

# Aterotrombotik hastalıklarda güncel bir sorun - aspirin direnci: Tanımı, oluşum mekanizmaları, laboratuvar yöntemleri ile belirlenmesi ve klinik sonuçları

*A current problem in atherothrombotic diseases - aspirin resistance: Definition, mechanisms, determination with laboratory tests and clinical implications*

Burak Pamukçu, Hüseyin Oflaz, Yılmaz Nişancı

Istanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

## ÖZET

Aspirin (asetilsalisilik asit), aterotrombotik kardiyovasküler olayların önlenmesinde kullanılan güçlü bir antiagregandır. Ancak aspirinin antiagregan etkinliği tüm hastalarda aynı düzeyde görülmemekte ve bazı hastalar aspirinden yararlanamamaktadır. Bu hastalar klinik olarak aspirin direnci olan hastalar veya aspirine yanıtız hastalar olarak adlandırılmaktadır. Aspirin direnci; kanama zamanı, optik agregometri, PFA-100 (trombosit işlev inceleyicisi), Ultegra-RPFA (hızlı trombosit işlev testi), aktive pıhtılaşma zamanı, tam kan agregometrisi, trombosit agregasyon oranı, akım sitometrisi, kan veya idrar tromboksan B2 düzeyi ve trombosit yüzey proteinlerinin ölçümü gibi yöntem ve cihazlar ile belirlenebilmektedir. Oluşum mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılmamış olup bu konuda çok sayıda araştırma yürütülmektedir. Aspirin direncinin klinik kardiyovasküler olaylarda artışa yol açabileceğine işaret eden çalışmalar yayınlanmaktadır. Bununla birlikte aspirin direnci olan hastalarda tedavi alternatifleri üzerinde veya aspirin direnci saptanan olgularda majör kardiyovasküler olay riskini azaltacak medikal tedaviler üzerinde henüz yeterli bilgi bulunmamaktadır. (*Anadolu Kardiyol Derg 2007; 7 Özel Sayı 2; 20-6*)

**Anahtar kelimeler:** Aspirin, aspirin direnci, platelet fonksiyon testleri

## ABSTRACT

Aspirin (acetylsalicylic acid) is a powerful antiplatelet agent used in prevention of atherothrombotic vascular events. However, antiplatelet effect of aspirin is not uniform and some patients could not benefit from aspirin. These patients are clinically called as aspirin resistant or aspirin non-responders. Aspirin resistance could be determined by: bleeding time, optical aggregometry, PFA-100 (Platelet Function Analyzer), Ultegra-RPFA (Rapid Platelet Function Assay), activated aggregation time, whole blood aggregometry, platelet aggregate ratio, flow cytometry, measurements of platelet surface proteins and blood or urine thromboxane B2 levels. Mechanisms of aspirin resistance have not been elucidated yet. There is evidence that aspirin resistance increases clinical cardiovascular events. Adequate additional therapies may reduce atherothrombotic risks and major cardiovascular events rate in aspirin resistant subjects. However, we need further studies to decrease major cardiovascular events risk in aspirin resistant subjects and to optimize antiplatelet therapy. (*Anadolu Kardiyol Derg 2007; 7 Suppl 2; 20-6*)

**Key words:** Aspirin, aspirin resistance, platelet function tests

## Giriş

Aspirin (asetilsalisilik asit), aterotrombotik kardiyovasküler olayların önlenmesinde kullanılan güçlü bir antiagregandır. Aspirinin birincil ve ikincil korunmada etkinliği miyokard infarktüsü (MI) ve iskemik serebrovasküler hastalıkta ispatlanmıştır. Koroner kalp hastalığı (geçirilmiş MI, kararsız angina pectoris) ve serebrovasküler hastalığı olan olgular üzerinde yapılmış 145 randomize çalışmayı içine alan bir meta-analizde, 75 ila 300 mg/gün dozunda

aspirin tedavisinin ölümlerle sonuçlanmayan MI riskini %35 ( $p<0.00001$ ), vasküler olay riskini de %18 ( $p<0.00001$ ) oranında azalttığı gösterilmiştir (1, 2).

Akut veya önceden geçirilmiş vasküler olay öyküsü olan yüksek riskli hastaların alındığı çalışmaların meta-analizinde antirombosit tedavinin bu yüksek riskli hastalarda ciddi vasküler olaylarda 1/4 oranında, ölümcül olmayan MI'nde 1/3 oranında, ölümcül olmayan inmede 1/3 oranında ve vasküler ölümden 1/6 oranında azalmayı belirgin yan etkiye yol açmaksızın sağladığı gösterilmiştir (3).

Aspirinin birincil korunmada etkinliğini araştıran 'Physicians' Health Study' isimli araştırmada aspirin kullanan grupta plasebo grubuna oranla MI riskinde %44 oranında azalma saptanmıştır (%95 güven aralığında göreceli risk 0.56 (0.45-0.70),  $p < 0.00001$ ) (4).

Aspirinin ikincil korunmadaki etkinliğini gösteren ISIS-2 çalışmasında akut MI ön tanısı ile hastaneye yatırılan hastalardan aspirin tedavisi verilen 8587 hastadan 804'ünde (%9.4) 5 haftanın sonunda vasküler ölüm görülürken, plasebo grubunda 8600 hastadan 1016'sında (%11.8) vasküler ölüm saptanmıştır (odds azalması: %23 SD 4;  $2p < 0.00001$ ). Aspirinin ölümcül olmayan reinfarktüs ve inmede plaseboyla karşılaştırıldığında sırasıyla (%1.0'e karşı %2.0) ve (%0.3'e karşı %0.6) azalma sağladığı gösterilmiştir (5).

