακές εξετάσεις, συμπεριλαμβανομένης γενικής αίματος, ηπατικών ενζύμων, κρεατινίνης και ανάλυσης ούρων. Κατά τη διάρκεια της αρχικής διαδικασίας ελέγχου, 4 ασθενείς αποκλείστηκαν επειδή δεν πληρούσαν τα κριτήρια ένταξης. Από τους υπόλοιπους 1.860 ασθενείς, 60 ασθενείς αρνήθηκαν να συμμετάσχουν, παρόλο που τους εξηγήθηκε πλήρως η διαδικασία της συμμετοχής. Έτσι, 1.800 ασθενείς εντάχθηκαν στη μελέτη και τυχαιοποιήθηκαν σε CHS ή CB. Μεταξύ αυτών, 1766 ασθενείς (886 στη CHS και 880 στην ομάδα CB) έλαβαν τελικά αγωγή, ενώ 34 ασθενείς (14 στην CHS και 20 στην CB) δεν έλαβαν αγωγή επειδή υποβλήθηκαν σε καρδιοχειρουργική επέμβαση (Σχήμα 22). Η

τελευταία ημερομηνία της επαφής των ασθενών ήταν η 8<sup>η</sup> Νοεμβρίου 2014 και η βάση δεδομένων οριστικοποιήθηκε την 21<sup>η</sup> Νοεμβρίου 2014.

### *7. Τυχαιοποίηση*

Μετά την καταγραφή, οι ασθενείς τυχαιοποιήθηκαν με αναλογία 1: 1 για να λάβουν είτε CHS είτε CB, από ένα κεντρικό μηχανογραφικό σύστημα που δημιουργήθηκε στο λογισμικό MSExcel, με ιεραρχική διαστρωμάτωση, σύμφωνα με την επιβεβαιωμένη διάγνωση (σταθερή ΣΝ, PCI, ισχαιμικό ΑΕΕ ή ΤΙΑ, ΠΑΝ, καρωτιδική νόσο, ΚΜ). Ο κατάλογος δόθηκε στους ερευνητές της μελέτης που στρατολόγησαν τους ασθενείς και τους κατέταξαν σε μία από τις δύο ομάδες.

### *8. Παρακολούθηση*

Η μελέτη είχε προγραμματιστεί για 12 μήνες. Επισκέψεις στα εξωτερικά ή ιδιωτικά ιατρεία είχαν προγραμματιστεί κάθε μήνα. Ενδιάμεση ανάλυση έγινε επίσης στους 6 μήνες παρακολούθησης.

### *9. Καταληκτικά σημεία μελέτης*

Το πρωτεύον καταληκτικό σημείο αποτελεσματικότητας (που ταξινομούνται σύμφωνα με το ICD-10-CM) ήταν το σύνθετο εμφράγματος μυοκαρδίου (I21), ΑΕΕ [ισχαιμικού (I63) ή αιμορραγικού (I60)], ή θανάτου από αγγειακά αίτια για το σύνολο της περιόδου παρακολούθησης. Ο θάνατος από αγγειακά αίτια οριζόταν ως ο θάνατος από καρδιακά (I46.2) ή εγκεφαλικά (I60-I69) αίτια. Άλλα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας ήταν το σύνθετο (έμφραγμα μυοκαρδίου, ΑΕΕ ή θανάτου από οποιαδήποτε αιτία), έμφραγμα μυοκαρδίου, ΑΕΕ (ισχαιμικό ή αιμορραγικό), ο θάνατος από αγγειακά αίτια, ο θάνατος μη αγγειακής αιτιολογίας (εκτός δηλαδή από τα καρδιαγγειακά αίτια και ΑΕΕ), ο θάνατος από οποιαδήποτε αιτία, PCI (Z98.61) και θρόμβωση stent (T82.857A) προηγούμενης PCI κατά τη διάρκεια της περιόδου παρακολούθησης.

Το πρωτεύον καταληκτικό σημείο ασφάλειας ήταν το ποσοστό των αιμορραγικών επεισοδίων, όπως οριζόταν από τα κριτήρια Bleeding Academic Research Consortium (BARC). Ο τύπος αιμορραγίας θα πρέπει να ορίζεται με βάση τα κριτήρια BARC ως εξής:

### **Τύπος 0**

-Χωρίς αιμορραγία

### **Τύπος 1**

-Αιμορραγία που δεν οδηγεί τον ασθενή να αναζητήσει θεραπεία.

### **Τύπος 2**

-Κάθε κλινικά εμφανής ένδειξη αιμορραγίας που μπορεί να αξιολογηθεί από έναν επαγγελματία υγειονομικής περίθαλψης και απαιτεί διαγνωστικές εξετάσεις, νοσηλεία ή θεραπεία.

### **Τύπος 3**

#### **Τύπος 3a**

-Εμφανής αιμορραγία συν πτώση αιμοσφαιρίνης 3 έως <5g / dL (υπό τον όρο ότι η πτώση της αιμοσφαιρίνης έχει σχέση με αιμορραγία).

-Κάθε μετάγγιση λόγω εμφανούς αιμορραγίας.

#### **Τύπος 3b**

-Εμφανής αιμορραγία συν πτώση αιμοσφαιρίνης  $\geq 5$  g / dL

(Υπό τον όρο ότι η πτώση της αιμοσφαιρίνης έχει σχέση με την αιμορραγία)

- Καρδιακός επιπωματισμός

- Η αιμορραγία που απαιτεί χειρουργική επέμβαση για τον έλεγχο (Εξαιρουμένων των οδοντιατρικών επεμβάσεων, αιμορραγία ρινική, δέρματος, αιμορροϊδων)



-Η αιμορραγία που απαιτεί ενδοφλέβια αγγειοδραστικά φάρμακα.

### **Τύπος 3c**

-Ενδοκρανιακή αιμορραγία (δεν περιλαμβάνονται μικροαιμορραγίες ή αιμορραγική μετατροπή, ενώ περιλαμβάνει ενδονωτιαία αιμορραγία).

-Υποκατηγορίες που επιβεβαιώνονται από αυτοψία ή απεικόνιση.

- Ενδοφθάλμια αιμορραγία που θέτει σε κίνδυνο την όραση.

### **Τύπος 4**

Αιμορραγία που σχετίζεται με CABG:

-Η περιεγχειρητική ενδοκρανιακή αιμορραγία εντός 48 ωρών.

-Νέα επέμβαση μετά το κλείσιμο της στερνοτομής με σκοπό τον έλεγχο της αιμορραγίας.

-Η μετάγγιση  $\geq 5$  μονάδων ολικού αίματος ή συμπυκνωμένων ερυθρών αιμοσφαιρίων εντός περιόδου 48 ωρών.

-Αν η παροχέτευση στο στήθος συσσωρεύει  $\geq 2$  L εντός 24 ωρών.

### **Τύπος 5**

Θανατηφόρα αιμορραγία

**Τύπος 5a** Πιθανή θανατηφόρα αιμορραγία: καμία επιβεβαίωση με αυτοψία ή απεικόνιση, αλλά κλινικά ύποπτη.

**Τύπος 5b** Βέβαιη θανατηφόρα αιμορραγία: εμφανής αιμορραγία ή αυτοψία ή επιβεβαίωση με απεικόνιση.

Τα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ασφάλειας περιλάμβαναν κνίδωση (73.907) με μόνιμη ή προσωρινή (1 έως 5 ημέρες) διακοπή κλοπιδογρέλης, προσωρινή (1 έως 5 ημέρες) διακοπή της κλοπιδογρέλης λόγω χειρουργικής επέμβασης, οδοντιατρικής επέμβασης, αιμορραγίας (BARC 1-3a) ή

προσωπικούς λόγους (για παράδειγμα οικονομικές δυσκολίες). Άλλα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ήταν η παροδική θρομβοπενία και η έναρξη της αντιπηκτικής θεραπείας λόγω νέας ΚΜ.

### *10. Βιοηθική*

Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την επιτροπή δεοντολογίας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ιωαννίνων και η μελέτη διεξήχθη σύμφωνα με την Διακήρυξη του Ελσίνκι και σύμφωνα με τη International Conference on Harmonised Tripartite Guideline for Good Clinical Practice. Γραπτή συγκατάθεση ελήφθη από κάθε επιλέξιμο ασθενή πριν από τη διαδικασία διαλογής.

### *11. Στατιστική ανάλυση*

Η κύρια ανάλυση σχεδιάστηκε για να ελεγχθεί εάν τα δυο σκευάσματα κλοπιδογρέλης ήταν ισοδύναμα, μέσα σε μια περίοδο παρακολούθησης 6 και εν συνεχεία 12 μηνών, όσον αφορά το πρωτεύον καταληκτικό σημείο, με 80% στατιστική ισχύ. Για να ικανοποιηθεί η υπόθεση ισοδυναμίας, τα κατώτερα και ανώτερα όρια διαστήματος εμπιστοσύνης δύο όψεων 95% (CI) για την αναλογία πιθανοτήτων (odds-ratio, OR) ενός αποτελέσματος απαιτούνταν να μειωθούν μεταξύ 0.90 και 1.25. Αυτή η ισοδυναμία διαστημάτων προήλθε από τη μελέτη παρόμοιων κλινικών μελετών αλάτων κλοπιδογρέλης σε ασθενείς με στεφανιαία νόσο. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε ανάλυση μη κατωτερότητας της CB εναντίον CHS θέτοντας την OR του καταληκτικού σημείου μικρότερη από 1.25 (στατιστική ισχύς = 83%). Η ανάλυση των δεδομένων διενεργήθηκε με βάση την αρχή «πρόθεση για θεραπεία» [intent-to-treat (ITT)], ενώ και ανάλυση κάθε πρωτοκόλλου επίσης πραγματοποιήθηκε προκειμένου να συγκριθούν τα ευρήματα από τις δύο προσεγγίσεις. Τιμές από συνεχείς μεταβλητές παρουσιάζονται ως μέση και τυπική απόκλιση (SD), ενώ κατηγορικές μεταβλητές εκφράζονται ως μετρήσεις και ποσοστά. Μοντέλα λογιστικής παλινδρόμησης, προσαρμοσμένα για την ηλικία, το φύλο και ιστορικό PCI (λόγω έλλειψης απόλυτα ταιριαστών χαρακτηριστικών κατά τη

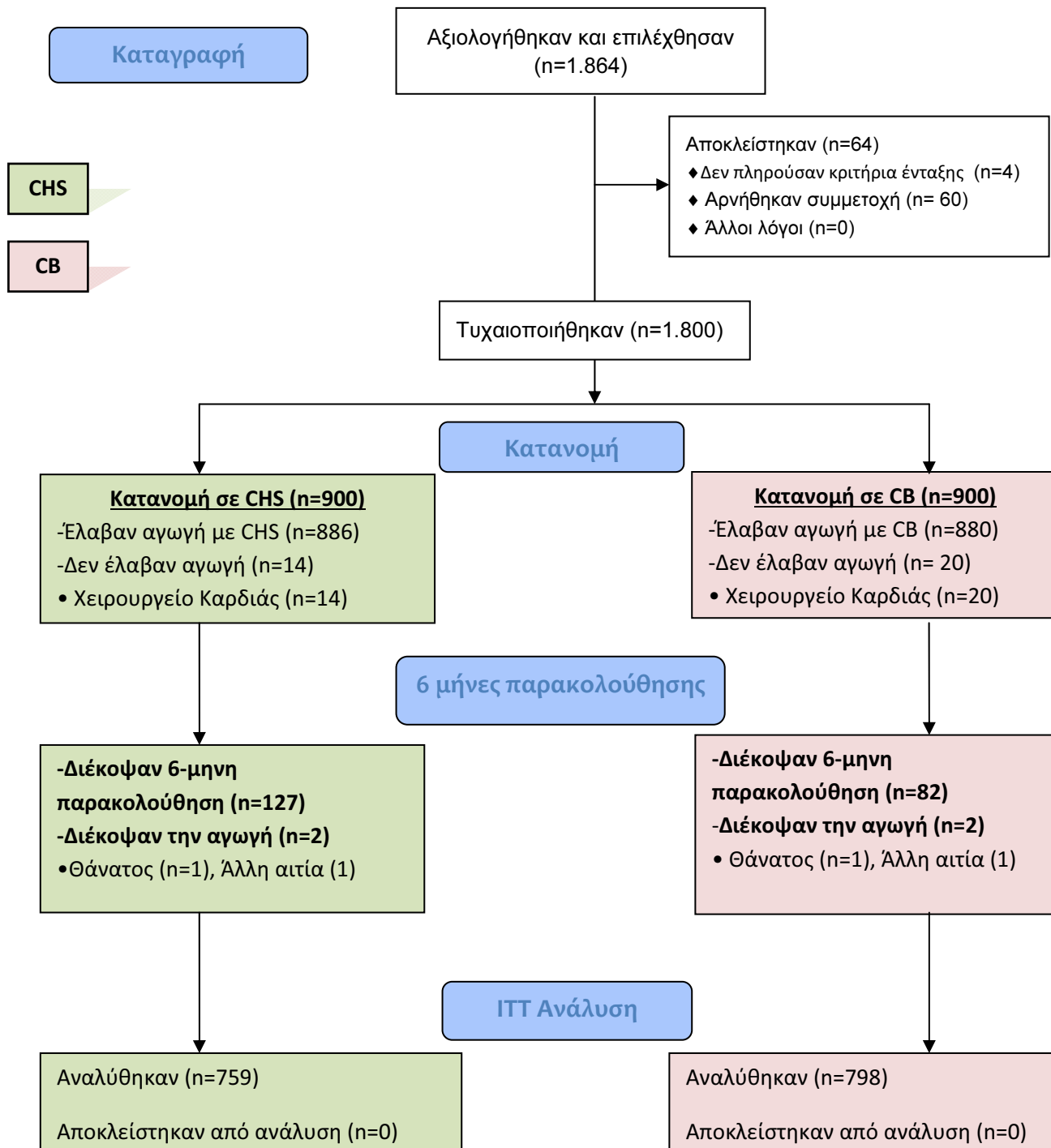
τυχαιοποίηση) χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό των OR, 95% CI και τιμών στατιστικής σημαντικότητας (*p-values*). Επιπρόσθετα η μέθοδος Hosmer-Lemeshow χρησιμοποιήθηκε για να αξιολογήσει τα μοντέλα goodness of fit, ενώ η μέθοδος Chi-square χρησιμοποιήθηκε για να συγκρίνει τις συχνότητες διακοπής των φαρμάκων και ανεπιθύμητων ενεργειών. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι για την ανάλυση του 6μηνου ο υπολογισμός του  $p_{non-inferiority}$  για CB έναντι CHS στηρίχθηκε στην υπόθεση  $H_0:OR < 1.25$  (δηλαδή η θεραπεία CB δεν είναι κατώτερη της θεραπείας CHS έως το επίπεδο ανοχής 1.25) με εναλλακτική  $H_A:OR \geq 1.25$ , οπότε αν η τιμή  $p_{non-inferiority} \geq 0.05$  τότε δεν θα απορρίπταμε την υπόθεση  $H_0$  και συνεπώς θα δεχόμασταν τη μη κατωτερότητα της CB έναντι της CHS. Στην ανάλυση του 12μηνου ο υπολογισμός του  $p_{non-inferiority}$  για CB έναντι CHS στηρίχθηκε στην υπόθεση  $H_0:OR \geq 1.25$  με εναλλακτική  $H_A:OR < 1.25$  (δηλαδή η θεραπεία CB δεν είναι κατώτερη της θεραπείας CHS έως το επίπεδο ανοχής 1.25) οπότε αν η τιμή  $p_{non-inferiority} < 0.05$  τότε θα απορρίπταμε την υπόθεση  $H_0$  και θα δεχόμασταν την υπόθεση  $H_A$ , δηλαδή ότι η θεραπεία CB δεν ήταν κατώτερη της θεραπείας CHS σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας  $< 5\%$ . Διάφορες αλληλεπιδράσεις χαρακτηριστικών των ασθενών αξιολογήθηκαν επίσης και αναφέρονταν όταν ήταν σημαντικές ( $p < 0.05$ ). Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη χρήση του IBM SPSS® software, version 21 (IBM Co., Minneapolis, IL, USA).



