

# Evaluation of platelet activity and incidence of resistance to acetylsalicylic acid in patients receiving thrombosis prevention after carotid endarterectomy

## Ocena aktywności płytek krwi i częstości występowania oporności na przeciwplatekowe działanie kwasu acetylosalicylowego w prewencji zakrzepowej chorych po endarterektomii tętnic szyjnych

Adam Lewszuk, Walerian Staszkiwicz, Grzegorz Madycki, Piotr Słowiński

Department of Vascular Surgery and Angiology, Medical Centre of Postgraduate Education, Warsaw, Poland  
(Klinika Chirurgii Naczyniowej i Angiologii CMKP Szpital Bielański, Warszawa)

### Abstract

**Background.** Low-dose acetylsalicylic acid represents standard antiplatelet therapy in patients after surgical or endovascular treatment of atherosclerotic carotid artery stenosis. However, almost 8% of these patients experience restenosis in the same vessel within a year of the procedure, irrespective of the applied technique or its potential complications. Many authors suggest that complications can be related to a lack of the expected effect of antiplatelet agents.

**Aims:** 1) evaluation of platelet activity and incidence of resistance to acetylsalicylic acid (ASA) in thrombosis prevention after carotid endarterectomy; 2) determination of risk factors for resistance to acetylsalicylic acid (aspirin resistance).

**Material and methods.** The study group included 66 patients operated on due to significant stenosis of carotid arteries (70–99%). The group consisted of 27 women and 39 men, aged 41–80 years. Patients were administered 75 mg of acetylsalicylic acid daily both before and after operation. Platelet activity was measured 10 days after operation, using a PFA-100 analyser. The results were classified as normal response to ASA or resistance to the drug.

**Results.** Nineteen patients (32%) developed resistance to ASA after operation. Arterial hypertension, treatment with other non-steroid anti-inflammatory agents, and advanced atherosclerosis of lower limb arteries were major risk factors of resistance to ASA in multivariate logit regression analysis model.

**Conclusions.** 1) Incidence of resistance to anti-aggregatory effect of ASA in patients who underwent surgical interventions for atherosclerotic stenosis of carotid arteries is high, which may mean that no effective antiplatelet therapy is available for these patients. 2) Advanced atherosclerotic lesions, arterial hypertension, and treatment with non-steroid anti-inflammatory drugs are risk factors of resistance to ASA. 3) Routine assessment of resistance to ASA by the bedside may be justified in patients having the above-mentioned risk factors.

**Key words:** aspirin resistance, carotid endarterectomy

### Streszczenie

**Wstęp.** Leczenie przeciwplatekowe małymi dawkami kwasu acetylosalicylowego (ASA) to rutynowe postępowanie u pacjentów leczonych operacyjnie i endowaskularnie z powodu miażdżycowego zwężenia tętnic szyjnych.

---

#### Address for correspondence:

dr n. med. Adam Lewszuk  
Klinika Chirurgii Naczyniowej i Angiologii CMKP Szpital Bielański  
ul. Ceglowska 80, 01–809 Warszawa  
e-mail: lewszuka@yahoo.pl

Mimo to u około 8% pacjentów w ciągu roku dochodzi do wtórnej niedrożności operowanego naczynia niezależnie od stosowanej metody lub problemów technicznych w czasie zabiegu. Wielu autorów uważa, że część powikłań może być spowodowana brakiem oczekiwanej reakcji na leki antyagregacyjne.

Cele pracy: 1) ocena aktywności płytek krwi i częstości występowania oporności na przeciwplatekowe działanie ASA w prewencji zakrzepowej chorych po endarterektomii tętnic szyjnych; 2) ustalenie czynników determinujących występowanie oporności na przeciwplatekowe działanie kwasu acetylosalicylowego (aspirynooporności).  
Materiał i metody. Badaniami objęto 66 chorych operowanych z powodu objawowego zwężenia tętnic szyjnych (70–99%). Operowano 27 kobiet oraz 39 mężczyzn w wieku 41–80 lat.

Pacjenci w okresie przed- i pooperacyjnym przyjmowali ASA w dawce 75 mg/d. Pomiar reaktywności płytek wykonano przy użyciu analizatora funkcji płytek krwi PFA-100 w 10. dobie po operacji. Pacjentów podzielono na grupę prawidłowo reagujących na ASA oraz na aspirynoopornych.

**Wyniki.** W przebiegu pooperacyjnym oporność na ASA wykazano u 19 pacjentów (32%). W modelu wieloczynnikowej analizy regresji logitowej niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia aspirynooporności były nadciśnienie tętnicze, przyjmowanie innych niesteroidowych leków przeciwzapalnych oraz zaawansowana miażdżycza kończyn dolnych.

**Wnioski.** 1. Częstość zjawiska oporności na przeciwagregacyjne działanie ASA u pacjentów leczonych operacyjnie z powodu miażdżycowego zwężenia tętnic szyjnych jest wysoka, co wskazuje na możliwość istnienia braku skutecznej terapii przeciwplatekowej. 2. Zaawansowana miażdżycza, nadciśnienie tętnicze, przyjmowanie niesteroidowych leków przeciwzapalnych to czynniki ryzyka mogące mieć wpływ na ryzyko wystąpienia aspirynooporności. 3. Rutynowe, „przyłożkowe” badanie oporności biochemicznej na ASA może być uzasadnione u pacjentów z wyżej wymienionymi czynnikami ryzyka aspirynooporności.