Bununla birlikte aspirinin antiagregan etkinliği tüm hastalarda aynı düzeyde görülmemekte ve bazı hastalar aspirinden yararlanamamaktadır. Bu hastalar klinik olarak aspirin direnci olan hastalar veya aspirine yanıtız hastalar olarak adlandırılmaktadır. Aspirin direnci klinik ve laboratuvar yöntemleri ile tanımlanabilmektedir. Çeşitli kardiyovasküler hastalıkları olan bireylerde aspirinin trombosit işlevini baskılayıcı etkinliğinin ölçülmesi amacı ile çok sayıda yöntem ve cihaz geliştirilmiştir. Günümüzde, bu yöntem ve cihazlar ile yapılan ölçümler sonucunda aspirin direnci belirlenebilmektedir. Literatürde, değişik kardiyovasküler hastaları içeren gruplarda farklı yöntemlerle %5.5-45 oranında aspirin direnci prevalansı bildirilmiştir (6). Aspirin direnci olan hastalarda majör kardiyovasküler olay riskinde artış olabileceğine dair kanıtlar günden güne artmaktadır. Aspirin direnci olan bireylerin belirlenmesi, aspirin direncine bağlı olarak artan kardiyovasküler olay riskinin azaltılması ve antiagregan tedavinin etkinliğinin artırılmasına yönelik klinik çalışmalar sürmektedir. Bu derlemenin amacı aspirin direncinin; tanımı, laboratuvar yöntemleri ile belirlenmesi, klinik sonuçları ve tedavisinin gözden geçirilmesidir.

## Aspirinin etki mekanizması

Hücre duvarı fosfolipidlerinin çeşitli uyarılar ile aktive edilen fosfolipazlarca parçalanması sonucunda araşidonik asid ortaya çıkmaktadır. Araşidonik asidten prostaglandin H sentaz enzimi ile prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>) ardından da prostasiklin 2 (PGI<sub>2</sub>), tromboksan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>), prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) sentezlenmektedir. Prostaglandin H sentaz enzimi siklooksijenaz (COX) ve hidropeksidaz (HOX) aktivite içerir. Aspirin, COX enziminin 529. pozisyonundaki serin kalıntısını geri dönüşümsüz biçimde asetillenerek etki göstermektedir. Etkinlik ve güvenilirliğine yönelik çalışmalarda aspirin 30 mg ila 1500 mg/gün dozunda kullanılmıştır. Bu çalışmalarda 75-100 mg/gün dozda aspirinin antiagregan etkinliği saptanmış ve dolaşımda yarılanma ömrü 20 dakika olmasına rağmen COX-1 enzimini geri dönüşümsüz inhibe edişinden dolayı 24-48 saat aralıklarla kullanıldığında etkili olduğu gösterilmiştir (2, 7, 8). Araşidonik asid metabolizması ve aspirinin etki mekanizması Şekil 1'de gösterilmiştir.

## Aspirin Direnci

### Tanım ve epidemiyolojik bilgiler

Aspirin direnci klinik olarak aspirinin terapötik dozlarda kullanımına rağmen trombotik ve embolik vasküler olayların gerçekleşmesi olarak tanımlanmaktadır (9, 10). Laboratuvar yöntemleri ile ise olağan antiagregan dozlarda aspirin kullanımına rağmen TxA<sub>2</sub>

oluşumunun baskılanmasında yetersizlik (11) veya aspirin kullanımına rağmen in-vitro koşullarda optik agregometri ile yapılan ölçümlerde 10  $\mu$ M adenosin difosfat (ADP) ilavesiyle %70 veya üzerinde ve 0.5 mg/ml araşidonik asid ilavesiyle de %20 veya üzerinde ortalama trombosit agregasyonunun gerçekleşmesi olarak tanımlanmıştır. Bu iki kriterden yalnızca bir tanesinin sağlanması durumu ise aspirine kısmi yanıtılık olarak tanımlanmıştır (6, 12).

Bir diğer çalışmada aspirin direnci tip I (farmakokinetik), tip II (farmakodinamik) ve tip III (yalancı direnç) olmak üzere üç grupta sınıflandırılmıştır. Tip I direnç olan olgular oral yolla aspirin tedavisinin kollajen ile indüklenen trombosit agregasyonunu bloke edemediği ancak in-vitro 100 mikroM aspirin eklenmesi ile tam trombosit agregasyonu ve tromboksan oluşumunun inhibisyonunun sağlandığı hastalardaki aspirin direncini ifade etmektedir. Tip II aspirin direnci ise oral aspirin tedavisi ve in-vitro eklenen aspirinin kollajenin indüklediği trombosit agregasyonu ile tromboksan oluşumunu bloke edemediği durum olarak tanımlanmıştır. Tip III aspirin direncinde ise oral aspirin tedavisi ile tromboksan oluşumunun tam olarak önlenmesine rağmen trombosit agregasyonunun düşük doz kollajen ile indüklenmesi ifade edilmiştir (13).

Kararlı koroner arter hastalarından oluşan 326 hastalık bir kohortta, aspirin direnci optik agregometri ve Platelet Function Analyzer (PFA)-100 (Dade Behring, Almanya) metodları ile araştırılmış; optik agregometri ile olguların %5.5'inde aspirin direnci ve %23.8'inde ise aspirine kısmi yanıtılık saptanmıştır. Aynı çalışmada PFA-100 ile hastaların %9.5'inde aspirin direnci saptanmıştır (6).

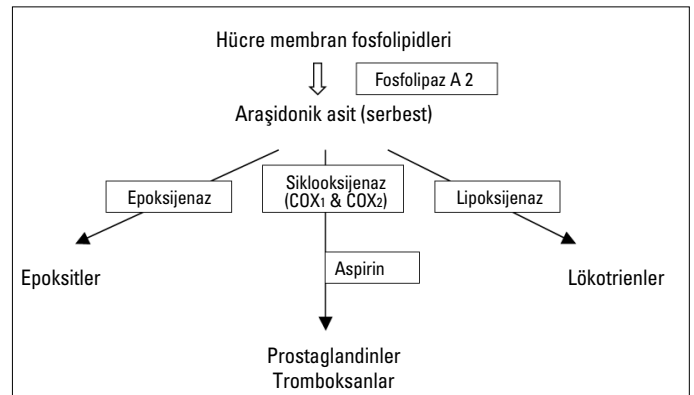
Aspirin direnci prevalansının intrakoroner stent restenozu olan hastalarda (%31.3), ve akut koroner sendromlu hastalarda (%40.3) daha yüksek oranlarda saptandığı bildirilmektedir (14, 15). Aspirin direnci prevalansı PFA-100 ile yapılan çalışmalarda inme ve periferik arter hastalığı olan bireylerde sırasıyla %37 ve %40 olarak bildirilmiştir (16, 17).