## **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

### *12. Αποτελέσματα 6μηνιας παρακολούθησης*

Μεταξύ των 1.766 ασθενών που έλαβαν αγωγή, 1.557 ασθενείς (759 στη CHS και 798 στην ομάδα CB) ολοκλήρωσαν την 6μηνια παρακολούθηση, ενώ 127 ασθενείς στην ομάδα CHS και 82 ασθενείς στην ομάδα CB διέκοψαν την παρακολούθηση (Σχήμα 22). Μεταξύ αυτών, 38 ασθενείς στην ομάδα CHS και 27 ασθενείς στην ομάδα CB εμφάνισαν ΚΜ και έγινε αντικατάσταση της κλοπιδογρέλης με ανταγωνιστές της βιταμίνης Κ ή με νέα από του στόματος αντιπηκτικά μέσα στον πρώτο μήνα της καταγραφής. Επιπλέον, 35 ασθενείς με σταθερή ΣΝ, 34 ασθενείς με ΑΕΕ / ΤΙΑ, 8 ασθενείς με ΠΑΝ και 12 ασθενείς με νόσο καρωτίδων στην ομάδα CHS και 33 με σταθερή ΣΝ, 13 με ΑΕΕ / ΤΙΑ, 5 με ΠΑΝ και 4 ασθενείς με νόσο καρωτίδων στην ομάδα CB σταμάτησαν την κλοπιδογρέλη και άλλαξαν σε ασπιρίνη κατά τον πρώτο μήνα μετά τη στρατολόγησή τους, για προσωπικούς λόγους (κυρίως οικονομικές δυσκολίες).



Σχήμα 22: Διάγραμμα CONSORT Flow 6μηνης παρακολούθησης

Συνομογραφίες: CHS-Οξίνη θεϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσυλική κλοπιδογρέλη, ITT-intent-to-treat.

Τα αρχικά χαρακτηριστικά των ασθενών που ολοκλήρωσαν την παρακολούθηση 6 μηνών φαίνονται στον Πίνακα 3. Οι ασθενείς στην ομάδα CHS εμφάνισαν ελαφρώς χαμηλότερη μέση ηλικία και υψηλότερη αναλογία ανδρών/γυναικών, η οποία ελήφθη υπόψη κατά την ανάλυση που ακολούθησε. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των ομάδων στην ειδική διάγνωση των ασθενών, με την εξαίρεση του αριθμού των ασθενών που υποβλήθηκαν σε PCI, η οποία ήταν σημαντικά υψηλότερη στην CHS σύγκριση με την ομάδα CB (Πίνακας 3). Καμία διαφορά μεταξύ των ομάδων δεν παρατηρήθηκε στο ιατρικό ιστορικό, καθώς επίσης και σε μείζονα φάρμακα που χορηγούνταν κατά τη συμμετοχή στη μελέτη (Πίνακας 3).

<b>Χαρακτηριστικά ασθενών</b>	<b>CHS (n=759)</b>	<b>CB (n=798)</b>	<b><i>P</i></b>
<b>Δημογραφικά</b>			
Ηλικία, έτη	68.3 ±11.3	70.6±10.7	<0.001
ΔΜΣ, kg / m <sup>2</sup>	27.7±3.8	27.8±3.7	0.43
Άρρεν / θήλυ, n	530/229	498/300	0.002
<b>Διάγνωση, n (%)</b>			
Σταθερή ΣΝ	248 (32.6)	270 (33.8)	0.50
PCI	203 (26.7)	167 (20.9)	<0.001
ΑΕΕ ή ΤΙΑ	143 (18.8)	167 (20.9)	0.64
ΠΑΝ	50 (6.6)	63 (7.9)	0.71
Νόσος καρωτίδων	83 (10.9)	90 (11.3)	0.59
Κολπική μαρμαρυγή	32 (4.2)	41 (5.1)	0.47
<b>Ιατρικό ιστορικό, n (%)</b>			
Κάπνισμα	348 (45.8)	348 (43.6)	0.37
Υπέρταση	595 (78.4)	615 (77.1)	0.53
Υπερλιπιδαιμία	573 (75.5)	587 (73.6)	0.38
Οικογενειακό ιστορικό ΣΝ	114 (15.0)	114 (14.3)	0.68
Σακχαρώδης διαβήτης	234 (30.8)	239 (29.9)	0.70
Μεταβολικό σύνδρομο	289 (38.0)	290 (36.3)	0.47
Ηπατική νόσος	1 (0.1)	3 (0.4)	0.34
ΧΝΝ σταδίου 1-2	32 (4.2)	30 (3.8)	0.64
Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια	47 (6.2)	58 (7.3)	0.39
Νόσο θυρεοειδούς	32 (4.2)	41 (5.1)	0.39
Βαλβιδοπάθεια	35 (4.6)	45 (5.6)	0.35
Αιμορραγία	12 (1.6)	9 (1.1)	0.43



Κυριότερα φάρμακα, n (%)			
Ασπιρίνη	261 (34.4)	256 (32.1)	0.33
Στατίνες	633 (83.3)	644 (80.7)	0.51
Αντιδιαβητικά	172 (22.7)	186 (23.3)	0.67
Αντιυπερτασικά	595 (78.4)	615 (77.1)	0.53
PPIs	248 (32.6)	260 (32.6)	0.61

Πίνακας 3. Χαρακτηριστικά των ασθενών που ολοκλήρωσαν την παρακολούθηση 6 μηνών. Συντομογραφίες: CHS-Όξινη θειϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσουλκή κλοπιδογρέλη, ΔΜΣ-Δείκτης μάζας σώματος, PCI-Διαδερμική στεφανιαία παρέμβαση, ΣΝ-Στεφανιαία νόσος, ΑΕΕ-Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, ΤΙΑ-παροδικό ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, ΠΑΝ-Περιφερική αρτηριακή νόσος, ΧΝΝ-Χρόνια νεφρική νόσο, PPIs-Αναστολείς αντλίας πρωτονίων.

### 12.1 Καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας

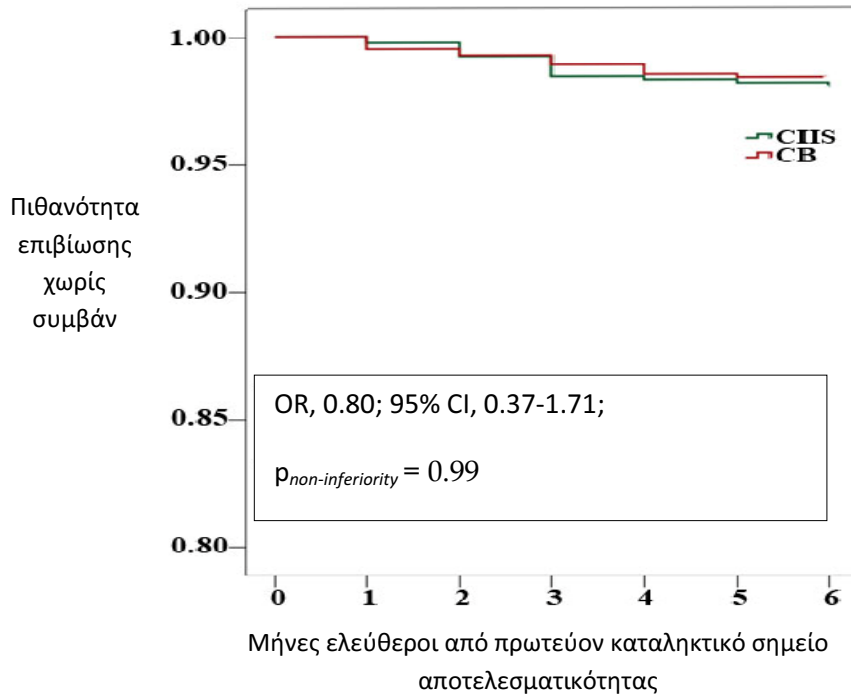
Στην ενδιάμεση ανάλυση στους 6 μήνες παρακολούθησης, το πρωτεύον τελικό σημείο του εμφράγματος μυοκαρδίου, ΑΕΕ ή θανάτου από αγγειακά αίτια παρατηρήθηκε σε 16 ασθενείς (2.1%) στην ομάδα CHS, σε σύγκριση με 13 ασθενείς (1.6%) στην ομάδα CB (OR, 0.80; 95% CI, 0.37-1.71;  $p = 0.57$ ,  $p_{non-inferiority}=0.99$ ) (Σχήμα 23 και Πίνακας 4). Όσον αφορά το διαφορετικό αριθμό ασθενών που υποβλήθηκαν σε PCI, έγινε εξειδικευμένη ανάλυση στους ασθενείς με ιστορικό PCI, χωρίς να εμφανίζεται διαφορά στη δράση των αλάτων κλοπιδογρέλης (με ιστορικό PCI, OR 1.14; 95% CI 0.39 - 3.34;  $p=0.82$ , χωρίς ιστορικό PCI, OR 0.56; 95% CI 0.21-1.64;  $p=0.31$ ). Το μείζον δευτερεύον καταληκτικό σημείο αποτελεσματικότητας εμφράγματος μυοκαρδίου, ΑΕΕ ή θανάτου από οποιαδήποτε αιτία παρατηρήθηκε σε 18 ασθενείς (2.3%) στην ομάδα CHS, σε σύγκριση με 17 ασθενείς (2.1%) στην ομάδα CB (OR 0.89; 95% CI, 0.46-1.77;  $p=0.75$ ,  $p_{non-inferiority}=0.99$ ) (Σχήμα 24 και Πίνακας 4). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο αλάτων κλοπιδογρέλης όταν η ανάλυση έγινε με βάση το ιστορικό PCI (ιστορικό PCI, OR 0.86; 95% CI

0.39-1.92;  $p=0.72$ , χωρίς ιστορικό PCI, OR 1.28;95% CI 0.51-3.57;  $p=0.60$ ). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές επίσης στα άλλα δευτερεύοντα τελικά σημεία αποτελεσματικότητας μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών (Πίνακας 4). Τέλος, δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο ομάδων ασθενών και των ηλικιών των ασθενών ( $p=0.25$ ), το φύλο ( $p=0.52$ ) ή ιστορικό PCI ( $p=0.38$ ) στα μελετημένα τελικά σημεία αποτελεσματικότητας.

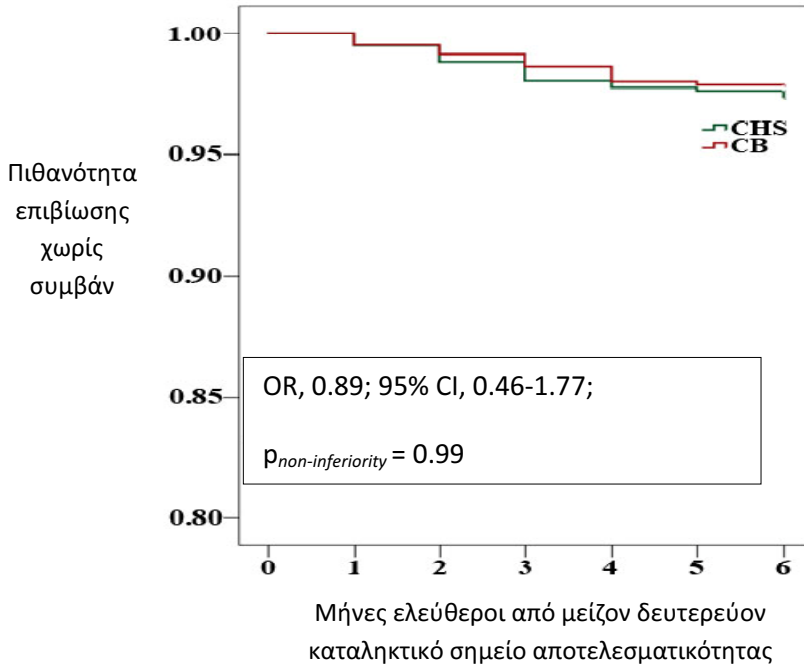
Καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας	CHS (n=759)	CB (n=798)	Odds Ratio** (95% CI) για CB έναντι CHS	P
<b>Πρωτεύον, n (%)*</b>				
Έμφραγμα μυοκαρδίου, ΑΕΕ ή θάνατος από αγγειακά αίτια	16 (2.1)	13 (1.6)	0.80 (0.37-1.71)	0.57
<b>Δευτερεύοντα, n (%)*</b>				
Έμφραγμα μυοκαρδίου, ΑΕΕ ή θάνατος από οποιαδήποτε αιτία	18 (2.3)	17 (2.1)	0.89 (0.46-1.77)	0.75
Έμφραγμα μυοκαρδίου	8 (1.1)	8 (1.0)	1.12 (0.41-3.07)	0.83
ΑΕΕ	8 (1.1)	5 (0.6)	0.54 (0.17-1.67)	0.29
Ισχαιμικό	7 (0.9)	4 (0.5)	0.58 (0.16-2.12)	0.41
Αιμορραγικό	1 (0.1)	1 (0.1)	0.97 (0.06-15.2)	0.99
Θάνατος από αγγειακά αίτια	1 (0.1)	1 (0.1)	0.85 (0.04-15.2)	0.91
Θάνατος μη αγγειακής αιτιολογίας	2 (0.3)	4 (0.5)	2.41 (0.42-13.7)	0.32
Θάνατος από οποιαδήποτε αιτία	3 (0.4)	5 (0.6)	1.59 (0.38-6.67)	0.52
PCI	8 (1.1)	7 (0.9)	1.03 (0.36-2.95)	0.95
Θρόμβωση stent	1 (0.1)	1 (0.1)	1.49 (0.09-24.5)	0.78

Πίνακας 4. Πρωτεύον και δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας στους 6 μήνες παρακολούθησης. Συντομογραφίες: CHS-Οξίνη θεϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσλική κλοπιδογρέλη, ΑΕΕ-Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, PCI-Διαδερμική στεφανιαία παρέμβαση, CI-Confidence Interval (Διάστημα εμπιστοσύνης).

\* Τα αναγραφόμενα ποσοστά είναι επί του συνόλου των ασθενών σε κάθε ομάδα ξεχωριστά. \*\* Προσαρμοσμένα για ηλικία, φύλο, ιστορικό PCI.



Σχήμα 23. Καμπύλη Kaplan-Meier των ασθενών για το πρωτεύον καταληκτικό σημείο αποτελεσματικότητας του σύνθετου εμφράγματος του μυοκαρδίου, ΑΕΕ (ισχαιμικού ή αιμορραγικού) ή θανάτου από αγγειακά αίτια στους 6 μήνες παρακολούθησης. Σύντομογραφίες: CHS-Οξίνη θεϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσουλκή κλοπιδογρέλη, OR-Odds Ratio (Αναλογία πιθανοτήτων), CI-Confidence Interval (Διάστημα εμπιστοσύνης).



Σχήμα 24. Καμπύλη Kaplan-Meier των ασθενών για το μείζον δευτερεύον καταληκτικό σημείο αποτελεσματικότητας του σύνθετου εμφράγματος του μυοκαρδίου, ΑΕΕ (ισχαιμικού ή αιμορραγικού) ή θανάτου από οποιαδήποτε αιτία στους 6 μήνες παρακολούθησης. Συντομογραφίες: CHS-Οξίνη θεϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσλική κλοπιδογρέλη, OR-Odds Ratio (Αναλογία πιθανοτήτων), CI-Confidence Interval (Διάστημα εμπιστοσύνης).