**Słowa kluczowe:** aspirynooporność, endarterektomia tętnic szyjnych

Acta Angiol 2012; 18, 2: 68–78

## Introduction

Cerebral stroke is the cause of one third of all deaths in developed countries. When concerning aetiology of stroke, 75–80% of cases are of ischaemic type, and among these 20% of stroke episodes are caused by the presence of atherosclerotic lesions in extracranial arteries. Lesions can be managed operatively in 2/3 of patients with signs of cerebrovascular insufficiency. Therefore, internal carotid endarterectomy is recommended in all patients with stenosis of > 70% and resulting clinical symptoms, according to the consensus guidelines presented by the American National Stroke Association (NSA), and recommendations of the American Heart Association (AHA) [1]. The efficacy of this type of intervention in primary prophylaxis of ischaemic stroke was proven in the European Carotid Surgery Trial (ECST) [2] and the North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (NASCET) [3].

Increased platelet aggregation is a common problem in patients who have undergone procedures of patency restoration in carotid arteries. This phenomenon is of great importance in the development of post-intervention thrombosis. Platelet activity and its fluctuations have not been completely characterized; however, administration of antiplatelet drugs including acetylsalicylic acid

## Wstęp

Udar mózgu stanowi trzecią co do częstości występowania przyczynę zgonów w krajach rozwiniętych. Przyjmuje się, że około 75–80% wszystkich udarów to udary niedokrwienne, w tym około 20% jest spowodowanych chorobami pozaczaszkowych tętnic mózgowych na tle miażdżycowym. U 2/3 chorych z objawami niewydolności krążenia mózgowego zmiany te mogą być usunięte operacyjnie. Dlatego też zgodnie z zaleceniami konsensusu przedstawionego przez amerykańskie towarzystwo *National Stroke Association* (NSA), rekomendowanego również przez *American Heart Association* (AHA), endarterektomia tętnicy szyjnej wewnętrznej zalecana jest u chorych z objawowym zwężeniem > 70% [1]. Skuteczność tego rodzaju operacji jako metody pierwotnej profilaktyki udaru niedokrwiennego udowodniono w badaniach ECST (*European Carotid Surgery Trial*) [2] i NASCET (*North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial*) [3].

U pacjentów po operacji udroźnienia tętnic szyjnych poważnym problemem jest wzmożona aktywacja płytek krwi. Odgrywa ona znaczącą rolę w patofizjologii zakrzepów w przebiegu pooperacyjnym. Aktywność płytek i jej zmiany w przebiegu pooperacyjnym nie zostały dotychczas w pełni zidentyfikowane, jednak stosowanie

(ASA) remains one of the basic methods of thrombosis prophylaxis after endovascular procedures.

There is accumulating evidence in literature concerning resistance to antiplatelet drugs. Resistance to acetylsalicylic acid in patients with diseases of the cardiovascular system is currently under scrutiny. Simple and quick tests performed at the patient's bedside permit biochemical evaluation of response to ASA treatment and its perioperative modifications. The estimated incidence of aspirin resistance is 15–40%, depending on the analysed population and applied testing method [4]. In most publications, assessment of response to ASA is performed in subjects with coronary heart disease. There are, however, few reports concerning patients operated on due to atherosclerotic lesions in carotid arteries; therefore, the attempts to analyse this phenomenon made in the presented study can be of value. Identification of risk factors for resistance to ASA in this population of patients can be of significant importance in both diagnostics and therapy.

### Material and methods

The studied patient group included 66 subjects operated on because of symptomatic internal carotid artery stenosis (of 70–99%) due to atherosclerotic lesions.

Twenty-seven women and thirty-nine men, aged 41–80 years, were included in the study. Each patient received 75 mg acetylsalicylic acid daily for the entire perioperative period, i.e. at least 10 days before and after the procedure, according to the recommendations of the European Society of Vascular Surgeons (ESVS).

Most patients were between 71 and 80 years of age (29 patients; 45%), with 23 patients being 61–70 years old (34%) and 10 patients aged 51–60 years (16%) at the time of the procedure. There were only four patients aged between 41–50 years (Figure 1).

In the analysed group, 38 patients (54.3%) had a history of cerebral stroke, 19 patients (27.1%) experienced transient ischaemic attacks (TIA), and 8 patients (8.6%) had other symptoms related to atherosclerosis of carotid arteries, such as headache, vertigo, or *amaurosis fugax* (Figure 2). The most common comorbidity was arterial hypertension (59 patients; 84.3%), followed by atherosclerosis of lower limbs (26 patients; 37.1%), heart infarct (15 patients; 21.4%), cardiac insufficiency (29 patients; 41.4%), history of coronary artery by-pass grafting (CABG) (8 patients; 11.4%), and diabetes (17 patients; 24.6%). Twenty-eight patients (40%) admitted tobacco smoking (Figure 2).