Koroner arter baypas greft operasyonu sonrası trombosit fonksiyonlarının aspirin ile bloke edilmesinde azalma olmakta, aspirin direnci gelişebilmektedir (18).

Farklı hasta gruplarında aspirin direnci sıklığı Tablo 1'de gösterilmiştir.

### Aspirin direncinin laboratuvar yöntemleri ile belirlenmesi

Kanama zamanı, optik agregometri, PFA-100, Ultegra hızlı trombosit işlev inceleyicisi (Ultegra Rapid Platelet Function Assay-RPFA, Accumetrics, San Diego, California, USA), aktive pıhtılaşma zamanı, tam kan agregometrisi, trombosit sayım oranı, akım sitometrisi, kan



Şekil 1. Araşidonik asit metabolizması ve aspirinin etki mekanizması  
COX- siklooksijenaz

veya idrar tromboksan B2 düzeyi ve trombosit yüzey proteinlerinin ölçümü gibi yöntem ve cihazlar trombosit fonksiyonlarını değerlendirilmede kullanılmaktadır. Aşağıda klinik araştırmalarda sıklıkla kullanılan yöntemler ayrıntılı olmak üzere bu yöntemler irdelenecektir.

**Optik agregometri:** Klinik araştırmalarda trombosit fonksiyonlarını incelemeye kullanılan ve trombosit zengin plazma örneklerinin enkübasyon, karıştırma ve agregasyonu uyaran maddelere maruz bırakma gibi aşamalardan geçirildikten sonra kan örneğinin spektrofotometri ile değerlendirildiği yöntemdir. Trombositlerin agregasyonu ile kan örneğinin optik dansitesinde oluşan değişimin saptanmasına dayanan bu yöntemde ADP, epinefrin ve araşidonik asid infüzyonu agregasyonun uyarıcıları olarak kullanılmaktadır. Aspirin kullanımı trombositlerin agregasyonunda azalma ve anormal test sonucuna neden olmaktadır. Aspirin direnci olan olgularda ise aspirine rağmen 10 µM ADP ile  $\geq$  %70 ve 0.5 mg/ml araşidonik asid ile  $\geq$  %20' lik ortalama trombosit agregasyonu gerçekleşmektedir. Optik agregometri yöntemi; kan örneklerinin hazırlanmasında güçlükler içermesi, tetkik prosedürü bakımından yüksek oranda testi yapan kişiye bağımlı oluşu ve zaman alıcı bir işlem oluşu nedeni ile günlük pratikte zorlukla uygulanabilen bir yöntemdir. Total standart sapma %3.6-7.7 arasında bildirilmiştir. Bu nedenlere bağlı olarak yaygın olarak kullanılmamaktadır (19).

**PFA-100:** PFA-100 in vitro koşullarda primer hemostazı taklit eden bir sistemdir. Cihaz sodyum sitrat ile antikoagüle edilen 800 µL tam kan örneğini 147 µm çapında bir açıklıktan kollajen ve diğer trombosit aktive ediciler ile kaplı bir membranın içine doğru aspire eder. Trombositler membran ile etkileşime girerler ve bu olay açıklığın tam kapanması ile sonuçlanır. PFA-100 testin başlangıcından bu açıklığın trombosit tıkaç ile kapanması arasında geçen zamanı ölçer. Kapanma zamanı (KZ, closure time=CT) olarak ifade edilen bu süre in vitro trombosit fonksiyonlarını gösterir. Cihaz iki farklı tip-te kartuş kullanabilmektedir; (kollajen ve/veya epinefrin (Col/Epi) ile kollajen ve/veya ADP (Col/ADP)). Aspirin kullanımı genellikle Col/Epi kartuşları ile yapılan ölçümleri etkilemektedir. Col/ADP kartuşları ise aspirin etkisi dışında oluşan trombosit fonksiyon bozukluklarının incelenmesinde kullanılabilir (von Willebrand hastalığı vb.). PFA-100 için Col/Epi kartuşlarıyla normal referans aralığı 98-185 saniye, Col/ADP kartuşları ile de 81-113 saniye olarak kabul edilmektedir (20). Aspirin direnci, düzenli aspirin kullanımına rağmen Col/Epi kartuşları ile yapılan ölçümlerde kapanma zamanının 186 saniyenin altında oluşu olarak tanımlanmaktadır.

Doğrulama çalışmaları PFA-100 cihazının Col/ADP ve Col/Epi kartuşları ile yapılan ölçümlerinin gün içi ve günden güne değişim oranının sırasıyla %15 ve %10'dan az olduğunu ve tekrarlanan ölçümlerin

**Tablo 1. Çeşitli kardiyovasküler hastalık gruplarında farklı yöntemlerle aspirin direnci sıklığı**

Araştırmacılar	Hasta grubu	n	Yöntem	Aspirin direnci
Gum ve ark. (6)	Kararlı koroner arter hastalarında	325	Optik agregometri PFA-100 (Col/EPI, KZ<193s)	%5.5 %9.5
Helgason ve ark. (9)	İnme	306	Optik agregometri	%25
Chen ve ark. (51)	Elektif PKG	151	Ultegra RPFA (ARU $\geq$ 550)	%19.2
Roller ve ark. (17)	Periferik arter hastalığı	31	PFA-100 (Col/EPI, KZ<165s)	%40
Pamukçu ve ark. (14)	İntrakoroner stent restenozu	204	PFA-100 (Col/EPI, KZ<186s)	%31.3 restenozlu grupta, %10.7 patent stentli grupta
Hobikoglu ve ark. (15)	AKS and kararlı KAH	204	PFA-100 (Col/EPI, KZ<186s)	AKS'de %40.3, kararlı KAH'da %27