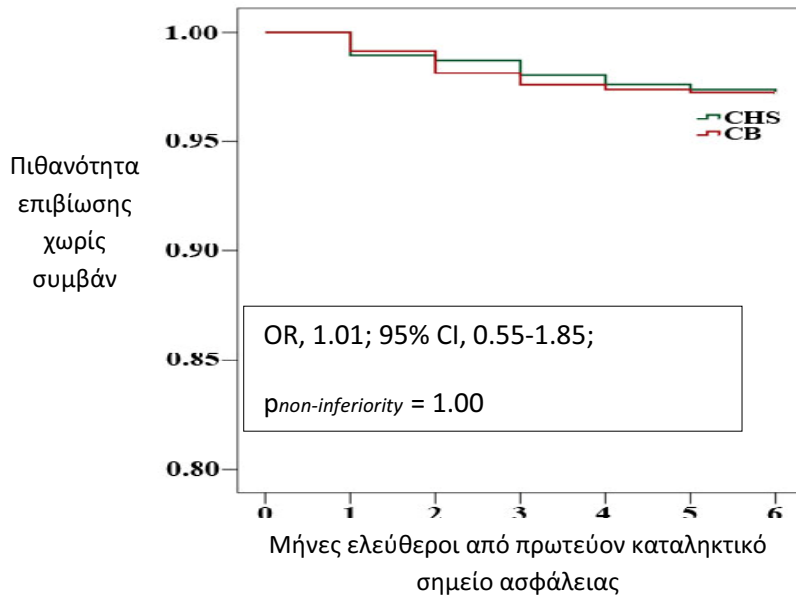
## 12.2 Καταληκτικά σημεία ασφάλειας

Το πρωτεύον τελικό σημείο ασφάλειας αιμορραγίας σύμφωνα με τα κριτήρια BARC παρουσιάστηκε σε 22 ασθενείς (2.9%) στην ομάδα CHS, σε σύγκριση με 23 ασθενείς (2.9%) στην ομάδα CB (OR 1.01; 95% CI, 0.55-1.85;  $p=0.98$   $p_{non-inferiority}=1.00$ ) (Σχήμα 25 και Πίνακας 5). Ποσοστά αιμορραγιών BARC-1, -2, -3a και -5b ήταν παρόμοια μεταξύ των δύο ομάδων μελέτης ενώ δεν παρατηρήθηκαν αιμορραγικά επεισόδια που να ανήκαν στις υποομάδες BARC-3b, -3c, -4 και -5a (Πίνακας 5). Ενδοκρανιακή αιμορραγία παρατηρήθηκε σε έναν ασθενή σε κάθε ομάδα (0.1%) (OR 0.85; 95% CI, 0.04-15.27;  $p=0.91$ ) και ήταν θανατηφόρες. Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στα δευτερεύοντα τελικά σημεία ασφάλειας μεταξύ CB και CHS [43 συμβάντα (5.4%), και 28 συμβάντα (3.7%) αντίστοιχα, OR 1.34, 95% CI 0.85-2.11,  $p=0.22$ ] (Πίνακας 5). Τέλος, δεν υπήρχαν σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ της ομάδας θεραπείας και της ηλικίας του ασθενούς ( $p = 0.98$ ), το φύλο ( $p=0.83$ ) ή το ιστορικό PCI ( $p=0.52$ ) στα μελετημένα τελικά σημεία ασφάλειας.

<b>Καταληκτικά σημεία ασφάλειας</b>	<b>CHS (n=759)</b>	<b>CB (n=798)</b>	<b>Odds Ratio** (95% CI) για CB έναντι CHS</b>	<b>P</b>
<b>Πρωτεύοντα, n (%)*</b>	22 (2.9)	23 (2.9)	1.01 (0.55-1.85)	0.98
BARC 1	14 (1.8)	19 (2.4)	1.27 (0.62-2.62)	0.49
BARC 2	5 (0.7)	1(0.1)	0.24 (0.02-2.15)	0.20
BARC 3a	2 (0.3)	2 (0.3)	0.91 (0.12-6.67)	0.93
BARC 3b	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A
BARC 3c	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A
BARC 4	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A
BARC 5a	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A
BARC 5b	1 (0.1)	1 (0.1)	0.85 (0.04-15.27)	0.91
<b>Δευτερεύοντα, n (%)*</b>	28 (3.7)	43 (5.4)	1.34 (0.85-2.11)	0.22
Κνίδωση	3 (0.4)	4 (0.5)	1.29 (0.27-5.96)	0.74
προσωρινή διακοπή	2 (0.3)	3 (0.4)	1.20 (0.19-7.44)	0.84
μόνιμη διακοπή	1 (0.1)	1 (0.1)	1.44 (0.08-23.68)	0.79
Προσωρινή διακοπή οφειλόμενη σε χειρουργική επέμβαση	1 (0.1)	8 (1.0)	6.05 (0.07-49.16)	0.09
Προσωρινή διακοπή οφειλόμενη σε οδοντιατρική επέμβαση	2 (0.3)	3 (0.4)	1.71 (0.27-10.73)	0.56
Προσωρινή διακοπή οφειλόμενη σε προσωπικούς λόγους	2 (0.3)	8 (1.0)	4.00 (0.82-19.35)	0.08
Προσωρινή διακοπή οφειλόμενη σε αιμορραγία	18 (2.4)	18 (2.3)	0.93 (0.47-1.83)	0.84
Παροδική θρομβοπενία	1 (0.1)	1 (0.1)	0.97 (0.05-16.32)	0.98
Έναρξη αντιπηκτικής θεραπείας λόγω νέας ΚΜ	1 (0.1)	1 (0.1)	1.04 (0.06-18.01)	0.97

Πίνακας 5. Πρωτεύοντα και δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ασφάλειας στους 6 μήνες παρακολούθησης. Συντομογραφίες: CHS-Οξίνη θειϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσλική κλοπιδογρέλη, BARC-Bleeding Academic Research Consortium, ΚΜ-Κολπική μαρμαρυγή, CI-Confidence Interval (Διάστημα εμπιστοσύνης).

\* Τα αναγραφόμενα ποσοστά είναι επί του συνόλου των ασθενών σε κάθε ομάδα ξεχωριστά. \*\* Προσαρμοσμένα για ηλικία, φύλο, ιστορικό PCI.



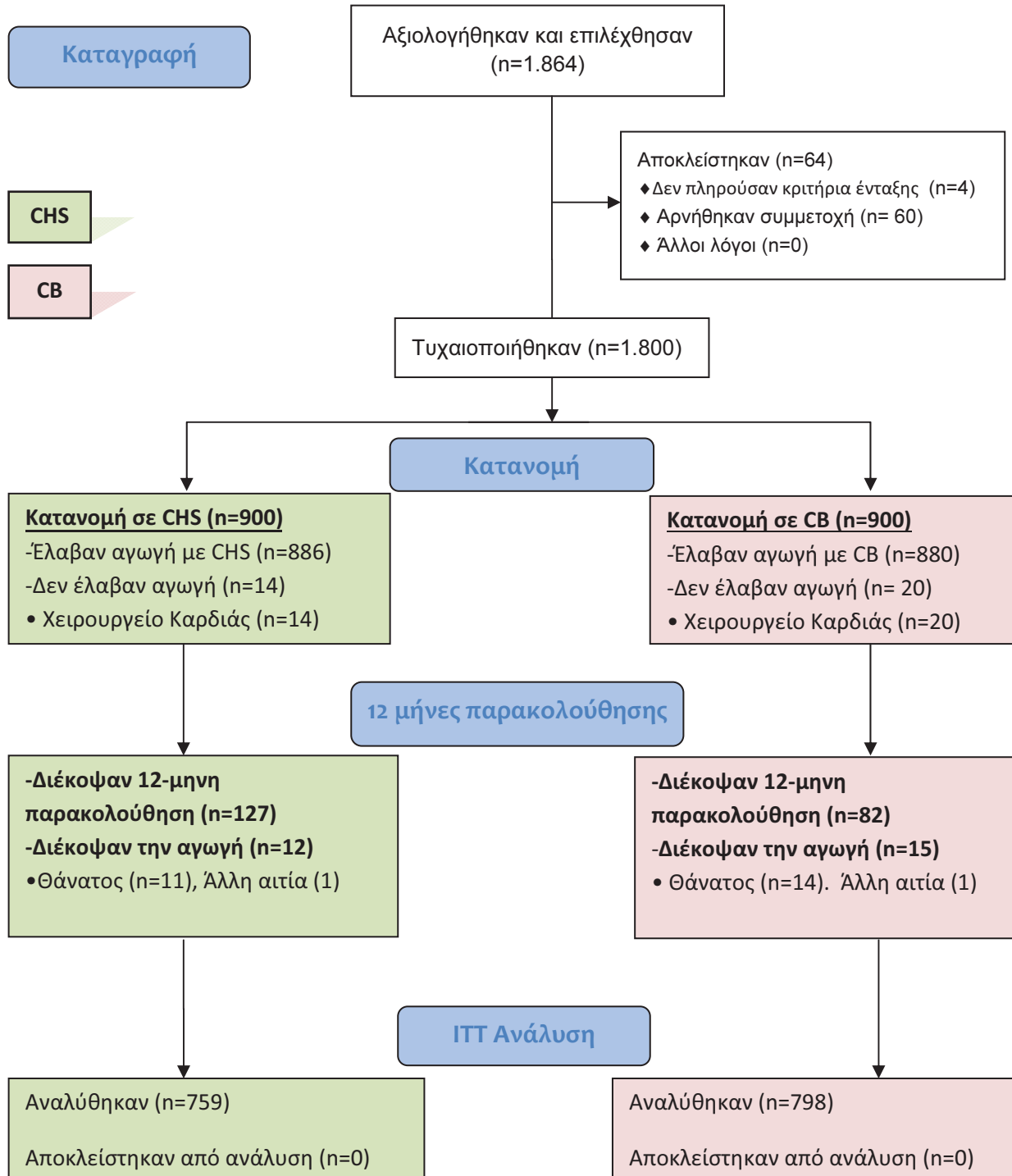
Σχήμα 25. Καμπύλη Kaplan-Meier των ασθενών για το πρωτεύον καταληκτικό σημείο ασφάλειας αιμορραγίας στους 6 μήνες παρακολούθησης.

Συντομογραφίες: CHS-Οξίνη θεϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσλική κλοπιδογρέλη, OR-Odds Ratio (Αναλογία πιθανοτήτων), CI-Confidence Interval (Διάστημα εμπιστοσύνης).



### *13. Αποτελέσματα 12μηνης παρακολούθησης*

Μεταξύ των 1.766 ασθενών που έλαβαν αγωγή, 1.557 ασθενείς (759 στη CHS και 798 στην ομάδα CB) ολοκλήρωσαν τη 12μηνη παρακολούθηση, ενώ 127 ασθενείς στην ομάδα CHS και 82 ασθενείς στην ομάδα CB διέκοψαν την παρακολούθηση (Σχήμα 26). Τα χαρακτηριστικά των ασθενών που ολοκλήρωσαν την παρακολούθηση 12 μηνών ήταν τα ίδια με εκείνα των 6 μηνών και καταγράφονται στον πίνακα 3.



Σχήμα 26: Διάγραμμα CONSORT Flow 12μηνια παρακολούθησης.

Συντομογραφίες: CHS- Όξινη θεϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσλική κλοπιδογρέλη, ITT-intent-to-treat.

### 13.1 Καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας

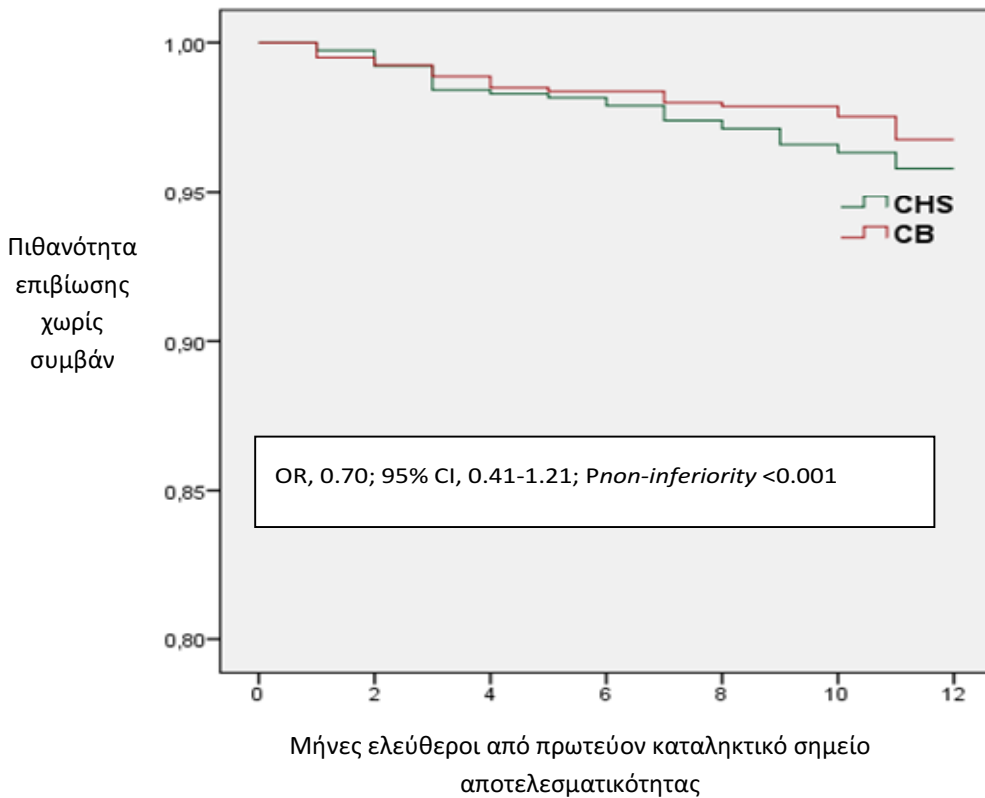
Στους 12 μήνες παρακολούθησης, το πρωτεύον καταληκτικό σημείο εμφράγματος μυοκαρδίου, ΑΕΕ ή θανάτου από αγγειακά αίτια παρατηρήθηκε σε 32 ασθενείς (4.2%) στην ομάδα CHS και σε 26 ασθενείς (3.2%) στην ομάδα CB (προσαρμοσμένα για ηλικία, φύλο, ιστορικό PCI, OR 0.70; 95% CI, 0.41 έως 1.21,  $p=0.21$ ,  $p_{non-inferiority} < 0.001$ ) (Σχήμα 27 και Πίνακας 2). Να σημειωθεί ότι στην ομάδα CB ο θάνατος ενός ασθενούς που απεβίωσε λόγω κοιλιακής ταχυκαρδίας εξαιτίας υπερκαλιαιμίας ταξινομήθηκε στους θανάτους από αγγειακά αίτια, ένας ασθενής υπέστη αρχικά έμφραγμα μυοκαρδίου και κατά την νοσηλεία του απεβίωσε λόγω κοιλιακής μαρμαρυγής και ένας ακόμη ασθενής υπέστη αρχικά ισχαιμικό ΑΕΕ και απεβίωσε μετά από ένα μήνα από άλλη αιτία (σηπτικό shock).

Όσον αφορά τους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε PCI, η ανάλυση που εφαρμόστηκε δεν έδειξε διαφορές στο πρωτεύον καταληκτικό σημείο αποτελεσματικότητας μεταξύ των δύο αλάτων κλοπιδογρέλης όσον αφορά τους ασθενείς που υποβλήθηκαν σε PCI (προσαρμοσμένα για ηλικία, φύλο OR 1.14; 95% CI 0.39 - 3.34) και σε ασθενείς που δεν υποβλήθηκαν σε PCI (προσαρμοσμένα για ηλικία, φύλο OR 0.56; 95% CI 0.21-1.64).