Platelet activity was measured using the PFA-100 analyser on day 10 after the intervention. According to the manufacturer's instructions, the threshold value of

leków przeciwplateletowych, w tym kwasu acetylosalicylowego (ASA), należy do podstawowej prewencji zakrzepów po operacjach naczyniowych.

Ostatnio w piśmiennictwie światowym pojawia coraz więcej doniesień na temat oporności na leki przeciwplatetowe. Obecnie intensywnie badana jest oporność na przeciwplatetowe działanie ASA u pacjentów z chorobami układu sercowo-naczyniowego. Na podstawie prostych i szybkich testów, tak zwanych przyłóżkowych, możliwe jest określenie biochemicznej odpowiedzi na leczenie ASA oraz jej zmian w okresie okołoperacyjnym. Zależnie od badanej populacji oraz użytej do pomiaru metody, częstość występowania zjawiska oporności oceniana jest na 15–40% [4]. Zdecydowana większość badań dotyczy przypadków stosowania ASA u osób z chorobą wieńcową. Publikacje dotyczące grupy chorych operowanych z powodu miażdżycowego zwężenia tętnic szyjnych są nieliczne. W związku z tym podjęta w niniejszej pracy próba analizy problemu oporności na ASA u pacjentów po endarterektomii tętnic szyjnych wydaje się uzasadniona. Wyodrębnienie natomiast czynników ryzyka aspirynoooporności wśród tych pacjentów może mieć kardynalne znaczenie w trakcie procesu diagnostyczno-terapeutycznego.

### Material i metody

Badaniami objęto grupę 66 chorych leczonych operacyjnie z powodu objawowego, miażdżycowego zwężenia tętnicy szyjnej wewnętrznej (70–99%).

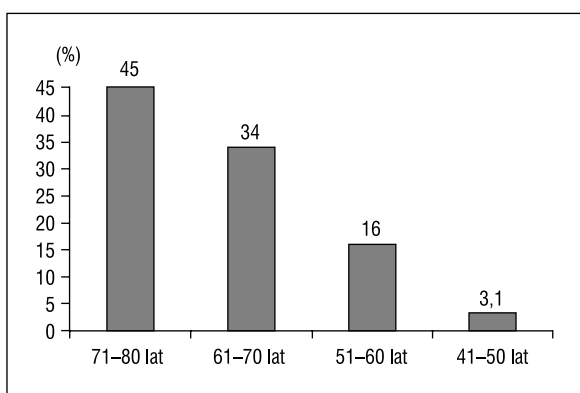
Operowano 27 kobiet oraz 39 mężczyzn w wieku 41–80 lat. Pacjenci w okresie przedoperacyjnym (min. 10 dni), jak również w okresie pooperacyjnym przyjmowali ASA w dawce 75 mg/d., zgodnie z zaleceniami Europejskiego Towarzystwa Chirurgów Naczyniowych (ESVS).

Największą grupę stanowili pacjenci między 71. a 80. rokiem życia — 29 chorych (45%), w przedziale wieku 61–70 lat było 23 chorych (34%), na trzecim miejscu w wieku 51–60 lat było 10 chorych (16%). Pacjentów w przedziale wiekowym 41–50 lat było czworo (ryc. 1).

W grupie chorych zakwalifikowanych do badania udar mózgu w przeszłości przebyło 38 chorych (54,3%), cechy przemijających objawów niedokrwienych mózgu (TIA) — 19 chorych (27,1%), inne dolegliwości związane ze zmianami miażdżycowymi w tętnicach szyjnych (ból głowy, zawroty głowy, *amaurosis fugax*) — 8 chorych (18,6%) (ryc. 2). Najczęstszą jednostką chorobową współistniejącą z miażdżycowym zwężeniem tętnic szyjnych było nadciśnienie tętnicze (NT) (59 chorych; 84,3%), miażdżycy tętnic kończyn dolnych (a.o.) (26 chorych; 37,1%), zawał serca (15 chorych; 21,4%), niewydolność serca (29 chorych; 41,4%), za-

resistance to acetylsalicylic acid was set to 197 seconds; values below this level were perceived as resistance to ASA. Complete blood count, coagulation tests, biochemical analyses, and renal function tests were also performed in all patients. Comorbidities and respective medical therapy were also taken into account.

Patient characteristics were described using standard parameters such as mean values with standard deviation, median values, and quartiles or frequency distribution. Correlations between respective variables were analysed using chi square or Student's t-test, with correction for heteroscedasticity whenever necessary.