AKS- akut koroner sendrom, Col- kollajen, Epi- epinefrin, KAH- koroner arter hastalığı, KZ- kapanma zamanı, PKG- perkütan koroner girişim

**Tablo 2. Aspirin direncinin olası mekanizmaları**

Ekstresek nedenlere bağlı aspirin direnci
1. Aspirin tedavisine uyum göstermeme
2. Yetersiz dozda aspirin kullanımı
3. Sigara kullanımına bağlı trombosit agregasyonu artışı
İntresek nedenlere bağlı aspirin direnci (biyolojik, genetik, inflamatuvar)
1. Farmakokinetik ve farmakodinamik farklılıklar (tip I ve Tip II aspirin direnci)
2. Aşırı egzersiz ve mental strese bağlı artmış katekolamin salınımı
3. Tromboksandan bağımsız trombosit etkinleştiricileri ile etkileşime (ADP, trombin, serotonin)
4. Genetik polimorfizmler (COX-1, GP IIIa, GP Ia/IIa 807 C/T (873 G/A), P2Y1 genleri)
5. Akıma bağlı stres nedeni ile artmış trombosit etkinliği
6. Artmış PGF2 $\alpha$ , F2 izoprostan ve proinflamatuvar proteinler (sCD40L)
7. Kollajen veya ADP'ye artmış trombosit duyarlılığı
8. COX2 mesajcı RNA'sının trombositler ve insan endotel hücrelerinde aşırı sentezlenmesi
9. Eristrositlerin indüklediği trombosit aktivitesi artışının yetersiz inhibisyonu

ADP- adenosin difosfat, COX- siklooksijenaz, GP- glikoprotein, PG- prostaglandin

çümler arasında klinik olarak anlamlı fark bulunmadığını göstermektedir (20).

Tek doz aspirinin insan trombositleri üzerine olan etkisini gösteren bir çalışmada, optik agregometri, PFA-100 ve RPFA-ASA (ARU-Aspirin reaksiyon ünitesi) metodları karşılaştırılmıştır. Optik agregometri, PFA-100 ve RPFA-ASA (ARU) yöntemlerinin tek doz aspirinin trombosit fonksiyonları üzerine olan etkisini belirlemede istatistiksel olarak anlamlı düzeyde duyarlı bulunmuştur ( $p < 0.00005$ ) (21).

**Ultegra RPFA:** Trombosit fonksiyonlarının incelenmesinde kullanılan hızlı basit ve doğru sonuç veren türbidimetrik bir yöntemdir. Cihaz reaksiyon odacıklarında trombin aktive edici peptid içermekte olup fibrinojen kaplı yuvalarına tam kanın yerleştirilmesi ile trombosit agregasyonu gerçekleşmektedir. Örneğin optik dansitesinde oluşan fark ölçülmektedir. Yapılan bir araştırmada optik agregometri ile iyi korelasyon gösterdiği belirlenmiştir ( $r=0.89$ ). Ölçümler operatöre bağımlı olmayıp hastanın kullandığı diğer ilaçlar, hematolojik parametreler ve demografik bulgulardan etkilenmemektedir (22).

**İdrar tromboksan B2 düzeyinin belirlenmesi:** 11-Dehidrotromboksan B2 (11-DTB2) tromboksan A2'nin kararlı bir metaboliti olup idrarda düzeyine bakılarak trombosit etkinliğinin bir göstergesi olarak kullanılabilir. Önceden koroner kardiyovasküler olay geçiren 488 hastanın idrar 11-DTB2 düzeylerine bakılmış ve hastalar beş yıl boyunca kardiyovasküler olaylar açısından izlenmiştir. Artmış idrar 11-DTB2 düzeyi olan hastalarda artmış klinik kardiyovasküler olay saptanmış olup bu durum aspirin direnci ile ilişkilendirilmiştir (11).

### Aspirin direncinin olası oluşum mekanizmaları

Aspirin direncinin oluşum mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Literatürde tanımlanan başlıca mekanizmalar aşağıda açıklanmıştır.

**1. Eritrositlerin indüklediği trombosit etkinliğinin yetersiz engellenmesi:** Ortamda eritrositlerin varlığı TX-B2, serotonin, ADP ve  $\beta$ -tromboglobulin artışına neden olmaktadır. Eritrositlerin trombosit agregasyonu üzerine etkileri aspirin ile baskılanabilmekte ancak 2-3 haftalık aspirin tedavisi sonrasında eritrositler trombositlerin reaktivitesini tekrar etkilemeye başlamaktadır (23). Artmış ikisi iskemik kalp hastalığı, 20'si iskemik serebrovasküler hastalığı olan toplam 82 vaka üzerinde yapılan bir çalışmada eritrositlerin varlığında 200-300 mg aspirinin trombosit aktivitesini yeterli düzeyde bloke edemediği gösterilmiştir (23, 24).

**2. PGF<sub>2</sub>alfa (PGF<sub>2</sub> $\alpha$ ) biosentezi:** PGF<sub>2</sub> $\alpha$  serbest radikallerin membran lipidlerini enzimatik olmayan yolla perokside etmesi sonucu oluşan vazokonstriktör ve trombosit agregasyonunu artırıcı bir mediyatördür. Diyabetes mellitus, kararsız angina pectoris, hiperlipidemi ve sigara kullanımında PGF<sub>2</sub> $\alpha$  düzeyi artmakta ve bu hastalarda aynı zamanda antioksidan mekanizmalarda zayıflık ve serbest radikal artışı da izlenmektedir. Yine bu hastalarda aspirine duyarlı tromboksan sentezi olmaktadır. Kararsız angina pectorisli hastalarda, kararlı angina pectorisli hastalarla kıyaslandığında artmış oranlarda idrar 8-isoprostaglandin düzeyleri saptanmıştır. COX-2 kaynaklı TX ve enzimatik olmayan yolla F2 isoprostan oluşumu aspirine duyarlı trombosit aktivitesinin oluşumunda önemli iki mekanizmadır (25).