<b>Καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας</b>	<b>CHS (n=759)</b>	<b>CB (n=798)</b>	<b>Odds Ratio ** (95% CI) για CB έναντι CHS</b>	<b>P</b>
<b>Πρωτεύον, n (%)*</b>				
Έμφραγμα μυοκαρδίου, ΑΕΕ ή θάνατος από αγγειακά αίτια	32 (4.2)	26 (3.2)	0.70 (0.41-1.21)	0.21
<b>Δευτερεύοντα, n (%)*</b>				
Έμφραγμα μυοκαρδίου, ΑΕΕ ή θάνατος από οποιαδήποτε αιτία	38 (5.0)	36 (4.5)	0.85 (0.52-1.37)	0.51
Έμφραγμα μυοκαρδίου	14 (1.8)	12 (1.5)	0.88 (0.39-1.95)	0.75
ΑΕΕ	18 (2.3)	13 (1.6)	0.56 (0.26-1.17)	0.12
Ισχαιμικό	15 (1.9)	12 (1.5)	0.62 (0.28-1.37)	0.24
Αιμορραγικό	3 (0.3)	1 (0.1)	0.25 (0.02-2.50)	0.24
Θάνατος από αγγειακά αίτια	5 (0.6)	3 (0.3)	0.42 (0.09-1.80)	0.24
Θάνατος μη αγγειακής αιτιολογίας	6 (0.7)	11 (1.3)	1.85 (0.66-5.17)	0.23
Θάνατος από οποιαδήποτε αιτία	11 (1.4)	14 (1.7)	1.13 (0.50-2.57)	0.75
PCI	12 (1.5)	11 (1.3)	1.11 (0.47-2.60)	0.80
Θρόμβωση stent	1 (0.1)	1 (0.1)	1.44 (0.08-23.87)	0.79

Πίνακας 6. Πρωτεύον και δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας στους 12 μήνες παρακολούθησης. Συντομογραφίες: CHS-Όξινη θειϊκή Κλοπιδογρέλη, CB-Βεσλική κλοπιδογρέλη, ΑΕΕ-Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, PCI-Διαδερμική στεφανιαία παρέμβαση, CI-Confidence Interval (Διάστημα εμπιστοσύνης).

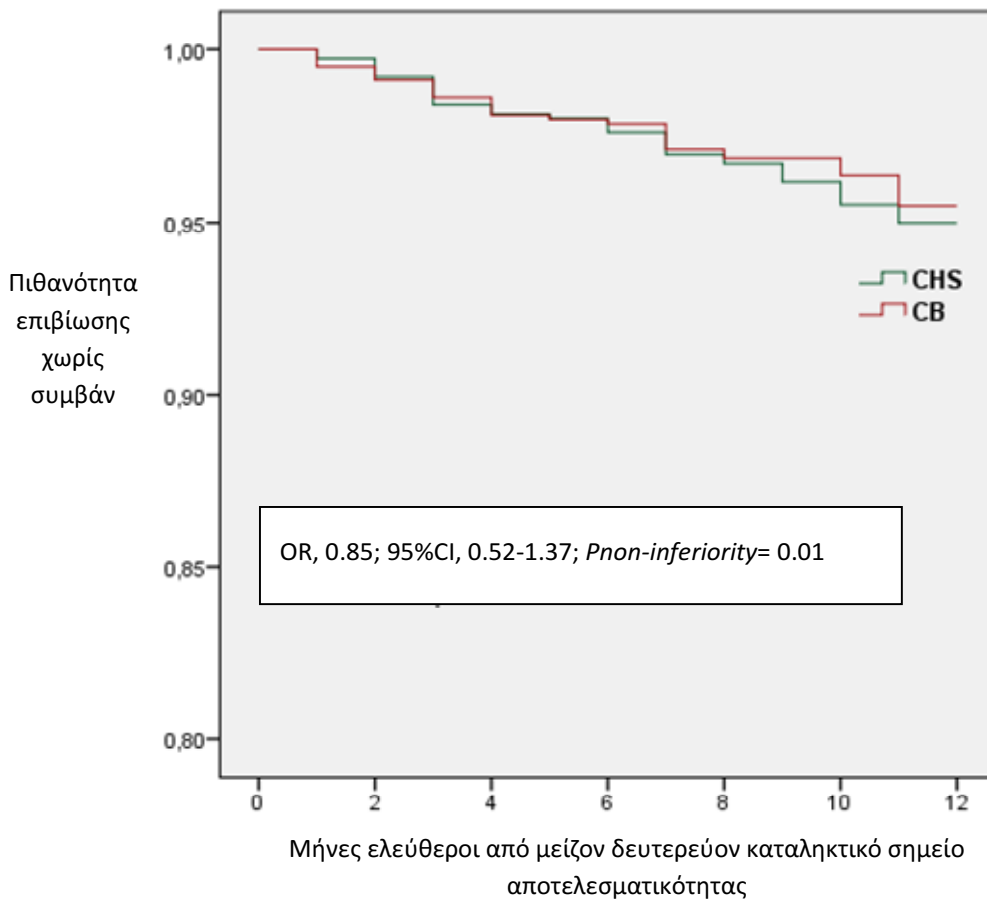
\* Τα αναγραφόμενα ποσοστά είναι επί του συνόλου των ασθενών σε κάθε ομάδα ξεχωριστά. \*\* Προσαρμοσμένα για ηλικία, φύλο, ιστορικό PCI.



Σχήμα 27. Καμπύλη Kaplan-Meier των ασθενών για το πρωτεύον καταληκτικό σημείο αποτελεσματικότητας του σύνθετου εμφράγματος του μυοκαρδίου, ΑΕΕ (ισχαιμικό ή αιμορραγικό) ή θανάτου από αγγειακά αίτια στους 12 μήνες παρακολούθησης. Συντομογραφίες: CHS-Οξίνη θεϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσυλική κλοπιδογρέλη, OR-Odds Ratio (Αναλογία πιθανοτήτων), CI-Confidence Interval (Διάστημα εμπιστοσύνης).

Το μείζον δευτερεύον καταληκτικό σημείο αποτελεσματικότητας εμφράγματος μυοκαρδίου, ΑΕΕ ή θανάτου από οποιαδήποτε αιτία παρατηρήθηκε σε 38 ασθενείς (5.0%) στην ομάδα CHS, σε σύγκριση με 36 ασθενείς (4.5%) στην ομάδα CB (προσαρμοσμένα για ηλικία, φύλο, ιστορικό PCI, OR 0.85; 95% CI, 0.52-1.37,  $p=0.51$ ,  $p_{non-inferiority}=0.01$ ) (Σχήμα 28 και Πίνακας 6). Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο αλάτων κλοπιδογρέλης όταν η ανάλυση έγινε με βάση το ιστορικό PCI (OR 0.86; 95% CI 0.39-1.92) και χωρίς ιστορικό PCI (OR 1.28; 95% CI 0.51-3.57). Δεν

παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές επίσης στα άλλα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών (Πίνακας 6).



Σχήμα 28: Καμπύλη Kaplan-Meier των ασθενών για το μείζον δευτερεύον καταληκτικό σημείο αποτελεσματικότητας του σύνθετου εμφράγματος του μυοκαρδίου, ΑΕΕ (ισχαιμικού ή αιμορραγικού) ή θανάτου από οποιαδήποτε αιτία στους 12 μήνες παρακολούθησης. Συντομογραφίες: CHS-Όξινη θειϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσλική κλοπιδογρέλη, OR-Odds Ratio (Αναλογία πιθανοτήτων), CI-Confidence Interval (Διάστημα εμπιστοσύνης).

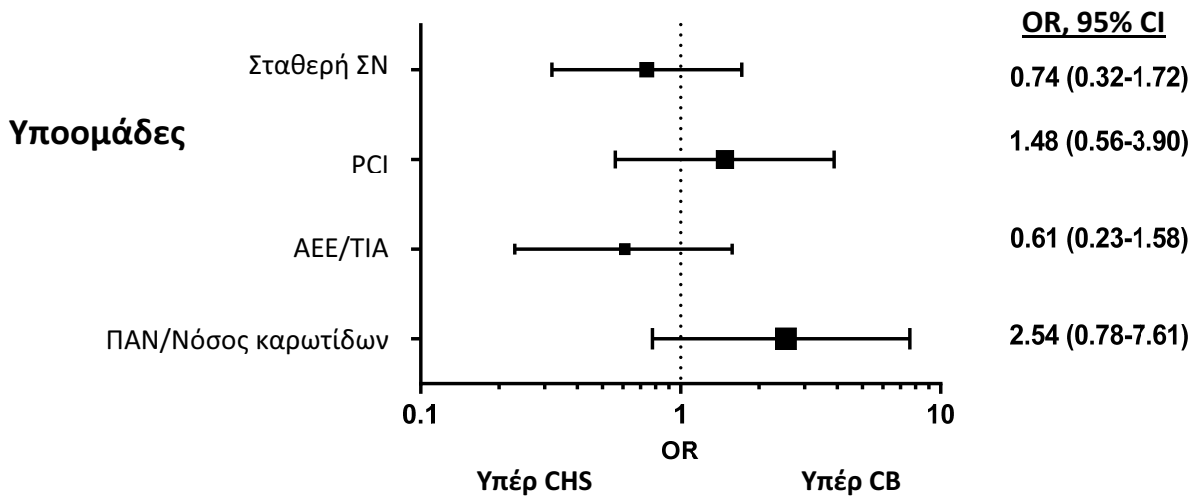
Αναλύσεις αποτελεσματικότητας σε υποομάδες οι οποίες καθορίζονταν σύμφωνα με την ειδική διάγνωση αποκάλυψαν ότι δεν υπήρχε καμία διαφορά μεταξύ των ομάδων CHS και CB στο πρωτεύον ή στο μείζον

δευτερεύον καταληκτικό σημείο αποτελεσματικότητας (Σχήματα 29 και 30). Θα πρέπει να αναφερθεί ότι λόγω του μικρού αριθμού ασθενών στις υποομάδες ΠΑΝ, νόσου καρωτίδων και ΚΜ, η ανάλυση των υποομάδων πραγματοποιήθηκε συνδυάζοντας τις υποομάδες ΠΑΝ και νόσου καρωτίδων, ενώ η ανάλυση αυτή δεν πραγματοποιήθηκε σε ασθενείς με ΚΜ. Τέλος, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ της ομάδας θεραπείας και της ηλικίας του ασθενούς ( $p = 0.25$ ) καθώς και του φύλου ( $p=0.52$ ) για τα μελετημένα καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας.





### Μείζον δευτερεύον καταληκτικό σημείο αποτελεσματικότητας



Σχήμα 30. Forest plot μείζονος δευτερεύοντος καταληκτικού σημείου αποτελεσματικότητας σε υποομάδες ασθενών στους 12 μήνες παρακολούθησης. Συντομογραφίες: CHS-Οξινική θειϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσλική κλοπιδογρέλη, ΣΝ-Στεφανιαία νόσος, PCI-Διαδερμική Στεφανιαία παρέμβαση, ΑΕΕ-Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, ΤΙΑ-Παροδικό ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, ΠΑΝ-Περιφερική αρτηριακή νόσος, OR-Odds Ratio (Αναλογία πιθανοτήτων), CI-Confidence Interval (Διάστημα εμπιστοσύνης).

### 13.2 Καταληκτικά σημεία ασφάλειας

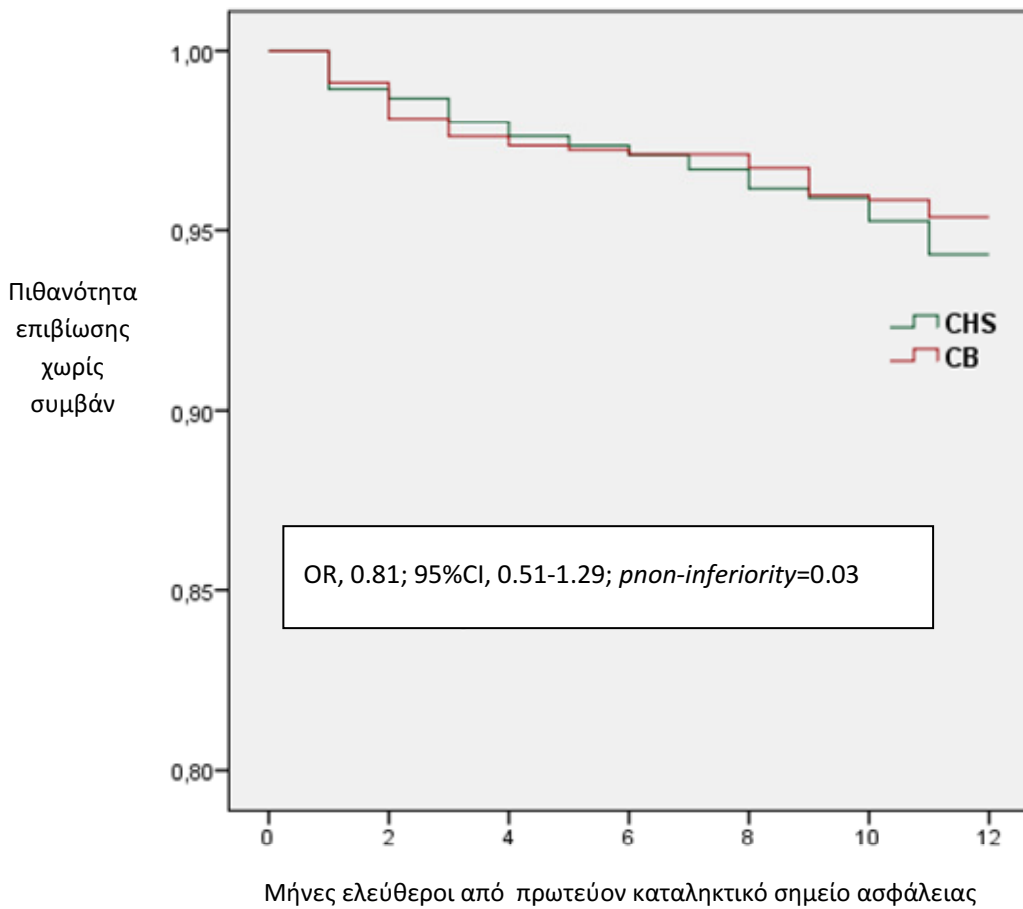
Τα πρωτεύοντα καταληκτικά σημεία ασφάλειας των αιμορραγικών επεισοδίων σύμφωνα με τα κριτήρια BARC συνέβησαν σε 43 ασθενείς (5.6%) στην ομάδα CHS, σε σύγκριση με 37 ασθενείς (4.6%) στην ομάδα CB (προσαρμοσμένα για ηλικία, φύλο, ιστορικό PCI, OR, 0.81; 95% CI, 0.51-1.29,  $p=0.39$ ,  $p_{non-inferiority}=0.03$ ) (Σχήμα 31 και Πίνακας 7). Ποσοστά BARC-1, -2, -3a, -3b και αιμορραγία -5b ήταν παρόμοια μεταξύ των δύο ομάδων της μελέτης, ενώ μια περίπτωση αιμορραγίας BARC-3c συνέβη στην ομάδα CHS. Περιστατικά αιμορραγίας σύμφωνα με BARC -4 και -5a δεν παρατηρήθηκαν είτε στη CHS είτε στη CB ομάδα (Πίνακας 7). Ενδοκρανιακές αιμορραγίες συνέβησαν σε δύο ασθενείς στην ομάδα CHS και σε έναν στην ομάδα CB (OR, 0.41; 95% CI, 0.03-4.72) και ήταν θανατηφόρες. Δεν παρατηρήθηκε διαφορά

στα δευτερεύοντα τελικά ασφάλειας μεταξύ της CHS και της CB ομάδας [40 συμβάντα (5.2%) και 53 συμβάντα (6.6%), αντίστοιχα, προσαρμοσμένα για την ηλικία, φύλο και ιστορικό PCI OR, 1.27, 95% CI 0.82 - 1.96)] (Πίνακας 7). Τα ποσοστά των πρωτογενών και μειζόνων δευτερογενών καταληκτικών σημείων ασφάλειας σε ασθενείς που λάμβαναν είτε διπλή αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία είτε κλοπιδογρέλη σαν μονοθεραπεία ήταν παρόμοια μεταξύ CHS και CB (Πίνακας 7). Αναλύσεις ασφάλειας σε υποομάδες οι οποίες καθορίζονταν σύμφωνα με την ειδική διάγνωση αποκάλυψαν ότι δεν υπήρχε διαφορά μεταξύ των CHS και CB ομάδων στο πρωτεύον καταληκτικό σημείο ασφάλειας (Σχήμα 32). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στα δευτερεύοντα τελικά σημεία ασφάλειας (Πίνακας 7). Θα πρέπει να αναφερθεί ότι λόγω του μικρού αριθμού των ασθενών στις υποομάδες με ΠΑΝ, νόσο κωφωτίδων και ΚΜ, η ανάλυση των υποομάδων πραγματοποιήθηκε συνδυάζοντας τις υποομάδες ΠΑΝ και νόσου κωφωτίδων, ενώ η ανάλυση αυτή δεν πραγματοποιήθηκε σε ασθενείς με ΚΜ. Τέλος, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ της ομάδας θεραπείας και της ηλικίας των ασθενών ( $p=0.98$ ) καθώς και το φύλο ( $p=0.83$ ), σχετικά με τα μελετημένα καταληκτικά σημεία ασφάλειας.