**Figure 1.** Age distribution in the analysed patient group; lat = years (of age)

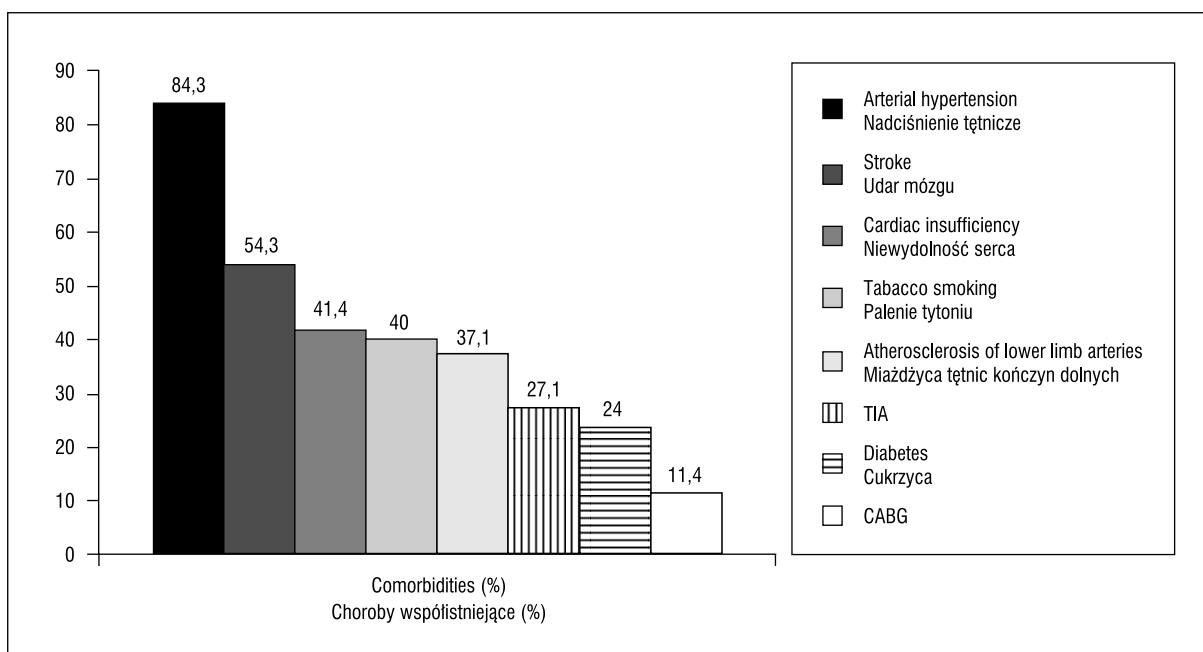
**Rycina 1.** Udział chorych w poszczególnych grupach wiekowych

bieg pomostowania tętnic wieńcowych (CABG) w przeszłości (8 pacjentów; 11,4%), cukrzyca (17 chorych; 24,6%), palenie tytoniu (28 pacjentów; 40%) (ryc. 2).

Oznaczenie aktywności płytek krwi przy użyciu analizatora funkcji płytek PFA-100 wykonano w dziesiątej dobie po operacji. Za punkt odcięcia, poniżej którego uznano chorych za aspirynoopornych, zgodnie z instrukcją firmy produkującej urządzenie, obrano 197 s. Dodatkowo oznaczano morfologię krwi, koagulogram, biochemię oraz parametry nerkowe. Pacjentów analizowano pod kątem współistniejących chorób oraz przyjmowanych leków.

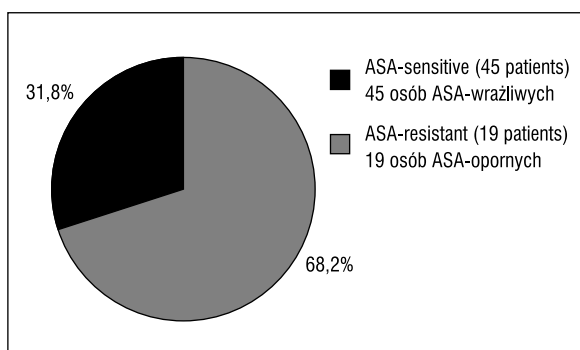
Parametry charakteryzujące badaną grupę opisano za pomocą standardowych narzędzi statystycznych (średnie i odchylenia standardowe, mediany i kwartale lub tabele częstości). Zależności pomiędzy wybranymi parami zmiennych zbadano odpowiednio przy pomocy testu chi lub testu t-Studenta, z ewentualną poprawką na nierówność wariancji.

Za pomocą wieloczynnikowych modeli regresji logitowej zbadano wpływ wybranych czynników na prawdopodobieństwo wystąpienia oporności na przeciwagregacyjne działanie ASA. W modelach uwzględniono następujące czynniki: parametry biochemiczne krwi, choroby współistniejące, przyjmowanie innych leków. Za pomocą eliminacji krokowej wybrano zmienne istotne statystycznie na poziomie 0,05, przy czym przyjęto, że w modelu pozostają zmienne, dla których



**Figure 2.** Distribution of comorbidities and cardiovascular risk factors in the analysed patient group.

**Rycina 2.** Odsetek chorób współistniejących i innych czynników ryzyka



**Figure 3.** Response to acetylsalicylic acid (ASA) in the analysed patient group

**Rycina 3.** Rozkład wrażliwości na ASA w badanej populacji

Multivariate logit regression model was used to assess the influence of respective factors on the probability of resistance to acetylsalicylic acid. The following factors were included in the analysis: peripheral blood parameters (CBC), comorbidities, and administration of other drugs. Using step elimination, variables of statistically significant impact with  $p$  value of 0.05 were selected; analysis included variables with  $p$  value of not more than 0.1. The predictive value of the model was analysed using an ROC curve in which the area under the curve represents the predictive value of the model. The area under curve could have any value between 0 and 1, and the closer it is to 1.0, the stronger the predictive value.