**3. Sigara kullanımının trombositleri uyarması:** Sigara kullanımına bağlı artmış trombosit agregasyonu kardiyovasküler hastalıklar için majör bir risk faktörü olarak görülmektedir. Koroner arter hastalığı olup sigara içmeyi sürdüren 30 hasta ile sigara içmeyen 22 sağlıklı gönüllünün alındığı, çift kör, randomize bir çalışmada trombosit agregasyon oranı ile trombosit granüllerinde bulunduğu ve trombosit agregasyonu esnasında salındığı bilinen trombosit faktör 4 düzeylerinin sigara içimi öncesi ve sonrasında aspirin tedavisi altında değişimi incelenmiştir. Sigara içme sonrasında trombosit agregasyon oranının düştüğü ( $p < 0.0001$ ) ve trombosit faktör 4 düzeyinin arttığı ( $p < 0.0006$ ), bu durumun aspirin tedavisi ile düzellemediği bildirilmiştir (26).

**4. Aşırı egzersiz ve mental strese bağlı katekolamin artışı:** Aşırı egzersiz ve mental stresin, katekolamin artışına ve aspirin direncine yol açtığı ileri sürülmektedir. Norepinefrin infüzyonu altında trombosit aktivitesinin izlendiği bir çalışmada önceden aspirin tedavisi verilen grupta bazal trombosit aktivitesinin baskılandığı ancak norepinefrin infüzyonu esnasında ölçülen trombosit aktivitesinin aspirin tedavisinden etkilenmediği ispatlanmıştır (27). Egzersizin neden olduğu artmış trombosit aktivitesi aspirin ile önlenmemektedir (28).

**5. Trombosit ve insan endotel hücrelerinde COX-2 mRNA'sının aşırı ekspresyonu:** Trombositlerde bulunmayan COX-2, sitokinler, endotoksin, büyüme faktörleri ve akım stresi ile uyarılmış endotel hücrelerince oluşturulabilmektedir. COX-2 enzimi, COX-1 enzimine oranla aspirine 170 kez daha az duyarlıdır. Ateroskleroz gibi enflamatuvar durumlarda damar endotel hücreleri uyarılarak COX-2 ekspresyonunu artırabilmektedir. Bu durum artmış TxA<sub>2</sub> oluşumu ve aspirine dirençli trombosit agregasyonu ile sonuçlanabilmektedir (11, 29, 30).

### 6. Aspirin direncinin genetik nedenleri

**a. COX-1 enzimi gen polimorfizmi:** COX-1 enziminin 530. pozisyonunda yer alan serin amino asidinin asetillenmesi ile COX-1 geri dönüşsüz olarak bloke olmaktadır. Ancak Ser529'u etkileyen COX-1 gen polimorfizmi olan olgularda, COX-1 enzimi %86'ya varan oranlarda inhibe edilememektedir. Bu genetik polimorfizmin aspirin direncine neden olabileceği düşünülmektedir (31, 32).

**b. Glikoprotein (GP) IIIa gen polimorfizmi:** Fibrinojen ve von Willebrand faktörü için membran reseptörü olan ve trombosit agregasyonunda önemli rol oynayan GP IIb/IIIa geninde polimorfizm sonucu P1A2 alleli olan kişilerde ve yakınlarında akut koroner sendrom preatür ateroskleroz ve aspirine daha az yanıt alınması gözlemlenmiştir (33, 34). Framingham Offspring çalışmasında GPIIIa reseptörünün 1 veya 2 P1A<sup>2</sup> allelinin varlığı, trombositlerin daha düşük eşik yoğunlukta epinefrin ile belirgin olarak uyarılabilmesi ve ADP'a cevap için daha düşük eşik konsantrasyona ihtiyaç duyulması eğilimi ile ilişkili olduğu saptanmıştır (35). Düşük doz aspirin tedavisi altındaki hastalarda, GPIIIa, GPIa/IIa (C807T) ve GPIb $\alpha$  (C-5T Kozak) gen polimorfizmlerinin aspirin direnci ile olan ilişkilerinin incelendiği bir çalışmanın sonucunda P1A<sup>1</sup>, A1 alleline sahip bireylerin trombositlerinin düşük doz aspirine daha duyarlı olma eğilimleri olduğu saptanmıştır (36). Bir diğer çalışmada intrakoroner stent restenozu olan hastalarda saptanan yüksek doz aspirin direnci ile P1A polimorfizmi arasındaki ilişki araştırılmış olup, aspirin direnci ile P1A polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır (14).

**c. 807 C/T (873 G/A) gen polimorfizmi:** Integrin ailesine mensup olan GPIIb/IIIa trombosit yüzeyinde bulunan bir kollajen reseptörüdür (37). Bu glikoprotein polimorfizmi kollajene alternatif yantıt ile sonuçlanmaktadır. Kollajenin trombositleri aktive eden ajanlardan biri oluşu nedeniyle artmış trombosit uyarılması ve aspirin direnci ile sonuçlanabilmektedir. Bir çalışmada bu genin polimorfizminin, miyokard infarktüsü riskinde 3 kate varan oranlarda artışa neden olduğu saptanmıştır (38).

**d. Trombosit yüzeyinde adenozin 5-difosfat reseptör geni P2Y1'de tek nükleotid polimorfizmi:** Trombosit agregasyonunda rol oynayan bir dizi proteinin genlerindeki nükleotid polimorfizmini inceleyen bir çalışmanın ön sonuçları P2Y1 geni polimorfizminin aspirin direnci ile istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ilişkili olduğunu göstermiştir (39).

**e. Diğer nedenler:** Tedaviye uyumsuzluk, yetersiz dozda aspirin kullanımı, aspirinin emilim kusurları, trombosit etkinliğinin trombokandan bağımsız uyarıcıları (ADP, trombin, serotonin), trombosit reseptörlerinin aspirine duyarlı etkinleştiricileri (monosit PGHS-2 kaynaklı Tx-A2 ve F2 izoprostan), dolaşan katekolaminlerin proagregatuar faktörleri, "shear" stres (40, 41) ve trombositlerin kollajen veya ADP duyarlılığında artma, nonsteroid antienflamatuvar ilaç kullanımı ve bunların aspirin ile etkileşimi (42) aspirin direncine neden olduğu ileri sürülen diğer olası mekanizmalardandır.