<b>Καταληκτικά σημεία ασφάλειας</b>	<b>CHS (n=759)</b>	<b>CB (n=798)</b>	<b>Odds Ratio ** (95% CI) για CB έναντι CHS</b>	<b>P</b>
<b>Πρωτεύοντα, n (%)*</b>	43 (5.6)	37 (4.6)	0.81 (0.51-1.29)	0.39
BARC 1	25 (3.2)	26 (3.2)	0.99 (0.56-1.76)	0.97
BARC 2	6 (0.7)	1 (0.1)	0.18 (0.02-1.58)	0.12
BARC 3a	5 (0.6)	7 (0.8)	1.38 (0.42-4.48)	0.59
BARC 3b	4 (0.5)	2 (0.2)	0.47 (0.08-2.70)	0.40
BARC 3c	1 (0.1)	0 (0)	N/A	N/A
BARC 4	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A
BARC 5a	0 (0)	0 (0)	N/A	N/A
BARC 5b	2 (0.2)	1 (0.1)	0.41 (0.03-4.72)	0.47
<b>Δευτερεύοντα, n (%)*</b>	40 (5.2)	53 (6.6)	1.27 (0.82-1.96)	0.27
Κνίδωση	3 (0.4)	6 (0.7)	1.92 (0.46-7.91)	0.36
προσωρινή διακοπή	2 (0.3)	5 (0.6)	2.13 (0.40-11.29)	0.37
μόνιμη διακοπή	1 (0.1)	1 (0.1)	1.40 (0.08-23.02)	0.81
Προσωρινή διακοπή οφειλόμενη σε χειρουργική επέμβαση	7 (0.9)	10 (1.2)	1.16 (0.43-3.14)	0.75
Προσωρινή διακοπή οφειλόμενη σε οδοντιατρική επέμβαση	3 (0.3)	6 (0.7)	2.08 (0.50-8.55)	0.30
Προσωρινή διακοπή οφειλόμενη σε προσωπικούς λόγους	2 (0.3)	9 (1.1)	4.30 (0.91-20.34)	0.06
Προσωρινή διακοπή οφειλόμενη σε αιμορραγία	25 (3.2)	23 (2.8)	0.86 (0.47-1.56)	0.63
Παροδική θρομβοπενία	1 (0.1)	1 (0.1)	0.94 (0.05-15.80)	0.96
Έναρξη αντιπηκτικής θεραπείας λόγω νέας ΚΜ	1 (0.1)	1 (0.1)	1.04 (0.06-17.78)	0.97

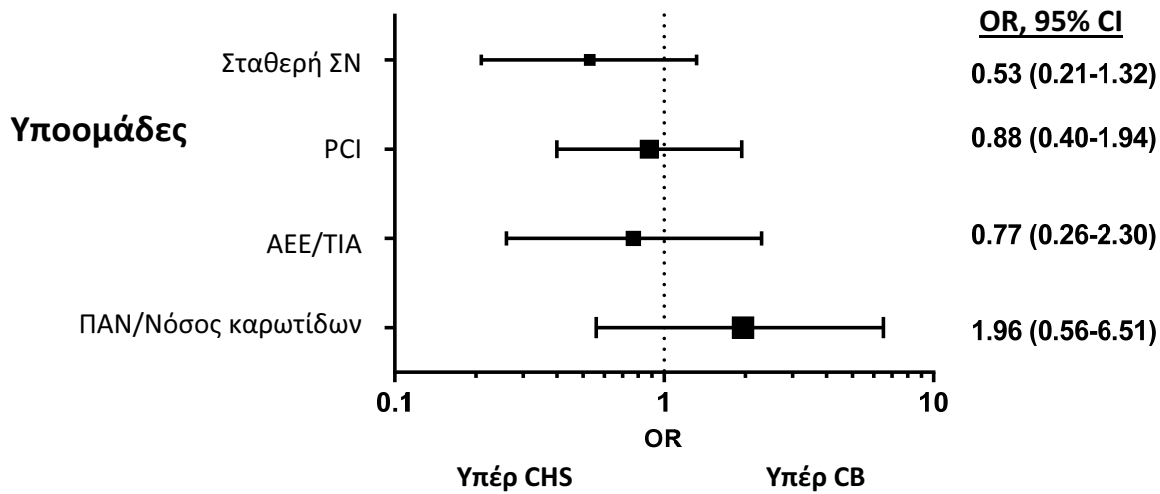
Πίνακας 7. Πρωτεύοντα και δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία ασφάλειας στους 12 μήνες παρακολούθησης. Συνοτομογραφίες: CHS-Όξινη θειϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσουλκή κλοπιδογρέλη, BARC-Bleeding Academic Research Consortium, ΚΜ-Κολπική μαρμαρυγή, CI-Confidence Interval (Διάστημα εμπιστοσύνης).

\* Τα αναγραφόμενα ποσοστά είναι επί του συνόλου των ασθενών σε κάθε ομάδα ξεχωριστά. \*\* Προσαρμοσμένα για ηλικία, φύλο, ιστορικό PCI.



Σχήμα 31: Καμπύλη Kaplan-Meier των ασθενών για το πρωτεύον καταληκτικό σημείο ασφάλειας αιμορραγίας στους 12 μήνες παρακολούθησης. Συντομογραφίες: CHS-Όξινη θειϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσλική κλοπιδογρέλη, OR-Odds Ratio (Αναλογία πιθανοτήτων), CI-Confidence Interval (Διάστημα εμπιστοσύνης).

### Πρωτεύον καταληκτικό σημείο ασφάλειας



Σχήμα 32. Forest plot πρωτεύοντος καταληκτικού σημείου ασφάλειας σε υποομάδες ασθενών στους 12 μήνες παρακολούθησης. Συντομογραφίες: CHS-Οξίνη θειϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσυλική κλοπιδογρέλη, ΣΝ-Στεφανιαία νόσος, PCI-Διαδερμική στεφανιαία παρέμβαση, ΑΕΕ-Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο, ΤΙΑ-Παροδικό ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, ΠΑΝ-Περιφερική αρτηριακή νόσος, OR-Odds Ratio (Αναλογία πιθανοτήτων), CI-Confidence Interval (Διάστημα εμπιστοσύνης).

### 13.3 Σύγκριση καταληκτικών σημείων αποτελεσματικότητας και ασφάλειας σε υποομάδες ασθενών με διπλή αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία και μονοθεραπεία κλοπιδογρέλης

Το 34.4% των ασθενών στην ομάδα CHS και το 32.1% στην ομάδα CB ελάμβαναν ασπιρίνη (Πίνακας 3). Τα αποτελέσματά μας ανέδειξαν ότι τα πρωτεύοντα και μείζονα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας και ασφάλειας σε ασθενείς που λαμβάνουν είτε διπλή αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία είτε μονοθεραπεία με κλοπιδογρέλη ήταν παρόμοια μεταξύ CHS και CB (Πίνακας 8).

<b>Καταληκτικά σημεία</b>	<b>Odds Ratio* (95%CI) για CHS+ASA έναντι CB+ASA, p</b>	<b>Odds Ratio* (95%CI) για CHS έναντι CB, p</b>
Πρωτεύοντα αποτελεσματικότητας	0.65 (0.31-1.34), 0.25	0.98 (0.44-2.18), 0.97
Μείζονα δευτερεύοντα αποτελεσματικότητας	0.65 (0.33-1.28), 0.21	1.28 (0.65-2.52), 0.46
Πρωτεύοντα ασφάλειας	0.67 (0.28-1.53), 0.35	0.87 (0.50-1.50), 0.62
Δευτερεύοντα ασφάλειας	1.10 (0.55-2.18), 0.78	1.41 (0.82-2.42), 0.21

Πίνακας 8. Πρωτεύοντα και μείζονα δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας και ασφάλειας σε ασθενείς που λαμβάνουν είτε διπλή αντιαιμοπεταλιακή θεραπεία είτε μονοθεραπεία με κλοπιδογρέλη στους 12 μήνες παρακολούθησης. Συντομογραφίες: CHS-Όξινη θειϊκή κλοπιδογρέλη, CB-Βεσουλκή κλοπιδογρέλη, ASA: Ασπιρίνη, CI-Confidence Interval (Διάστημα εμπιστοσύνης).

\* Προσαρμοσμένα για ηλικία, φύλο, ιστορικό PCI.

## ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Έως τώρα έχει δημοσιευτεί ένας μικρός αριθμός μελετών και γενικά μικρής ισχύος που συγκρίνουν είτε φαρμακοδυναμικά είτε κλινικά τελικά σημεία σε ασθενείς που λαμβάνουν γενόσημες - ομοιοδραστικές μορφές κλοπιδογρέλης έναντι της πρωτότυπης [87-90, 111]. Η χρήση των γενόσημων μορφών στην κλινική πράξη βασιζόταν στην απόδειξη της ισοδύναμης μέσης φαρμακοκινητικής ιδιότητας σε σύγκριση με το πρωτότυπο φάρμακο και γενικά δεν αντανακλούσαν τον πληθυσμό ασθενών-στόχο καθώς οι μελέτες διεξάγονταν σε υγιή άτομα και όχι σε ασθενείς με καρδιαγγειακές νόσους ή παράγοντες κινδύνου, ενώ και ελάχιστες μελέτες χρησιμοποίησαν μείζονα τελικά σημεία αποτελεσματικότητας και είχαν follow-up για περισσότερο από 3 μήνες.

Η παρούσα κλινική μελέτη κατέληξε στο ότι η κλινική αποτελεσματικότητα του άλατος της CB που χορηγείται για 6 αλλά και για 12 μήνες σε διάφορες κατηγορίες ασθενών που έχουν ένδειξη να λάβουν κλοπιδογρέλη είναι παρόμοια με εκείνη του πρωτότυπου άλατος της CHS. Επιπλέον, και οι δύο μορφές κλοπιδογρέλης επέδειξαν παρόμοιο προφίλ ασφάλειας. Η ενδιάμεση ανάλυση αυτής της μελέτης που διενεργήθηκε στους 6 μήνες παρακολούθησης έδειξε ακόμη ότι δεν υπήρχαν διαφορές στα πρωτεύοντα και δευτερεύοντα σημεία αποτελεσματικότητας, καθώς και στα τελικά σημεία ασφάλειας μεταξύ CB και CHS. Από όσο γνωρίζουμε αυτή είναι η μεγαλύτερη κλινική δοκιμή που έχει πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα όσον αφορά το μέγεθος του πληθυσμού, τη διάρκεια της μελέτης και τις υποομάδες ασθενών με στόχο να συγκριθεί η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια ενός γενόσημου άλατος κλοπιδογρέλης με το πρωτότυπο φάρμακο στη δευτερογενή πρόληψη των αθηροθρομβωτικών επεισοδίων.

Όπως έχει αναφερθεί ο αριθμός των παρατηρούμενων συμβάντων στην ενδιάμεση ανάλυση αυτής της δοκιμής ήταν μικρός, αν και παρόμοιος με αυτόν που αναφέρθηκε σε άλλες μελέτες για μία περίοδο 6 μηνών παρακολούθησης [112]. Η ανάλυση που διεξήχθη στην 12μηνιαία μελέτη

αποκάλυψε ότι CB και CHS παρουσίασαν παρόμοια αποτελεσματικότητα και προφίλ ασφάλειας σε κάθε υποομάδα ασθενών, δηλαδή σε ασθενείς με σταθερή ΣΝ, ΑΕΕ / ΤΙΑ, PCI και ΠΑΝ / νόσο καρωτίδων. Τα αποτελέσματά μας στο σύνολο του πληθυσμού και ιδιαίτερα αυτά σε ασθενείς με σταθερή ΣΝ και σε ασθενείς που υποβλήθηκαν σε PCI, είναι σύμφωνα με παλαιότερα δημοσιευμένα αποτελέσματα από την ομάδα μας σε δυο φαρμακοδυναμικές μελέτες σύγκρισης της αντιαιμοπεταλιακής αποτελεσματικότητας του ίδιου προϊόντος CB με εκείνη της αρχικής σύνθεσης CHS, σε ασθενείς με ιστορικό ενός ACS μετά από 1 και 6 μήνες παρακολούθησης [109-110]. Και στις δύο μελέτες η CB ήταν φαρμακοδυναμικά παρόμοια με CHS σε όλες τις τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν για να αξιολογηθεί η λειτουργικότητα των αιμοπεταλίων. Επιπλέον, δεν διαπιστώθηκαν διαφορές στον αριθμό των ασθενών που παρουσίασαν υψηλή αντιδραστικότητα των αιμοπεταλίων μεταξύ των δυο αλάτων κλοπιδογρέλης. Προηγούμενα δημοσιευμένα αποτελέσματα από την ερευνητική μας ομάδα έδειξαν επίσης ότι η ανταπόκριση των αιμοπεταλίων σε ένα σχήμα κλοπιδογρέλης 75 mg / ημέρα βελτιώνεται και σταθεροποιείται σε 1 μήνα της θεραπείας και στη συνέχεια παραμένει σταθερή, ακόμη και σε ασθενείς που δεν έχουν ανταπόκριση στη κλοπιδογρέλη [113].

Τα προαναφερθέντα δεδομένα σχετικά με την κλινική αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του σκευάσματος CB, είναι σύμφωνα με προηγούμενα αποτελέσματα που καταδεικνύουν ότι η CB έχει φαρμακοκινητικές και φαρμακοδυναμικές ιδιότητες, καθώς και ανεκτικότητα παρόμοια με το πρωτότυπο φάρμακο ακόμη και σε υγιείς εθελοντές [106-107, 114]. Επιπλέον, η εγγενής τοξικότητα του βενζολίου σουλφονικού οξέος που συνδέεται με την κλοπιδογρέλη να σχηματίζει το άλας της CB είναι χαμηλή και αποδείχθηκε ότι είναι ασφαλής [86]. Σύμφωνα με τα παραπάνω δεδομένα είναι τα αποτελέσματα και άλλων φαρμακοδυναμικών και κλινικών μελετών που συγκρίνουν τα σκευάσματα της CB με το πρωτότυπο άλας [89, 114]. Συνολικά η CB είναι ένα φαρμακοδυναμικά και κλινικά αποτελεσματικό γενόσημο άλας κλοπιδογρέλης που μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια για την



πρόληψη και θεραπεία των αθηροθρομβωτικών συμβάντων. Θα πρέπει ωστόσο να αναφερθεί ότι ορισμένες μελέτες έχουν εγείρει σημαντικές ανησυχίες σχετικά με την κλινική αποτελεσματικότητα κάποιων άλλων φαρμακοδυναμικών γενόσημων σκευασμάτων κλοπιδογρέλης, εκτός από CB [92-93]. Έτσι είναι σημαντικό ότι κάθε αποτέλεσμα που προκύπτει από τη χρήση ενός γενόσημου σκευάσματος κλοπιδογρέλης θα πρέπει να αναφέρεται στο συγκεκριμένο προϊόν που χρησιμοποιείται και όχι γενικά στον όρο γενόσημη κλοπιδογρέλη. Πιο αναλυτικά θα πρέπει να αναφέρεται και να συγκεκριμενοποιείται το προφίλ, η περιεκτικότητα σε κλοπιδογρέλη, το ποσό των προσμίξεων, οι ιδιότητες διάλυσης και σταθερότητας στα διάφορα γενόσημα σκευάσματα κλοπιδογρέλης, ακόμη και αν αυτά αφορούν το ίδιο το άλας [115]. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω στοιχεία και τη μεγάλη μεταβλητότητα της ανταπόκρισης των αιμοπεταλίων στην κλοπιδογρέλη που επηρεάζει σημαντικά τη φαρμακοδυναμική του φαρμάκου και την κλινική αποτελεσματικότητα, μπορούμε να τονίσουμε ότι μελέτες που συγκρίνουν τη φαρμακοδυναμική και ιδιαίτερα την κλινική αποτελεσματικότητα των διαφόρων γενόσημων σκευασμάτων κλοπιδογρέλης είναι διαθέσιμες σήμερα και παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες για τους κλινικούς γιατρούς που χρησιμοποιούν αυτά τα φάρμακα στην κλινική πράξη [116-119].