A significance level of 0.05 was adopted. All the tests were bimodal. Calculations were performed using Stata 7.0 software.

## Results

### Response to ASA

In the analysed patient group, 45 persons demonstrated normal response to acetylsalicylic acid (68.2%), and 19 persons (31.8%) were resistant to the drug (Figure 3).

### Distribution of comorbidities

Atherosclerosis of lower limb arteries was a statistically significant risk factor of developing resistance to ASA ( $p = 0.012$ ). Lower limb ischaemia due to atherosclerotic lesions was found in 26 patients in the analysed group, of which 20 subjects were resistant to ASA.

Arterial hypertension was another factor predisposing to resistance to ASA ( $p = 0.024$ ). In the study group, 59 patients were treated for this entity, of which only 16 subjects were responsive to ASA.

Cardiac insufficiency was an important comorbidity in 29 patients; of those, 18 persons had signs of ASA-resistance ( $p = 0.050$ ) (table I).

poziom testu nie przekracza 0,1. Wartość predykcyjną modeli oceniono przy pomocy wykresu krzywej ROC. Wielkość pola pod krzywą obrazuje wartość predykcyjną modelu: pole może przyjmować wartości z przedziału (0,1); im bliżej wartości 1,0, tym większa wartość predykcyjna.

Jako poziom istotności przyjęto 0,05. Wszystkie przeprowadzone testy były dwustronne. Obliczenia wykonano przy użyciu programu Stata 7.0.

## Wyniki

### Charakterystyka odpowiedzi na ASA

W badanej grupie 45 osób (68,2%) reagowało prawidłowo na ASA, natomiast 19 (31,8%) było aspirynopornych (ryc. 3).

### Charakterystyka chorób współistniejących

Miażdżyca tętnic kończyn dolnych (a.o.) okazała się istotnym statystycznie czynnikiem sprzyjającym powstaniu aspirynooporności ( $p = 0,012$ ). Ogólnie w populacji badanej niedokrwienie kończyn dolnych na tle miażdżycy (a.o.) stwierdzono u 26 chorych. W 20 przypadkach byli to pacjenci aspirynooporni, a w 6 przypadkach — aspirynowrażliwi

Nadciśnienie tętnicze (NT) było kolejnym czynnikiem sprzyjającym wystąpieniu aspirynooporności ( $p = 0,024$ ). Wśród całej populacji 59 chorych leczyło się z tego powodu, 16 osób należało do grupy aspirynowrażliwych, 43 — do aspirynoopornych.

U 29 pacjentów stwierdzono niewydolność serca jako ważne schorzenie współistniejące, 18 chorych było opornych na działanie ASA, 11 osób reagowało prawidłowo na ASA ( $p = 0,050$ ) (tab. I).

### Wpływ leków na aspirynooporność

Stwierdzono istotną korelację pomiędzy przyjmowaniem niesteroidowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) oraz aspirynoopornością. 42 pacjentów (64,6%) przyjmowało w okresie badania preparaty z tej grupy leków. W grupie tej większość (34; 56%) chorych była aspirynoopornych, 8 (44%) — aspirynowrażliwych ( $p = 0,016$ ).

Pozostałe grupy leków nie wykazywały istotności statystycznej (tab. II).

### Iloraz szans występowania aspirynooporności — analiza zbiorcza

Dla badanej grupy przeprowadzono regresję logitową w celu analizy rozważanych czynników pod kątem prawdopodobieństwa istotnego zwiększenia szansy występowania aspirynooporności. Wyniki są prezentowane jako iloraz szans (OR), jego 95-pro-

### Medication and resistance to ASA

There was a significant correlation between administration of non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and resistance to ASA in the analysed group. At the time of the study, 42 patients (64.6%) received NSAIDs. The majority of them (34 subjects; 56%) were found to be resistant to acetylsalicylic acid ( $p = 0.016$ ).

There were no significant correlations between ASA-treatment and administration of other drugs (table II).

### Odds ratio for resistance to ASA

#### in the entire study group

Multivariate logit regression analysis was performed in order to assess the impact of individual factors on the probability of developing resistance to ASA. The

centowy przedział ufności (dolna i górna granica odpowiednia OR\_L i OR\_U) oraz istotność ilorazu szans ( $p$ ).

Wartość OR większa niż 1 świadczy o tym, że dany czynnik zwiększa, a mniejsza od 1 — zmniejsza szanse wystąpienia aspirynooporności. Czynniki, które były mało istotne, nie brano pod uwagę.