Aspirin direncinin olası nedenleri Tablo 2'de belirtilmiştir.

#### Aspirin direncinin klinik sonuçları

Aspirin direncinin klinik kardiyovasküler olaylarla ilişkisini araştıran bir çalışmada 325 mg/gün dozunda en az 7 gün süre ile aspirin kullanmış ve başka antitrombosit tedavi almayan 326 kararlı kardiyovasküler hasta 679±185 gün süre ile ölüm, MI ve serebrovasküler olay sıklığı yönünden izlenmiştir. Aspirin direnci olmayan hastalarla karşılaştırıldığında aspirin direnci saptanan olguların artmış ölüm, miyokard infarktüsü ve serebrovasküler olay riski ile karşı karşıya olduğu saptanmıştır (%10'a karşılık %24, HR 3.12, %95 güvenlik aralığı 1.10-8.90, p=0.03). Bu çalışmanın sonucunda aspirin direncinin kararlı kardiyovasküler hastalığı olan popülasyonda üç kattan fazla majör kardiyak olay riski artışı ile seyrettiği gösterilmiştir (43).

Periferik arter hastalığı nedeni ile anjiyoplasti uygulanan hastalardan aspirin direnci olan olguların 18 aylık takibi sonucunda en az %87 oranında artmış reoklüzyon riski ile karşı karşıya oldukları belirlenmiştir (12). İnme geçirmiş hastalar üzerinde yapılan bir araştırmada iki yıllık takip sonucunda aspirin direnci olan hastaların 10 kat artmış tekrarlayan vasküler olay riski altında olduğu saptanmıştır (44).

HOPE çalışmasının bir alt grup çalışmasında hastalar 5 yıl süre ile izlenmiştir. İdrar 11 dehidro tromboksan B2 düzeylerine göre hastalar 4 gruba ayrılmış ve en yüksek grupta olan hastaların miyokard infarktüsü riskinde 2 kat (p=0.006) ve kardiyovasküler ölüm riskinde 3.5 kat artış saptanmıştır (p<0.001) (11).

Majör kardiyak olaylar ve trombosit fonksiyonlarının inhibisyonu arasındaki ilişkinin araştırıldığı GOLD çalışmasında, trombosit fonksiyonlarının %70'den az oranda inhibe edildiği grupta majör kardiyak olay sıklığının %70'den fazla inhibisyon sağlanan gruba oranla %25 daha fazla olduğu (p=0.009) saptanmıştır (45).

Önceden aspirin kullanımının 9.461 ST yükselmez akut koroner sendromlu hastada klinik sonuçlar üzerine etkilerinin incelendiği PURSUIT çalışmasında, akut koroner sendrom geliştiği anda as-

pirin kullanmakta olan olguların kararsız angina'ya oranla daha az MI tablosu ile başvurduğu (%48.8' karşı %43.9, p = 0.001) ancak 30 gün içinde ölüm ve MI oranları (%16.1'e karşı %13.0, p = 0.001) ile 6 ay sonunda ölüm ve MI oranlarının (%19.9'a karşı %15.9, p = 0.001) daha yüksek olduğu belirlenmiştir (46). PRISM-PLUS, ESSENCE ve TIMI-11B çalışmaları TIMI risk skorunun bir parçası olan önceden aspirin kullanımının akut koroner sendromlu hastalarda artmış kardiyovasküler riskin bağımsız prediktörü olduğunu göstermiştir (47).

#### Aspirin direnci olan hastalarda tedavi alternatifleri

Aspirin direnci; klinik ve laboratuvar yöntemleri ile tanımlanmış, ölçümü için çeşitli metodlar ileri sürülmüştür. Oluşum mekanizmalarına yönelik çok sayıda araştırma yürütülmektedir. Klinik kardiyovasküler olaylarda artışa yol açabileceğine işaret eden çalışmalar yayınlanmaktadır. Bununla birlikte aspirin direnci olan hastalarda tedavi alternatifleri üzerinde veya aspirin direnci saptanan olgularda majör kardiyovasküler olay riskini azaltacak medikal tedaviler üzerinde henüz yeterli bilgi bulunmamaktadır. Aspirin direnci olan hastaların kardiyovasküler olay sıklığını azaltmada kullanılabilecek potansiyel ajanlar arasında yüksek doz aspirin tedavisi, tiklopidin, klopidogrel, prasugrel, ve kangrelor gibi yeni P2Y12 antagonistleri yer almaktadır. Aspirin direnci olan olgularda tedavi alternatifleri sadece bu ve benzeri antitrombosit ilaçların verilmesiyle sınırlı değildir. Bu ilaçların tedaviye eklenmesi ile aspirin direncinin neden olduğu klinik olayların engellendiği de kanıtlanmamıştır. Aspirin direnci olan bireylerde nedene yönelik yaklaşımın daha doğru sonuç vermesi muhtemeldir. Bu bağlamda hasta uyumunun artırılması, aspirin ile antitrombosit etkinliğini azaltma yönünde etkileşen ilaçların kullanılmaması (örneğin; ibuprofen), sigara içimine son verilmesi, bazı özel durumlarda aspirin dozunun artırılması (örneğin; koroner arter baypas cerrahisi sonrası), vasküler olaylara sebep olabilen ancak aspirin tedavisine yanıt vermesi muhtemel olmayan durumların (örneğin; arteritler) uygun ilaçlarla tedavisi aspirin direnci ve buna bağlı vasküler olayların sıklığını azaltmada yarar sağlayabilir. Aspirin direnci olan hastalarda kardiyovasküler olay sıklığını azaltmak amacı ile verilecek ek antitrombosit tedavi konusunda etkinliği klinik olarak kanıtlanmış bir ilaç henüz bildirilmemiştir. Kangrelor (AR-C69931MX), P2Y12 antagonistleri içerisinde faz II klinik çalışmasını başarıyla tamamlamış bir ilaç olup, ADP reseptörlerini klopidogrel'den daha etkin biçimde bloke ettiği gösterilmiştir (48). Bu ve benzeri yeni antitrombosit ajanlar üzerinde klinik çalışmalar sürmektedir.