#### *14. Περιορισμοί της μελέτης*

Ένας περιορισμός της παρούσας κλινικής μελέτης θα μπορούσε να είναι οι σημαντικές διαφορές στην ηλικία και το φύλο μεταξύ των ομάδων CB και CHS κατά την έναρξη της μελέτης. Επιπλέον σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων παρατηρήθηκε στον αριθμό των ασθενών που υποβλήθηκαν σε PCI. Παρά το γεγονός ότι η διαδικασία τυχαιοποίησης εφαρμόστηκε δίνοντας μια λίστα των τυχαίων αριθμών όπου κατανέμονταν οι ασθενείς σε ομάδες παρέμβασης, συμπεριλαμβανομένης της PCI, δεν μπορεί να εγυηθεί την απρόσμενη λειτουργία της τυχαιοποίησης ούτε εμποδίζει τη γνώση των χορηγήσεων. Αυτό θα μπορούσε να οδηγήσει σε μια σημαντική μεροληψία της επιλογής. Έτσι, όλα τα μοντέλα προσαρμόστηκαν για αυτούς τους

παράγοντες, προκειμένου να αποφευχθεί πιθανή προκατάληψη στα αποτελέσματα. Επίσης θα μπορούσε να υπάρχει ετερογένεια του αριθμού των ασθενών που έλαβαν ασπιρίνη ή φάρμακα που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα της κλοπιδογρέλης, όπως οι PPIs. Ωστόσο, οι υπό μελέτη ομάδες ήταν καλά ισορροπημένες όσον αφορά τη χρήση των ανωτέρω φαρμάκων (Πίνακας 3).

## **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Εν κατακλείδι, η μελέτη SCIENCE αποδεικνύει ότι η κλινική αποτελεσματικότητα και ασφάλεια της CB σε μια σχετικά μεγάλη ομάδα των ασθενών που λαμβάνουν κλοπιδογρέλη είναι παρόμοια με εκείνη του πρωτότυπου άλατος της CHS. Αυτή η κλινική αποτελεσματικότητα είναι ανεξάρτητη από τη χρήση της CB ως μονοθεραπεία ή σε συνδυασμό με ασπιρίνη. Κατά συνέπεια, η παρούσα μελέτη αποδεικνύει την ασφαλή χρήση στην καθημερινή κλινική πράξη του σκευάσματος CB για μια περίοδο 12 μηνών για την πρόληψη και θεραπεία των αθηροθρομβωτικών επιπλοκών. Σύμφωνα με τα δεδομένα μας αυτή είναι η μεγαλύτερη κλινική μελέτη που πραγματοποιήθηκε μέχρι σήμερα από την άποψη του μεγέθους του πληθυσμού, τη διάρκεια της μελέτης και τις υποομάδες ασθενών, με στόχο να συγκριθεί η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια ενός γενόσημου άλατος κλοπιδογρέλης με το πρωτότυπο σκεύασμα κλοπιδογρέλης στη δευτερογενή πρόληψη των αθηροθρομβωτικών επεισοδίων.



## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΗΝΙΚΗ**

### **ΤΙΤΛΟΣ:**

Συγκριτική μελέτη της αντιαιμοπεταλιακής δράσης διαφορετικών αλάτων της κλοπιδογρέλης σε ασθενείς με καρδιαγγειακή νόσο.

### **ΕΙΣΑΓΩΓΗ:**

Η κλοπιδογρέλη είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο αντιαιμοπεταλιακό φάρμακο για τη δευτερογενή πρόληψη αθηροθρομβωτικών επεισοδίων, σε συνδυασμό με ασπιρίνη ή ως μονοθεραπεία. Το κλινικό όφελος της κλοπιδογρέλης έχ

ει καθιερωθεί με μια πληθώρα μεγάλων κλινικών μελετών, καθώς και στην παγκόσμια κλινική πρακτική. Όλη αυτή η γνώση και η εμπειρία έχουν ληφθεί χρησιμοποιώντας το πρωτότυπο σκεύασμα της όξινης θειϊκής κλοπιδογρέλης (CHS-Plavix® / Iscover®). Μετά τη λήξη των φαρμακευτικών διπλωμάτων ευρεσιτεχνίας της τον Μάιο του 2012, η κλοπιδογρέλη έχει καταστεί γενόσημη και έτσι διάφορα εμπορικά σκευάσματα έχουν αναπτυχθεί και εγκριθεί για χρήση σε όλο τον κόσμο, συμπεριλαμβανομένης της Ευρώπης και των ΗΠΑ, για τη δευτερογενή πρόληψη των αθηροθρομβωτικών επεισοδίων. Σε αυτά περιλαμβάνονται η κλοπιδογρέλη βάσης, η κλοπιδογρέλη resinate, η υδροχλωρική κλοπιδογρέλη και η βεσυλική κλοπιδογρέλη (CB). Κατά την ανάπτυξη μιας νέας γενόσημης μορφής, είναι σημαντικό να συμμορφώνονται με τη διαδικασία παρασκευής και να χρησιμοποιούνται τα ίδια έκδοχα όπως και στο αρχικό άλας, προκειμένου να ελαχιστοποιηθούν τα προβλήματα σταθερότητας. Συγκεκριμένα, κατά τη διάρκεια της φάσης ανάπτυξης μιας από του στόματος στερεής μορφής, αρκετές φυσικοχημικές δοκιμές προ και μετά διαμόρφωσης του σκευάσματος διεξάγονται προκειμένου να επιτευχθεί ένα υψηλής ποιότητας γενόσημο προϊόν που είναι ισάξιο με το αρχικό πρωτότυπο σκεύασμα από την άποψη της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας. Κατά συνέπεια, ένα γενόσημο προϊόν πρέπει να παρουσιάζει ένα προφίλ διάλυσης *in vitro*, παρόμοιο ή επικαλυπτόμενο εκείνου του αρχικού

προϊόντος, προκειμένου να εξασφαλισθεί ένα πετυχημένο προφίλ βιοϊσοδυναμίας του προϊόντος. Ωστόσο, σύμφωνα με το βιοφαρμακευτικό σύστημα ταξινόμησης, η κλοπιδογρέλη είναι ένα προϊόν Class II και η in vitro διάλυση δεν αρκεί για να αποδείξει ότι είναι ισάξια με το πρωτότυπο σκεύασμα. Έτσι, τα γενόσημα δισκία κλοπιδογρέλης θα πρέπει να υποβάλλονται σε μελέτη βιοϊσοδυναμίας σε σύγκριση με το πρωτότυπο σκεύασμα. Επιπλέον, είναι κρίσιμης σημασίας να αποδειχθεί ότι αυτά τα παρασκευάσματα έχουν παρόμοια φαρμακοδυναμική δραστηριότητα στην αναστολή της δραστηριότητας των αιμοπεταλίων και επίσης είναι κλινικά βιοϊσοδύναμα με το αρχικό άλας από την άποψη της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειας. Σε αυτό το πλαίσιο, θα πρέπει να τονιστεί ότι σε αντίθεση με άλλα γενικά καρδιαγγειακά φάρμακα, όπως οι στατίνες ή τα αντιυπερτασικά, για τα οποία μικρές διαφορές στην βιολογική αποτελεσματικότητά τους θα ήταν απίθανο να έχουν οποιαδήποτε διακριτό κλινικό αποτέλεσμα, μια μικρή μείωση στη φαρμακοδυναμική ισχύ της κλοπιδογρέλης θα μπορούσε να οδηγήσει σε σοβαρές ισχαιμικές θρομβωτικές επιπλοκές, ιδιαίτερα σε καταστάσεις όπου η θεραπευτική αποτελεσματικότητα είναι κρίσιμη, όπως αμέσως μετά από μια διαδερμική στεφανιαία παρέμβαση. Η ανάγκη για την αξιολόγηση της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας ενός γενόσημου άλατος κλοπιδογρέλης υποστηρίζεται περαιτέρω από τη σημαντική ετερογένεια μεταξύ των υφιστάμενων γενόσημων σκευασμάτων κλοπιδογρέλης, όσον αφορά το περιεχόμενο της κλοπιδογρέλης, το προφίλ καθαρότητας, τις ιδιότητες διάλυσης και σταθερότητας, ακόμη και αν αυτές αφορούν το ίδιο το άλας. Έως σήμερα έχει διεξαχθεί μια σειρά από μικρές και συχνά χαμηλής ισχύος μελέτες που συγκρίνουν είτε φαρμακοδυναμικά είτε κλινικά καταληκτικά σημεία σε ασθενείς που λαμβάνουν γενόσημα έναντι της πρωτότυπης κλοπιδογρέλης. Μεταξύ αυτών πολύ λίγες είναι οι μελέτες που χρησιμοποιούν μείζονα καταληκτικά συμβάντα και παρακολούθηση ασθενών για περισσότερο από 3 μήνες, ενώ πολλές δοκιμές διεξήχθησαν σε υγιείς εθελοντές. Η ερευνητική μας ομάδα είχε δημοσιεύσει δύο μελέτες οι οποίες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι υπήρξε φαρμακοδυναμική βιοϊσοδυναμία

μεταξύ του γενόσημου σκευάσματος CB σε σχέση με εκείνο του πρωτότυπου σκευάσματος CHS σε ασθενείς με 1 και 6 μήνες παρακολούθησης μετά από οξύ στεφανιαίο σύνδρομο.

### **ΣΚΟΠΟΣ:**

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να συγκριθεί η κλινική αποτελεσματικότητα και ασφάλεια του σκευάσματος CB σε σχέση με εκείνη της πρωτότυπης CHS, που χορηγήθηκαν για 12 μήνες σε ένα σχετικά μεγάλο αριθμό ασθενών που μπορούν να λάβουν κλοπιδογρέλη σύμφωνα με τις ενδείξεις και τις κατευθυντήριες οδηγίες. Η ενδιάμεση ανάλυση αυτής της μελέτης έγινε στους 6 μήνες παρακολούθησης.

### **ΜΕΘΟΔΟΙ:**

Διενεργήθηκε μια τυχαιοποιημένη προοπτική 2-βραχίωνων, πολυκεντρική, ανοικτή, φάσης 4 κλινική μελέτη, που ονομάστηκε Salts of Clopidogrel: Investigation to ENSure Clinical Equivalence (SCIENCE). Κατά τη διάρκεια της μελέτης αυτής 1864 διαδοχικοί ασθενείς ελέγχθηκαν και 1800 καταγράφηκαν στη μελέτη και τυχαιοποιήθηκαν σε CHS ή CB. Πρωτεύον καταληκτικό σημείο αποτελεσματικότητας ήταν το σύνθετο του εμφράγματος του μυοκαρδίου, ΑΕΕ ή θανάτου από αγγειακά αίτια, και πρωτεύον καταληκτικό σημείο ασφάλειας ήταν η συχνότητα των αιμορραγικών επεισοδίων, όπως ορίζεται από τα αιμορραγικά κριτήρια Bleeding Academic Research Consortium (BARC).

### **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ:**

Στους 6 μήνες παρακολούθησης δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των CB (n=759) και CHS (n=798) στο πρωτεύον καταληκτικό σημείο αποτελεσματικότητας (OR, 0.80; 95% CI, 0.37 to 1.71; p=0.57). Ποσοστά αιμορραγίας BARC-1, -2, -3a και -5b ήταν παρόμοια μεταξύ των δύο ομάδων της μελέτης, ενώ δεν παρατηρήθηκαν αιμορραγικά συμβάντα BARC-3b, -3c, -4 και -5a είτε στη CHS είτε στη CB ομάδα. Στους 12 μήνες παρακολούθησης,

δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των CB και CHS στα πρωτεύοντα καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας και ασφάλειας (προσαρμοσμένο ποσοστό πιθανότητας για ηλικία, φύλο, ιστορικό διαδερμικής στεφανιαίας αγγειοπλαστικής [OR], 0.70; 95% διάστημα εμπιστοσύνης [CI], 0.41-1.21 και OR, 0.81; 95% CI, 0.51-1.29 αντίστοιχα). Αναλύσεις αποτελεσματικότητας και ασφάλειας σε υποομάδες οι οποίες καθορίζονταν σύμφωνα με την ειδική διάγνωση κατέληξαν στο ότι δεν υπήρχε διαφορά μεταξύ CHS και CB.

#### **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ:**

Η παρούσα κλινική μελέτη κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η κλινική αποτελεσματικότητα του άλατος της CB που χορηγείται για 12 μήνες σε διάφορες κατηγορίες ασθενών που μπορούν να λάβουν κλοπιδογρέλη είναι παρόμοια με εκείνη του πρωτότυπου άλατος της CHS. Επιπλέον και τα δυο άλατα κλοπιδογρέλης επέδειξαν παρόμοιο προφίλ ασφάλειας. Η ενδιάμεση ανάλυση αυτής της μελέτης που διεξήχθη στους 6 μήνες παρακολούθησης έδειξε επίσης ότι δεν υπήρχαν διαφορές στα κλινικά πρωτεύοντα και δευτερεύοντα καταληκτικά σημεία αποτελεσματικότητας και ασφάλειας μεταξύ CB και CHS. Σύμφωνα με τα δεδομένα μας αυτή είναι η μεγαλύτερη κλινική μελέτη που πραγματοποιήθηκε μέχρι σήμερα από την άποψη του μεγέθους του πληθυσμού, τη διάρκεια της μελέτης και τις υποομάδες ασθενών, με στόχο να συγκριθεί η αποτελεσματικότητα και η ασφάλεια ενός γενόσημου άλατος κλοπιδογρέλης με το πρωτότυπο σκεύασμα κλοπιδογρέλης στη δευτερογενή πρόληψη των αθηροθρομβωτικών επεισοδίων.

(Salts of Clopidogrel: Investigation to ENSure Clinical Equivalence, SCIENCE trial; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02126982).