Z przeprowadzonej analizy wynika, że:

- **miażdżycy kończyn dolnych** (a.o.) może wpływać na wystąpienie aspirynooporności w badanej grupie. Cecha ta wyróżniała się istotnością statystyczną ( $p = 0,048$ );
- **nadciśnienie tętnicze** (NT) to druga ważna jednostka chorobowa korelująca z występowaniem aspirynooporności ( $p = 0,049$ );

**Table I.** Distribution of comorbidities in the analysed patient group

**Tabela I.** Występowanie chorób współistniejących w badanej populacji

	Total Ogółem		Responsive to ASA ASA-wrażliwi		Resistant to ASA ASA oporni		P	Type of test Test
	N	% of total Odsetek ogółem (%)	N1	% of N1 Odsetek gr. 1 (%)	N2	% of N2 Odsetek gr. 2 (%)		
TIA	19	27.1	8	20.5	11	36.7	0.177	F
Atherosclerosis of lower limbs A.o.	26	37.1	6	51.3	20	20	<b>0.012</b>	F
Arterial Hypertension NT	59	84	16	23	43	71	<b>0.024</b>	F
Coronary heart disease ChNS	35	50	23	59	12	40	0.148	F
Heart infarct Zawał serca	15	21.4	9	23.1	6	20	1.000	F
Angina pectoris Bóle wieńcowe	14	20	11	28.2	3	10	0.076	F
History of CABG CABG w przeszłości	8	11.4	5	89.7	3	76.7	0.190	F
Cardiac insufficiency Niewydolność serca	29	41.4	11	53.8	18	26.7	0.050	F
Arrhythmia Zaburzenia rytmu	7	10.1	3	2.6	4	20	0.672	F
History of stroke Udar mózgu	38	54.3	21	53.8	17	56.7	1.000	F
Dyslipidaemia Dyslipidemia	57	81.4	33	84.6	23	76.7	0.537	F
Diabetes Cukrzyca	17	24.6	11	28.2	6	20	0.574	F
Smoking habit Palenie tytoniu	28	40	12	30.8	15	50	0.137	F

TIA — transient ischemic attack; CABG — coronary artery by-pass graft

TIA — przejściowe niedokrwienie mózgu, a.o. — miażdżycy tętnic kończyn dolnych, NT — nadciśnienie tętnicze, ChNS — choroba niedokrwienności serca,

CABG — operacja pomostowania aortalno-wieńcowego

**Table II.** Medication in the analysed patient group at the time of the study**Tabela II.** Charakterystyka badanej populacji pod względem przyjmowanych leków

Agent Zmienna	Total Ogółem		Responsive to ASA ASA-wrażliwi		Resistant to ASA ASA oporni		P	Type of test Test
	N	% of total Odsetek ogółem (%)	NI	% of NI Odsetek gr. 1 (%)	N2	% of N2 Odsetek gr. 2 (%)		
Insulin Insulina	4	16.7	4	10.3	0	0	0.454	CHI
Diuretic Diuretyk	4	5.8	3	7.7	1	3.3	0.784	CHI
Acenocoumarol Acenokumarol	3	4.3	0	0	3	10	0.162	CHI
Alpha-blocker Alfa-adrenolityk	7	10.1	4	17.9	3	0	0.881	CHI
Statin Statyna	46	66.7	19	61.5	27	70	0.369	F
Beta-blocker Beta-adrenolityk	28	40.6	17	43.6	10	33.3	0.455	F
Thienopyridine Tienopirydyny	5	7.2	3	7.7	2	6.7	0.783	CHI
Calcium antagonist Antagonista wapnia	15	21.7	11	28.2	4	13.3	0.150	F
ACE inhibitor Inhibitor ACE	28	40.6	13	33.3	14	46.7	0.328	F
Other diuretics Leki moczopędne	19	27.5	10	25.6	9	30	0.790	F
Fibrate Fibrat	3	4.3	3	7.7	0	0	0.769	CHI
Thiazide Tiazyd	3	4.3	1	2.6	2	6.7	0.834	CHI
NSAID NLPZ	42	64.6	8	31.4	34	69.1	0.016	CHI

ACE — angiotensin-converting enzyme; NSAID — non-steroid anti-inflammatory drug

results are presented as odds ratio (OR) values with 95% confidence interval (CI) and its lower and upper limit value (OR\_L and OR\_U, respectively) as well as significance level (p).

An odds ratio value greater than 1 represents the variable that increases the risk of developing resistance to ASA, with OR value less than 1 having the opposite effect. Non-significant variables were not considered.

The obtained results suggest that:

- **atherosclerosis** in lower limbs might have an impact on development of resistance to ASA in the studied group; a statistically significant correlation was found ( $p = 0.048$ );
- **arterial hypertension** is another important comorbidity in ASA-resistant patients ( $p = 0.049$ );
- **NSAID administration** increased the risk of becoming resistant to ASA in the studied patients ( $p = 0.043$ ) (table III).

- **przyjmowanie innych NLPZ** powiązane było również z większym ryzykiem wystąpienia oporności na ASA ( $p = 0,043$ ) (tab. III).