CURE çalışması aspirin ve klopidogrel'in birlikte kullanıldığında iskemik olay sıklığını tek başına aspirin kullanımına oranla azalttığını göstermiştir (49). CAPRIE çalışmasında klopidogrel tedavisi ile iskemik olay sıklığında aspirine oranla üstün bir risk azalması sağlanmıştır (50). Her iki çalışmada da klopidogrel'in sağladığı ek risk azalması kısmen aspirin direnci ile ilişkili olabilir.

Sonuç olarak klinikte kardiyovasküler olay artışına neden olan aspirin direnci günümüzde kardiyovasküler hastalıkların sıklığı göz önüne alındığında toplumun önemli bir kesimi için tehdit oluşturmaktadır. Aspirin direncinin çeşitli laboratuvar yöntemleri ile belirlenmesi ve aspirin direnci olan hastaların ek tedavi önlemleri alınarak kardiyovasküler olaylara karşı korunması mümkündür. Tüm bu çabaların sonucunda kardiyovasküler olayların morbidite ve mortalitesinde azalma olup olmayacağını görmek için geniş çapta araştırmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

## Kaynaklar

1. Ridker PM, Manson JE, Buring JE, Goldhaber SZ, Heenkens CH. The effect of chronic platelet inhibition with low dose aspirin on atherosclerotic progression and acute thrombosis: clinical evidence from Physicians Health Study. *Am Heart J* 1991; 122: 1588-92.
2. Antiplatelet Trialists' Collaboration. Collaborative overview of randomized trials of antiplatelet therapy: I. Prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients. *BMJ* 1994; 308: 81-106.
3. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ* 2002; 324: 71-86.
4. Steering Committee of the Physicians' Health Study Research Group. Final report on the aspirin component of the ongoing Physicians' Health Study. *N Engl J Med* 1989; 321: 129-35.
5. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. *Lancet* 1988; 2: 349-60.
6. Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, Gurm H, Welsh PA, Brooks L, et al. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2001; 88: 230-5.
7. Patrono C, Collier B, Dalen JE, FitzGerald GA, Fuster V, Gent M, et al. Platelet-active drugs: The relationships among dose, effectiveness and side effects. *Chest* 2001; 119 (1 Suppl): 39S-63S.
8. Patrono C. Aspirin as an antiplatelet drug. *N Engl J Med* 1994; 330: 1287-94.
9. Helgason CM, Bolin KM, Hoff JA, Winkler SR, Mangat A, Tortorice KL, et al. Development of aspirin resistance in persons with previous ischemic stroke. *Stroke* 1994; 25: 2331-6.
10. Vejar M, Fragasso G, Hackett D, Lipkin DP, Maseri A, Born GV, et al. Dissociation of platelet activation and spontaneous myocardial ischemia in unstable angina. *Thromb Haemost* 1990; 63: 163-8.
11. Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation* 2002; 105: 1650-5.
12. Mueller MR, Salat A, Stangl P, Murabito M, Pulaki S, Boehm D, et al. Variable platelet response to low-dose ASA and the risk of limb deterioration in patients submitted to peripheral arterial angioplasty. *Thromb Haemost* 1997; 78: 1003-7.
13. Weber AA, Przytulski B, Schanz A, Hohlfeld T, Schror K. Towards a definition of aspirin resistance: a typological approach. *Platelets* 2002; 13: 37-40.
14. Pamukcu B, Oflaz H, Nisanci Y. The role of platelet glycoprotein IIIa polymorphism in the high prevalence of in vitro aspirin resistance in patients with intracoronary stent restenosis. *Am Heart J* 2005; 149: 675-80.
15. Hobikoglu GF, Norgaz T, Aksu H, Ozer O, Erturk M, Nurkalem Z, et al. High frequency of aspirin resistance in patients with acute coronary syndrome. *Tohoku J Exp Med* 2005; 207: 59-64.
16. Alberts MJ, Bergman DL, Molner E, Jovanovic BD, Ushiwata I, Teruya J. Antiplatelet effect of aspirin in patients with cerebrovascular disease. *Stroke* 2004; 35: 175-8.
17. Roller RE, Dorr A, Ulrich S, Pilger E. Effect of aspirin treatment in patients with peripheral disease monitored with the platelet function analyzer PFA-100. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2002; 13: 277-81.
18. Zimmermann N, Wenk A, Kim U, Kienzle P, Weber AA, Gams E, et al. Functional and biochemical evaluation of platelet aspirin resistance after coronary artery bypass surgery. *Circulation* 2003; 108: 542-7.
19. Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haas NF, Taite BB, Szalony JA, Page JD, et al. Assessment of platelet function assays. *Am Heart J* 1998; 135 (5 Pt 2 Su): S170-8.
20. Mammen EF, Alsbameeri RS, Comp PC. Preliminary data from a field trial of the PFA-100® system. *Semin Thromb Hemost* 1995; 21 (suppl.2): 113-21.
21. Malinin AI, Atar D, Callahan KP, McKenzie ME, Serebruany VL. Effect of a single dose aspirin on platelets in humans with multiple risk factors for coronary artery disease. *Eur J Pharmacol* 2003; 462: 139-43.
22. Smith JW, Steinhubl SR, Lincoff M, Coleman JC, Lee TT, Hillman RS, et al. Rapid platelet function assay: an automated and quantitative cartridge-based method. *Circulation* 1999; 99: 620-5.
23. Santos MT, Valles J, Marcus AJ, Safier LB, Broekman MJ, Islam N, et al. Enhancement of platelet reactivity and modulation of eicosanoid production by intact erythrocytes. *J Clin Invest* 1991; 87: 572-80.
24. Valles J, Santos T, Aznar J, Osa A, Lago A, Cosin J, et al. Erythrocyte promotion of platelet reactivity decreases the effectiveness of aspirin as an antithrombotic therapeutic modality. *Circulation* 1998; 97: 350-5.
25. Cipollone F, Ciabattini G, Patrignani P, Pasquale M, Di Gregorio D, Bucciarelli T, et al. Oxidant stress and aspirin-insensitive thromboxane biosynthesis in severe unstable angina. *Circulation* 2000; 102: 1007-13.
26. Davis JW, Hartman CR, Lewis HD, Shelton L, Eigenberg DA, Hasanein KM, et al. Cigarette smoking-induced enhancement of platelet function: lack of prevention by aspirin in men with coronary artery disease. *J Lab Clin Med* 1985; 105: 479-83.
27. Hurlen M, Seljeflot I, Arnesen H. Increased platelet aggregability during exercise in patients with previous myocardial infarction. Lack of inhibition by aspirin. *Thrombosis Research* 2000; 99: 487-94.
28. Pamukcu B, Oflaz H, Acar RD, Umman S, Koylan N, Umman B, et al. The role of exercise on platelet aggregation in patients with stable coronary artery disease: exercise induces aspirin resistant platelet activation. *J Thromb Thrombolysis* 2005; 20: 17-22.
29. Cipollone F, Prontera C, Pini B, Marini M, Fazio M, De Cesare D, et al. Overexpression of functionally coupled cyclooxygenase-2 and prostaglandin E synthase in symptomatic atherosclerotic plaques as a basis of prostaglandin E(2)-dependent plaque instability. *Circulation* 2001; 104: 921-7.
30. Belton O, Byrne D, Kearney D, Leahy A, Fitzgerald DJ. Cyclooxygenase-1 and -2-dependent prostacyclin formation in patients with atherosclerosis. *Circulation* 2000; 102: 840-5.
31. Funk CD, Funk LB, Kennedy ME, Pong AS, Fitzgerald GA. Human platelet erythroleukemia cell prostaglandin G/H synthase: cDNA cloning, expression and gene chromosomal assignment. *FASEB Journal* 1991; 5: 2304-12.
32. Guo Q, Kulmacz RJ. Distinct influences of carboxyl terminal segment structure on function in the new isoforms of prostaglandin H synthase. *Arch Biochem Biophys* 2000; 384: 269-79.
33. Weiss E, Bray P, Tayback M, Schulman SP, Kickler TS, Becker LS, et al. A polymorphism of platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 1090-4.
34. Michelson AD, Furman MI, Goldschmidt-Clermont P, Mascelli MA, Hendrix C, Coleman L, et al. Platelet GP IIIa P1(A) polymorphisms display different sensitivities to agonists. *Circulation* 2000; 101: 1013-8.
35. Feng D, Lindpaintner K, Larson MG, Rao VS, O'Donnell CJ, Lipinska I, et al. Increased platelet aggregability associated with platelet GPIIIa P1A2 polymorphism. The Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1142-7.
36. Macchi L, Christiaens L, Brabant S, Sorel N, Ragot S, Allal J, et al. Resistance in vitro to low-dose aspirin is associated with platelet P1A1 (GP IIIa) polymorphism but not with C807T (GP Ia/IIa) and C-5T Kozak (GP Ib\_) polymorphisms. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42: 1115-9.
37. Kunicki TJ, Kritzik M, Annis DS, Nugent DJ. Hereditary variation in platelet integrin alpha 2 beta 1 density is associated with two silent polymorphisms in the alpha 2 gene coding sequence. *Blood* 1997; 89: 1939-43.