#### ***Ευχαριστίες (Χορηγίες/ Οικονομική ενίσχυση):***

Η μελέτη αυτή χρηματοδοτήθηκε εν μέρει από την Ευρωπαϊκή Ένωση και μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Ανταγωνιστικότητα και Επιχειρηματικότητα» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ)-Ερευνητικό Πρόγραμμα Χρηματοδότησης: Συνεργασία 2009. Δράση



I. Συνεταιρισμός μικρής και μεσαίας κλίμακας (κωδικός έργου: 09ΣΥΝ-12-827) και από την επιτροπή ερευνών μέσω του ειδικού λογαριασμού κονδυλίων έρευνας (ΕΛΚΕ) του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Η μελέτη αυτή επίσης χρηματοδοτήθηκε εν μέρει από την ELPEN (Ελλάδα), κατασκευάστρια εταιρεία του σκευάσματος της βεσυλικής κλοπιδογρέλης (Clovelen®) που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη. Ωστόσο, ο χορηγός δεν είχε καμία συμμετοχή στο σχεδιασμό και τη διεξαγωγή της μελέτης, κατά τη συλλογή, διαχείριση, ανάλυση και ερμηνεία των δεδομένων ή στην προετοιμασία, διόρθωση, υποβολή και έγκριση των δημοσιευμένων άρθρων.



## **ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΗΝ ΑΓΓΛΙΚΗ-SUMMARY**

### **TITLE:**

Comparative study of the antiplatelet effect of different salts of clopidogrel in patients with cardiovascular disease.

### **INTRODUCTION:**

Clopidogrel is a widely used antiplatelet drug for the secondary prevention of atherothrombotic events, in combination with aspirin or as monotherapy. Clopidogrel' clinical benefit has been well established by a plethora of large clinical trials as well as in the real world clinical practice. All this knowledge and experience have been obtained by using the original product clopidogrel hydrogen sulphate (CHS; Plavix®/Iscover®). After expiration of its pharmaceutical patent in May 2012, clopidogrel has become generic thus several commercial salt formulations have been developed and approved for use worldwide including Europe and USA for the secondary prevention of atherothrombotic events. These include clopidogrel base, clopidogrel resinate, clopidogrel hydrochloride and clopidogrel besylate (CB). During the development of a new generic formulation, it is important to adhere to the manufacturing process and to use the same excipients as in the original salt in order to minimize stability problems. Specifically, during the development phase of an oral solid dosage form, several physiochemical as well as pre-formulation and formulation tests are carried out in order to achieve a high-quality generic product that is interchangeable with the original brand in terms of efficacy and safety. Accordingly, a generic product must show a dissolution profile *in vitro*, similar or overlapping that of the original product, in order to ensure a successful bioequivalence profile of the product. However, according to the Biopharmaceutics Classification System, clopidogrel is a Class II product, thus *in vitro* dissolution is not sufficient to prove that it is interchangeable with the original brand. Thus, clopidogrel generic tablets should be subjected to bioequivalence study in comparison with the original formulation. Furthermore, it is of critical importance to

demonstrate that these preparations have similar pharmacodynamic potency in inhibiting platelet reactivity and also are clinically bioequivalent to the original salt in terms of efficacy and safety. In this regard, it should be emphasized that in contrast with other generic cardiovascular medications, such as statins or antihypertensives, for which minor differences in their biologic efficacy would be unlikely to have any discernible clinical effect, a minor decrement in the clopidogrel pharmacodynamic potency could result in severe ischemic thrombotic complications, especially in situations where therapeutic efficacy is critical, such as immediately after a percutaneous coronary intervention. The necessity for evaluating the therapeutic efficacy of a generic clopidogrel salt is further supported by the substantial heterogeneity existing among various generic clopidogrel formulations, in terms of clopidogrel content, impurity profile, dissolution properties and stability, even if these concern the same salt. Today, a number of small and often underpowered studies comparing either pharmacodynamic or clinical end points in patients receiving generic versus brand name clopidogrel have been conducted. Among them, very few studies used hard outcomes and followed patients for more than 3 months, while many trials were conducted in healthy volunteers. Our working group had published two studies which were concluded that there was pharmacodynamic bioequivalence between a generic CB formulation with that of the original CHS in patients within 1 and 6-months of follow-up after acute coronary syndrome.

**AIM:**

The aim of the present study was to compare the clinical efficacy and safety of CB formulation with that of the original CHS, which were administered for 12-months in a relatively large number of patients eligible to receive clopidogrel according to the indications and the guidelines. The interim analysis of this trial was performed at 6-months of follow-up.

**METHODS:**

A prospective 2-arm, multicenter, open-label, phase 4 clinical trial which was named "Salts of Clopidogrel: Investigation to ENSure Clinical Equivalence (SCIENCE)" was performed. During this trial 1,864 consecutive patients were screened and 1,800 were enrolled in the trial and randomized to CHS or CB. Primary efficacy end point was the composite of myocardial infarction, stroke, or death from vascular causes, and primary safety end point was the rate of bleeding events as defined by Bleeding Academic Research Consortium (BARC) criteria.

**RESULTS:**

At 6-months follow-up no differences were observed between CB (n = 759) and CHS (n = 798) in primary efficacy end point (OR, 0.80; 95% CI, 0.37 to 1.71; p=0.57). Rates of BARC-1,-2,-3a and -5b bleeding events were similar between the two study groups whereas no bleeding events according to BARC-3b, -3c, -4 and -5a were observed in either CHS or CB group.

At 12-months follow-up, no differences were observed between CB and CHS in primary efficacy and safety end points (age, sex, history of percutaneous coronary intervention adjusted odds ratio [OR], 0.70; 95% confidence interval [CI], 0.41-1.21 and OR, 0.81; 95% CI, 0.51-1.29, respectively). Analyses of efficacy and safety in subgroups that were defined according to the qualifying diagnosis revealed that there was no difference between CHS and CB.

**CONCLUSION:**

The present clinical trial revealed that the clinical efficacy of CB salt administered for 12 months in several types of patients eligible to receive clopidogrel is similar to that of the innovator CHS salt. Furthermore, both clopidogrel formulations exhibited similar safety profile. The interim analysis of this trial which was performed at 6-months of follow-up also demonstrated that there were no differences in the clinical primary and

secondary efficacy as well as safety end points between CB and CHS. To our knowledge this is the largest clinical trial performed to date in terms of population size, study duration and subgroups of patients, aiming to compare the efficacy and safety of a generic clopidogrel salt with the innovator drug in the secondary prevention of atherothrombotic events.

(Salts of Clopidogrel: Investigation to ENSure Clinical Equivalence, SCIENCE trial; ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02126982).

***ACKNOWLEDGEMENT OF GRANT SUPPORT:***

This study was partially funded by the European Union through the Operational Programme "Competitiveness and Entrepreneurship" of the National Strategic Reference Framework (NSRF)-Research Funding Programme: Cooperation 2009 Action I. Small and medium scale Cooperative (project code: 09SYN-12-827) and by the Audit Committee through the special account for research funds (ELKE) of the University of Ioannina. This study was partially supported also by grants from ELPEN (Greece), manufacturer of the clopidogrel besylate formulation (Clovelen®) used in the present study. However, the sponsor had no involvement in the design and conduct of the study, in the collection, management, analysis, and interpretation of the data or in the preparation, review, submission and approval of the published articles.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. George J.N., *Platelets. Lancet.* 2000; 355(9214): 1531-9
2. White J.G., *Electron microscopic studies of platelet secretion. Prog Hemost Thromb.* 1974; 2(0): 49-98
3. Nurden A.T., Nurden P., Sanchez M. et al. *Platelets and wound healing. Front Biosci.* 2008; 13: 3532-3548
4. Pintucci G., Froum S., Pinnell J. et al. *Trophic effects of platelets on cultured endothelial cells are mediated by platelet-associated fibroblast growth factor-2 (FGF-2) and vascular endothelial growth factor (VEGF). Thromb Haemost.* 2002; 88: 834-842
5. Rendu F., Brohard-Bohn B. *The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. Platelets.* 2001; 12: 261-273
6. Jiménez B., Volpert O.V., Crawford S.E. et al. *Signals leading to apoptosis-dependent inhibition of neovascularization by thrombospondin-1. Nat Med.* 2000; 6: 41-48
7. Blair P, Flaumenhaft R. *Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. Blood Rev.* 2009; 23: 177-189
8. Maree A.O., D.J. Fitzgerald, *Variable platelet response to aspirin and clopidogrel in atherothrombotic disease. Circulation.* 2007; 115(16): 2196-207
9. Thebault J.J., Kieffer G., Cariou R., *Single-dose pharmacodynamics of clopidogrel. Semin Thromb Hemost.* 1999; 25 Suppl 2: 3-8
10. Thebault J.J., Kieffer G, Lowe G.D., et al., *Repeated-dose pharmacodynamics of clopidogrel in healthy subjects. Semin Thromb Hemost.* 1999; 25 Suppl 2: 9-14
11. Cadroy Y., Bossavy J.P., 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(24): 2823-8
12. Hochholzer W., Trenk D., Frundi D., et al., *Time dependence of platelet inhibition after a 600-mg loading dose of clopidogrel in a large,*

- unselected cohort of candidates for percutaneous coronary intervention. Circulation. 2005; 111(20): 2560-4*
13. *Price M.J., Coleman J.L., Steinhubl S.R., et al., Onset and offset of platelet inhibition after high-dose clopidogrel loading and standard daily therapy measured by a point-of-care assay in healthy volunteers. Am J Cardiol. 2006; 98(5): 681-4*
  14. *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): 2946-50*
  15. *Bassand J.P., Impact of anaemia, bleeding, and transfusions in acute coronary syndromes: a shift in the paradigm. Eur Heart J. 2007; 28(11): 1273-4*
  16. *Hochholzer W., Trenk D., Bestehorn H.P., et al., Impact of the degree of peri-interventional platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective coronary stent placement. J Am Coll Cardiol. 2006; 48(9): 1742-50*
  17. *Muller I., Seyfarth M., Rüdiger S., et al., Effect of a high loading dose of clopidogrel on platelet function in patients undergoing coronary stent placement. Heart. 2001; 85(1): 92-3*
  18. *Sabatine M.S., Cannon C.P., Gibson C.M., et al., Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation. N Engl J Med. 2005; 352(12): 1179-89*
  19. *Chen Z.M., Jiang L.X., Chen Y.P., et al., Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. Lancet. 2005; 366(9497): 1607-21*
  20. *Steinhubl S.R., Berger P.B., Mann J.T., et al., Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary*



- intervention: a randomized controlled trial. JAMA. 2002; 288(19): 2411-20*
21. *Mehta S.R., Yusuf S., Peters R.J., et al., Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. Lancet. 2001; 358(9281): 527-33*
  22. *Yusuf S., Zhao F., Mehta S.R., et al., Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. N Engl J Med. 2001; 345(7): 494-502*
  23. *Van de Werf F., Bax J., Betriu A., et al., Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation: the Task Force on the Management of ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology. Eur Heart J. 2008; 29(23): 2909-45*
  24. *Rehmel J.L., Eckstein J.A., Farid N.A., et al. Interactions of two major metabolites of prasugrel, a thienopyridine antiplatelet agent, with the cytochromes P450. Drug Metab Dispos. 2006; 34: 600-7*
  25. *Jakubowski JA, Payne CD, Li YG, et al. A comparison of the antiplatelet effects of prasugrel and high-dose clopidogrel as assessed by VASP-phosphorylation and light transmission aggregometry. Thromb Haemost. 2008; 99: 215-22*
  26. *Farid NA, Payne CD, Small DS, et al. Cytochrome P450 3A inhibition by ketoconazole affects prasugrel and clopidogrel pharmacokinetics and pharmacodynamics differently. Clin Pharmacol Ther. 2007; 81: 735-41*
  27. *Mega JL, Close SL, Wiviott SD, et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. N Engl J Med. 2009; 360: 354-62*
  28. *Montalescot G, Wiviott SD, Braunwald E, et al. Prasugrel compared with clopidogrel in patients undergoing percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction (TRITON-TIMI*

- 38): *double-blind, randomised controlled trial. Lancet. 2009; 373: 723-31*
29. Wallentin L., Becker R.C., Budai A. et al. *Ticagrelor versus Clopidogrel in Patients with Acute Coronary Syndromes. N Engl J Med. 2009; 361: 1045-1057*
30. Harrington R.A., Stone G.W., McNulty S., et al. *Platelet inhibition with cangrelor in patients undergoing PCI. N Engl J Med. 2009; 361: 2318-2329*
31. Bhatt D.L., Lincoff A.M., Gibson C.M., et al. *Intravenous platelet blockade with cangrelor during PCI. N Engl J Med. 2009; 361: 2330-2341*
32. Bhatt D.L., Stone G.W., Mahaffey K.W., et al. *Effect of platelet inhibition with cangrelor during PCI on ischemic events. N Engl J Med. 2013; 368: 1303-1313*
33. Abtan J., Steg P.G., Stone G.W., et al. *Efficacy and Safety of Cangrelor in Preventing Periprocedural Complications in Patients With Stable Angina and Acute Coronary Syndromes Undergoing Percutaneous Coronary Intervention. JACC Cardiovasc Interv. 2016; 9(18): 1905-13*
34. Steinhubl S.R., Ellis S.G., Wolski K., et al. *Ticlopidine pretreatment before coronary stenting is associated with sustained decrease in adverse cardiac events: data from the Evaluation of Platelet IIb/IIIa Inhibitor for Stenting (EPISTENT) Trial. Circulation. 2001; 103(10): 1403-9*
35. Bertrand ME, Rupprecht HJ, Urban P. et al. *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: the clopidogrel aspirin stent international cooperative study (CLASSICS). Circulation. 2000; 102(6): 624-9*

36. *Morrow DA, Braunwald E, Bonaca MP, et al. Vorapaxar in the secondary prevention of atherothrombotic events. N Engl J Med 2012; 366 (15): 1404-13*
37. *Steg P.G., James S.K., Atar D., et al., ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. Eur Heart J. 2012; 33(20): 2569-619*
38. *Roffi M., Patrono C., Collet J.P. et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J. 2016; 37(3): 267-315*
39. *Yeh R.W., Secemsky E.A., Kereiakes D.J., et al., Development and Validation of a Prediction Rule for Benefit and Harm of Dual Antiplatelet Therapy Beyond 1 Year After Percutaneous Coronary Intervention. JAMA. 2016; 315(16): 1735-49*
40. *Sibbing D., Massberg S., Dual antiplatelet treatment after stenting: is longer better? Lancet. 2014; 384(9954): 1553-5*
41. *Diener H.C., Bogousslavsky J., Brass L.M., et al., Aspirin and clopidogrel compared with clopidogrel alone after recent ischaemic stroke or transient ischaemic attack in high-risk patients (MATCH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet. 2004; 364(9431): 331-7*
42. *Bhatt D.L., Fox K.A., Hacke W., et al., Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. N Engl J Med. 2006; 354(16): 1706-17*
43. *Herbert J.M., Dol F., Bernat A., et al., The antiaggregating and antithrombotic activity of clopidogrel is potentiated by aspirin in several experimental models in the rabbit. Thromb Haemost. 1998; 80(3): 512-8*
44. *Tendera M., Aboyans V., Bartelink M.L., et al., ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral artery diseases: Document*

- covering atherosclerotic disease of extracranial carotid and vertebral, mesenteric, renal, upper and lower extremity arteries: the Task Force on the Diagnosis and Treatment of Peripheral Artery Diseases of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J. 2011; 32(22): 2851-906*
45. *Rooke T.W., Hirsch A.T., Sanjay M., et al., 2011 ACCF/AHA Focused Update of the Guideline for the Management of patients with peripheral artery disease (Updating the 2005 Guideline): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines. Circulation. 2011; 124(18): 2020-45*
  46. *Norgren L., Hiatt W.R., Dormandy J.A., et al., Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). J Vasc Surg. 2007; 45 Suppl S: S5-67*
  47. *Brott T.G., Halperin J.L., Abbara S., et al., 2011 ASA/ACCF/AHA/AANN/AANS/ACR/ASNR/CNS/SAIP/SCAI/SIR/SNI S/SVM/SVS guideline on the management of patients with extracranial carotid and vertebral artery disease: executive summary. Circulation. 2011; 124(4): 489-532*
  48. *Camm A.J., Lip G.Y., De Caterina R., et al., 2012 focused update of the ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation: an update of the 2010 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation. Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association. Eur Heart J. 2012; 33(21): 2719-47*
  49. *Gent M., Beaumont D., Blanchard J., et al. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. Lancet. 1996; 348(9038): 1329-39*
  50. *Tantry U.S., Bliden K.P., Gurbel P.A., Resistance to antiplatelet drugs: current status and future research. Expert Opin Pharmacother. 2005; 6(12): 2027-45*