## Dyskusja

Enderterektomia tętnic szyjnych jest uznaną metodą prewencji udaru mózgu [3, 5]. Mimo stosowania leków przeciwplatekcyjnych pozostaje jednak ciągle ryzyko wystąpienia pooperacyjnych powikłań zakrzepowo-zatorowych w postaci okołoperacyjnego udaru mózgu lub zawału serca [6]. Owe kliniczne oraz biochemiczne wykładniki braku skuteczności działania leku funkcjonują w piśmiennictwie pod pojęciem aspirynoooporności. Istnieją możliwości laboratoryjnej oceny funkcji płytek krwi podczas przyjmowania leku. Wykorzystana w niniejszej pracy metoda PFA 100 oceny przeciwplatekowego działania ASA — tak zwana przyłożkowa — jest alternatywą do systemów opartych na agregometrii optycznej

**Table III.** Risk factors for development of resistance to acetylsalicylic acid in the analysed group**Tabela III.** Iloraz szans występowania aspirynooporności, zebranie wyników istotnych statystycznie

Variable Parametr	OR	OR L	OR U	p
Atherosclerosis of lower limbs A.o.	1.115	0.382	3.257	0.048
Arterial hypertension NT	1.021	0.253	2.037	0.049
Administration of NSAIDs NLPZ	1.421	0.411	4.369	0.043

NSAIDs — non-steroid anti-inflammatory drugs  
a.o. — miażdżycy kończyn dolnych, NT — nadciśnienie tętnicze

## Discussion

Carotid endarterectomy is a renowned method of primary prophylaxis of stroke [3, 5]. The risk of postoperative thromboembolic complications including myocardial infarction or stroke is significant in these patients, despite administration of antiplatelet agents. [6]. Clinical and biochemical parameters reflecting lack of therapeutic effect of administered acetylsalicylic acid (ASA) are described in literature as aspirin resistance. Platelet function can be assessed during therapy with the use of laboratory tests. One of them uses bedside measurement using an PFA-100 analyser. This is an alternative to optical aggregation tests, which have many limitations regarding the patient's age, sex, diet, and haematocrit level as well as to personnel experience [7].

A systematic review of literature on aspirin resistance returned papers in which the PFA-100 analyser was used for evaluation of platelet activity in patients treated with ASA. Analysis of the available data shows that the incidence of resistance to ASA assessed by the PFA-100 analyser was 37% [8–11]. In a recently published meta-analysis, resistance to ASA evaluated using different methods in respective trials was observed in 31% of cases [12]. However, studies concerning patients with stable coronary heart disease show different results [13–15]. The observed discrepancies may be related to different criteria of resistance to ASA used in respective studies, various methods of platelet activity assessment, or different doses of the drug.

The incidence of ASA-resistance was 31.8% in the presented study, which is compatible with results from other authors who also used the PFA-100 analyser [16–18].

### Atherosclerosis and resistance to ASA

Advanced atherosclerotic lesions in arteries of lower limbs were a significant predictive factor for

obciążonych licznymi ograniczeniami w postaci wieku, płci, diety, stężenia hematokrytu, jak również doświadczeniem personelu badawczego [7].

W systematycznym przeglądzie piśmiennictwa dotyczącym zagadnienia aspirynooporności znalazły się dane pochodzące z 22 prac, w których użyto analizatora PFA-100 jako urządzenia referencyjnego służącego do oceny aktywności płytek krwi u pacjentów stosujących ASA. Po przeanalizowaniu danych pochodzących ze wszystkich badań częstość występowania aspirynooporności przy użyciu PFA-100 wynosiła około 37,0% [8–11]. W opublikowanej ostatnio kolejnej metaanalizie oceniono częstość zjawiska aspirynooporności na 31% obliczoną na podstawie różnych metod oceny odpowiedzi na ASA stosowanych w poszczególnych badaniach [12]. Odmienne dane dotyczące częstości tego zjawiska w populacjach pacjentów ze stabilną postacią choroby niedokrwiennej serca pochodzą z innych przeprowadzonych dotychczas badań [13–15]. Obserwowane w piśmiennictwie różnice dotyczące odsetka aspirynooporności mogą wynikać z kilku najczęściej opisywanych w literaturze przyczyn, między innymi od przyjętego kryterium aspirynooporności, metody oznaczania funkcji płytek krwi oraz stosowanej w badaniu dawki ASA.

W opisanej grupie badanych było ogółem 31,8% aspirynoopornych pacjentów, co koresponduje z wynikami pracy innych autorów, którzy wykazali zbliżony odsetek aspirynoopornych przy użyciu również zestawu PFA 100 [16–18].

### Miażdżycza a zjawisko aspirynooporności

W niniejszej pracy zaawansowana miażdżycza tętnic kończyn (a.o.) dolnych okazała się ważnym czynnikiem predykcyjnym rozwoju aspirynooporności ( $p = 0,048$ ), co ma swoje odzwierciedlenie w literaturze. Miażdżycza, ale również inne procesy ogólnoustrojowe, jak: cukrzyca, hipercholesterolemia, NY lub palenie tytoniu, doprowadzają do obniżenia produkcji tlenu azotu (NO) przez zniszczone endotelium [19]. Tlenek azotu odgrywa istotną rolę w procesie inaktywacji płytek krwi poprzez zmniejszenie wewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia [20]. Uszkodzony śródbłonek produkuje cząsteczki reaktywnego tlenu inaktywujące cząsteczki NO [19]. W konsekwencji proces doprowadza do aktywacji płytek krwi i wykrzepiania wewnątrznaczyniowego, co jest przyczyną rozwoju oporności na ASA [20]. W świetle tych spostrzeżeń Poston i wsp. zauważyli synergistyczny związek między aspirynoopornością a wykrzepianiem przeszczepów po operacjach pomostowania aortalno-wieńcowego (CABG) [21]. Choroby zapalne, jaką jest również miażdżycza, mogą doprowadzać do wzrostu ekspresji cyklooksygenazy