38. Moshfegh K, Wuillemin WA, Redondo M, Lammle B, Beer JH, Liechti-Gallati S, et al. Associations of two silent polymorphisms of platelet glycoprotein Ia/IIa receptor with risk of myocardial infarction. *Lancet* 1999; 353: 351-4.
39. Jefferson BK, Foster JH, McCarthy JJ, Ginsburg G, Parker A, Kottke-Marchant K, et al. Aspirin resistance and a single gene. *Am J Cardiol* 2005; 95: 805-8.
40. Maalej N, Folts JD. Increased shear stress overcomes the anti-thrombotic platelet inhibitory effect of aspirin in stenosed dog coronary arteries. *Circulation* 1996; 93: 1201-05.
41. Patrono C, FitzGerald GA. Isoprostanes: potential markers of oxidant stress in atherothrombotic disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2309-15.
42. Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC, Cucchiara AJ, DeMarco S, Tournier B, et al. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med* 2001; 345: 1809-17.
43. Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ. A Prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 961-5.
44. Grottemeyer KH, Scharafinski HW, Husstedt IW. Two-Year follow-up of aspirin responder and aspirin non responder a pilot-study including 180 post-stroke patients. *Thromb Research* 1993; 71: 397-403.
45. Steinhubl SR, Talley JD, Braden GA, Tchong JE, Casterella PJ, Moliterno DJ, et al. Point-of-care measured platelet inhibition correlates with a reduced risk of an adverse cardiac event after percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2001; 103: 2572-8.
46. Alexander JH, Harrington RA, Tuttle RH, Berdan LG, Lincoff AM, Deckers JW, et al. Prior aspirin use predicts worse outcomes in patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes. PUR-SUIT Investigators. Platelet IIb/IIIa in Unstable angina: Receptor Suppression Using Integrilin Therapy. *Am J Cardiol* 1999; 83: 1147-51.
47. Antman EM, Cohen M, Bernink PJ, McCabe CH, Horacek T, Papuchis G, et al. The TIMI risk score for unstable angina/non-ST elevation MI: A method for prognostication and therapeutic decision making. *JAMA* 2000; 284: 835-42.
48. Storey RF. The P2Y12 receptor as a therapeutic target in cardiovascular disease. *Platelets* 2001; 12: 197-209.
49. Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK, et al. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *New Engl J Med* 2001; 345: 494-502.
50. CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischemic events (CAPRIE). *Lancet* 1996; 348: 1329-39.