51. *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): 919-33*
52. *Tantry U.S., Bonello L., Aradi D., et al., Consensus and update on the definition of on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate associated with ischemia and bleeding. J Am Coll Cardiol. 2013; 62(24): 2261-73*
53. *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): 1097-105*
54. *Campo G., Parrinello G., Ferraresi P., et al., Prospective evaluation of on-clopidogrel platelet reactivity over time in patients treated with percutaneous coronary intervention relationship with gene polymorphisms and clinical outcome. J Am Coll Cardiol. 2011; 57(25): 2474-83*
55. *Gurbel P.A., Bliden K.P., Butler K., et al., 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. Circulation. 2009; 120(25): 2577-85*
56. *Codner P., Vaduganathan M., Rechavia E., et al., Clopidogrel response up to six months after acute myocardial infarction. Am J Cardiol. 2012; 110(3): 321-5*
57. *Campo G., Parrinello G., Ferraresi P., et al., Prospective evaluation of on-clopidogrel platelet reactivity over time in patients treated with percutaneous coronary intervention relationship with gene polymorphisms and clinical outcome. J Am Coll Cardiol. 2011; 57(25): 2474-83*
58. *Bouman H.J., Schömig E., van Werkum J.W., et al., Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy. Nat Med. 2011; 17(1): 110-6*
59. *Sibbing D., Koch W., Massberg S., et al., No association of paraoxonase-1 Q192R genotypes with platelet response to clopidogrel*

- and risk of stent thrombosis after coronary stenting. Eur Heart J. 2011; 32(13): 1605-13*
60. *Lewis J.P., Fisch A.S., Ryan K., et al., Paraoxonase 1 (PON1) gene variants are not associated with clopidogrel response. Clin Pharmacol Ther. 2011; 90(4): 568-74*
  61. *Hagihara K., Kazui M., Kurihara A., et al., A possible mechanism for the differences in efficiency and variability of active metabolite formation from thienopyridine antiplatelet agents, prasugrel and clopidogrel. Drug Metab Dispos. 2009; 37(11): 2145-52*
  62. *Saw J., Brennan D.M., Steinhubl S.R., et al., Lack of evidence of a clopidogrel-statin interaction in the CHARISMA trial. J Am Coll Cardiol. 2007; 50(4): 291-5*
  63. *Angiolillo D.J., Alfonso F., Clopidogrel-statin interaction: myth or reality? J Am Coll Cardiol. 2007; 50(4): 296-8*
  64. *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): 174-81*
  65. *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): 161-70*
  66. *Laine L., Hennekens C., Proton pump inhibitor and clopidogrel interaction: fact or fiction? Am J Gastroenterol. 2010; 105(1): 34-41*
  67. *Banerjee S., Weideman R.A., Weideman M.W., et al., Effect of concomitant use of clopidogrel and proton pump inhibitors after percutaneous coronary intervention. Am J Cardiol. 2011; 107(6): 871-8*
  68. *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): 127-39*

69. Aihara H., Sato A., Takeyasu N., et al., *Effect of individual proton pump inhibitors on cardiovascular events in patients treated with clopidogrel following coronary stenting: results from the Ibaraki Cardiac Assessment Study Registry. Catheter Cardiovasc Interv.* 2012; 80(4): 556-63
70. Focks J.J., Brouwer M.A., van Oijen M.G., et al., *Concomitant use of clopidogrel and proton pump inhibitors: impact on platelet function and clinical outcome- a systematic review. Heart.* 2013; 99(8): 520-7
71. Sherwood M.W., Melloni C., Jones W.S., et al., *Individual Proton Pump Inhibitors and Outcomes in Patients With Coronary Artery Disease on Dual Antiplatelet Therapy: A Systematic Review. J Am Heart Assoc.* 2015; 4(11). pii: e002245. doi: 10.1161/JAHA.115.002245.
72. Siller-Matula J.M., Lang I., Christ G., et al., *Calcium-channel blockers reduce the antiplatelet effect of clopidogrel. J Am Coll Cardiol.* 2008; 52(19): 1557-63
73. Gremmel T., Steiner S., Seidinger D., et al., *Calcium-channel blockers decrease clopidogrel-mediated platelet inhibition. Heart.* 2010; 96(3): 186-9
74. Li A.Y., Ng F.H., Chan F.K., et al., *Effect of amlodipine on platelet inhibition by clopidogrel in patients with ischaemic heart disease: a randomised, controlled trial. Heart.* 2013; 99(7): 468-73
75. Vlachojannis G.J., Dimitropoulos G., Alexopoulos D., *Clopidogrel resistance: current aspects and future directions. Hellenic J Cardiol.* 2011; 52(3): 236-45
76. 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): 1392-6
77. Buonamici P., Marcucci R., Migliorini A., et al., *Impact of platelet reactivity after clopidogrel administration on drug-eluting stent thrombosis. J Am Coll Cardiol.* 2007; 49(24): 2312-7

78. Seidel H., Rahman M.M., Scharf R.E., *Monitoring of antiplatelet therapy. Current limitations, challenges, and perspectives. Hamostaseologie. 2011; 31(1): 41-51*
79. Gremmel T., Steiner S., Seidinger D., et al., *Comparison of methods to evaluate clopidogrel-mediated platelet inhibition after percutaneous intervention with stent implantation. Thromb Haemost. 2009; 101(2): 333-9*
80. Paniccia R., Antonucci E., Gori A.M. et al., *Different methodologies for evaluating the effect of clopidogrel on platelet function in high-risk coronary artery disease patients. J Thromb Haemost. 2007; 5(9): 1839-47*
81. van Werkum J.W., van der Stelt C.A., Seesing T.H., et al., *A head-to-head comparison between the VerifyNow P2Y12 assay and light transmittance aggregometry for monitoring the individual platelet response to clopidogrel in patients undergoing elective percutaneous coronary intervention. J Thromb Haemost. 2006; 4(11): 2516-8*
82. Bhatt D.L., Flather M.D., Hacke W., et al., *Patients with prior myocardial infarction, stroke, or symptomatic peripheral arterial disease in the CHARISMA trial. J Am Coll Cardiol. 2007; 49(19): 1982-8*
83. Mehta S.R., Tanguay J.F., Eikelboom J.W., et al., *Double-dose versus standard-dose clopidogrel and high-dose versus low-dose aspirin in individuals undergoing percutaneous coronary intervention for acute coronary syndromes (CURRENT-OASIS 7): a randomised factorial trial. Lancet. 2010; 376(9748): 1233-43*
84. Caldeira D., Fernandes R.M., Costa J., et al., *Branded versus generic clopidogrel in cardiovascular diseases: a systematic review. J Cardiovasc Pharmacol. 2013; 61(4): 277-82*
85. Berger P.B., Steinhubl S., *Clinical implications of percutaneous coronary intervention-clopidogrel in unstable angina to prevent recurrent events (PCI-CURE) study: a US perspective. Circulation. 2002; 106(17): 2284-7*



86. Tsoumani M.E., Kalantzi K.I., Goudevenos I.A., et al., *Clopidogrel generic formulations in the era of new antiplatelets: a systematic review. Curr Vasc Pharmacol.* 2014; 12(5): 766-77
87. Khosravi A.R., Pourmoghadas M., Ostovan M., et al., *The impact of generic form of Clopidogrel on cardiovascular events in patients with coronary artery stent: results of the OPCES study. J Res Med Sci.* 2011; 16(5): 640-50
88. Suh J.W., Seung K.B., Gwak C.H., et al., *Comparison of antiplatelet effect and tolerability of clopidogrel resinate with clopidogrel bisulfate in patients with coronary heart disease (CHD) or CHD-equivalent risks: a phase IV, prospective, double-dummy, parallel-group, 4-week noninferiority trial. Clin Ther.* 2011; 33(8): 1057-68
89. Borsiczky B., Sarszegi Z., Konyi A., et al., *The effect of clopidogrel besylate and clopidogrel hydrogensulfate on platelet aggregation in patients with coronary artery disease: a retrospective study. Thromb Res.* 2012; 129(6): 700-3
90. Ashraf T., Ahmed M., Talpur M.S., et al., *Competency profile of locally manufactured clopidogrel Lowplat and foreign manufactured clopidogrel Plavix in patients of suspected ischemic heart disease (CLAP-IHD). J Pak Med Assoc.* 2005; 55(10): 443-8
91. Park J.B., Koo B.K., Choi W.G., et al., *Comparison of antiplatelet efficacy and tolerability of clopidogrel napadisilate with clopidogrel bisulfate in coronary artery disease patients after percutaneous coronary intervention: a prospective, multicenter, randomized, open-label, phase IV, noninferiority trial. Clin Ther.* 2013; 35(1): 28-37 e4
92. Marcucci R., Paniccchia R., Gori A.M., et al., *Bioequivalence in the real world is a complex challenge: the case of clopidogrel. J Am Coll Cardiol.* 2013; 61(5): 594-5
93. Kovacic J.C., Mehran R., Sweeny J., et al., *Clustering of acute and subacute stent thrombosis related to the introduction of generic clopidogrel. J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2014; 19(2): 201-8

94. Kim S.H., Sung J.H., Shin J., et al., *Assessment of the efficacy and tolerability of clopidogrel napadisilate in Korean patients with coronary stenting: a multicenter, prospective, open-label, randomized trial.* *Curr Med Res Opin.* 2015; 31(3): 449-57
95. Kim Y.I., Kim K.S., Suh K.H., et al., *New clopidogrel napadisilate salt and its solid dispersion with improved stability and bioequivalence to the commercial clopidogrel bisulphate salt in beagle dogs.* *Int J Pharm.* 2011; 415(1-2): 129-39
96. Jeong Y.H., Bliden K.P., Antonino M.J., et al., *Usefulness of the VerifyNow P2Y12 assay to evaluate the antiplatelet effects of ticagrelor and clopidogrel therapies.* *Am Heart J.* 2012; 164(1): 35-42
97. Price M.J., Nayak K.R., Barker C.M., et al., *Predictors of heightened platelet reactivity despite dual-antiplatelet therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention.* *Am J Cardiol.* 2009; 103(10): 1339-43
98. Tidjane M.A., Voisin S., Lhermusier T., et al., *More on: adenosine diphosphate-inducible platelet reactivity shows a pronounced age dependency in the initial phase of antiplatelet therapy with clopidogrel.* *J Thromb Haemost.* 2011; 9(3): 614-6
99. Bertrand M.E., Rupprecht H.J., Urban P., et al., *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: the clopidogrel aspirin stent international cooperative study (CLASSICS).* *Circulation.* 2000; 102(6): 624-9
100. Kwok C.S., Khan M.A., Rao S.V., et al., *Major bleeding after percutaneous coronary intervention and risk of subsequent mortality: a systematic review and meta-analysis.* *Open Heart.* 2014; 1(1): e000021.
101. Isshiki T., Kimura T., Ueno T., et al., *Clopidogrel trial in patients with elective percutaneous coronary intervention for stable angina and old myocardial infarction (CLEAN).* *Int Heart J.* 2012; 53(2): 91-101

102. Fox K.A., Mehta S.R., Peters R., et al., Benefits and risks of the combination of clopidogrel and aspirin in patients undergoing surgical revascularization for non-ST-elevation acute coronary syndrome: the Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent ischemic Events (CURE) Trial. *Circulation*. 2004; 110(10): 1202-8
103. Shim C.Y., Park S., Song J.W., et al., Comparison of effects of two different formulations of clopidogrel bisulfate tablets on platelet aggregation and bleeding time in healthy Korean volunteers: A single-dose, randomized, open-label, 1-week, two-period, phase IV crossover study. *Clin Ther*. 2010; 32(9): 1664-73
104. Di Girolamo G., Czerniuk P., Bertuola R., et al., Bioequivalence of two tablet formulations of clopidogrel in healthy Argentinian volunteers: a single-dose, randomized-sequence, open-label crossover study. *Clin Ther*. 2010; 32(1): 161-70
105. Filipe A., Almeida S., Franco Spínola A.C., et al., Single-dose randomized, open-label, 2-way crossover bioequivalence study of clopidogrel 75 mg tablet in healthy volunteers under fasting conditions. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2009; 47(3): 187-94
106. Kim S.D., Kang W., Lee H.W., et al., Bioequivalence and tolerability of two clopidogrel salt preparations, besylate and bisulfate: a randomized, open-label, crossover study in healthy Korean male subjects. *Clin Ther*. 2009; 31(4): 793-803
107. Park J.Y., Kim K.A., Ryu J.H., et al., Pharmacokinetics and the antiplatelet effect of a new clopidogrel formulation, clopidogrel besylate, in healthy subjects. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2010; 48(4): 259-69
108. Sambu N., Radhakrishnan A., Curzen N., A randomized crossover study comparing the antiplatelet effect of plavix versus generic clopidogrel. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2012; 60(6): 495-501
109. Tsoumani M.E., Kalantzi K.I., Dimitriou A.A., et al., Effect of clopidogrel besylate on platelet reactivity in patients with acute

- coronary syndromes. Comparison with clopidogrel hydrogen sulfate. Expert Opin Pharmacother. 2012; 13(2): 149-58*
110. *Tsoumani M.E., Kalantzi K.I., Dimitriou A.A., et al., Antiplatelet efficacy of long-term treatment with clopidogrel besylate in patients with a history of acute coronary syndrome: comparison with clopidogrel hydrogen sulfate. Angiology. 2012; 63(7): 547-51*
  111. *Jeong Y.H., Koh J.S., Kang M.K., et al., The impact of generic clopidogrel bisulfate on platelet inhibition in patients with coronary artery stents: results of the ACCEL-GENERIC study. Korean J Intern Med. 2010; 25(2): 154-61*
  112. *Gilard M., Barragan P., Noryani A.A., et al., 6- versus 24-month dual antiplatelet therapy after implantation of drug-eluting stents in patients nonresistant to aspirin: the randomized, multicenter ITALIC trial. J Am Coll Cardiol. 2015; 65(8): 777-86*
  113. *Kalantzi K.I., Dimitriou A.A., Goudevenos J.A., et al. The platelet hyporesponsiveness to clopidogrel in acute coronary syndrome patients treated with 75 mg/day clopidogrel may be overcome within 1 month of treatment. Platelets. 2012; 23(2): 121-31*
  114. *Hamilos M., Saloustros I., Skolidis E. et al., Comparison of the antiplatelet effect of clopidogrel hydrogensulfate and clopidogrel besylate in patients with stable coronary artery disease. J Thromb Thrombolysis. 2015; 40(3): 288-93*
  115. *Gomez Y., Adams E., Hoogmartens J., Analysis of purity in 19 drug product tablets containing clopidogrel: 18 copies versus the original brand. J Pharm Biomed Anal. 2004; 34(2): 341-8*
  116. *Hochholzer W., Ruff C.T., Mesa R.A., et al., Variability of individual platelet reactivity over time in patients treated with clopidogrel: insights from the ELEVATE-TIMI 56 trial. J Am Coll Cardiol. 2014; 64(4): 361-8*
  117. *Brar S.S., ten Berg L, 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): 1945-54*
118. *Stone G.W., Witzenbichler B., Weisz G., et al., Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): a prospective multicentre registry study. Lancet. 2013; 382(9892): 614-23*
119. *Frelinger A.L., Bhatt D.L., Lee R.D., et al., Clopidogrel pharmacokinetics and pharmacodynamics vary widely despite exclusion or control of polymorphisms (CYP2C19, ABCB1, PON1), noncompliance, diet, smoking, co-medications (including proton pump inhibitors), and pre-existent variability in platelet function. J Am Coll Cardiol. 2013; 61(8): 872-9*