development of resistance to ASA in the present study ( $p = 0.048$ ), which is consistent with data from other publications. Atherosclerosis and other systemic diseases such as diabetes, hypercholesterolemia, or arterial hypertension as well as tobacco smoking contribute to endothelial damage and thus decreased nitric oxide (NO) synthesis [19]. Nitric oxide is an important compound in platelet inactivation through reduction of intracellular calcium [20]. Damaged endothelial cells produce reactive oxygen species, which in turn inactivate NO [19]. This leads in turn to platelet activation and initiation of intravascular coagulation, thus contributing to resistance to acetylsalicylic acid [20]. Poston et al. described correlations between resistance to ASA and thrombosis in aorto-coronary by-pass grafts in patients after CABG procedures [21]. In the course of inflammatory diseases, including atherosclerosis, endothelial cells become activated, resulting in increased expression of cyclooxygenase-2 (COX-2). Both cyclooxygenase isoenzymes (COX-1 and COX-2) take part in cascade of arachidonic acid transformation, leading to production of thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>), which is a potent platelet agonist. Acetylsalicylic acid has a stronger impact on cyclooxygenase-1 than on COX-2, which may also contribute to the development of resistance to the drug.

#### **Non-steroid anti-inflammatory drugs and resistance to ASA**

Another important factor correlating with development of resistance to ASA in the studied patient group was treatment with non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs), especially ibuprofen ( $p = 0.042$ ). Short-term NSAID therapy and the short half-life of acetylsalicylic acid together contribute to resistance to the latter agent [22]. Some NSAIDs reversibly block active sites in the COX-1 molecule, thus preventing particles of acetylsalicylic acid from accessing the enzyme. Even after reversion of the NSAID effect on COX-1, the enzyme is not capable of restoring TXA<sub>2</sub> production to the pre-treatment level. Besides, a transient and weak antiplatelet effect is therapeutically insufficient [23]. Therefore, simultaneous administration of NSAIDs has an adverse effect on ASA-dependent COX-1 inhibition. MacDonald et al. compared a group of patients with coronary heart disease receiving both ASA and ibuprofen with patients treated with ASA only or ASA and diclofenac. These authors concluded that patients treated with ASA and ibuprofen had a greater risk of becoming resistant to the former drug than patients treated with ASA and other agents [24]. Another study by Catella et al. also

typu 2 (COX-2) poprzez stymulację komórek śródbłonna. Obie formy izoenzymu cyklooksygenazy: cyklooksygenaza typu pierwszego (COX-1) oraz typu drugiego (COX-2) biorą udział w kaskadzie przemian kwasu arachidonowego do tromboksanu A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) — silnego agonisty płytek krwi. COX-2 jest jednak znacznie mniej podatna na p/płytkowe działanie kwasu acetylosalicylowego od COX-1, co może być kolejną przyczyną rozwoju oporności na ASA.

#### **Wpływ przyjmowania innych niesteroidowych leków przeciwzapalnych na rozwój aspirynooporności**

Kolejnym ważnym czynnikiem mającym wpływ na wystąpienie aspirynooporności było przyjmowanie NLPZ, a zwłaszcza ibuprofenu ( $p = 0,042$ ). Przyjmowanie NLPZ i krótki czas połowicznego rozpadu ASA doprowadzają do niewydolności przeciwplateletowego wpływu ASA [22]. Poprzez odwracalną inhibicję miejsc aktywnych cyklooksygenazy typu pierwszego (COX-1) niektóre NLPZ hamują do nich dostęp cząsteczek ASA. Nawet jeśli odwracalny wpływ NLPZ na COX-1 minie, nie jest ona w stanie katalizować produkcji TXA<sub>2</sub>, jak wcześniej. Co więcej, przejściowe, słabe działanie przeciwplateletowe jest niewystarczające do zapewnienia odpowiedniej terapii [23]. Tak więc jednocześnie, regularne przyjmowanie innych leków z grupy NLPZ ma negatywny wpływ na zależne od ASA zahamowanie aktywności COX-1. Z pracy MacDonald i wsp., gdzie porównano grupę pacjentów obciążonych chorobą niedokrwinną serca, przyjmujących ASA i ibuprofen z grupą przyjmującą tylko ASA lub ASA i diklofenak, wynika, że chorzy przyjmujący ASA z ibuprofenem byli bardziej obciążeni ryzykiem aspirynooporności od grupy pacjentów przyjmujących kombinację aspiryny i innych leków [24]. Kolejna praca pod kierunkiem Catella i wsp. również wykazuje negatywny wpływ ibuprofenu oraz naproksenu na rozwój aspirynooporności, co ciekawe — nie udowodniono takiej interakcji innych leków, jak rofecoksib, celecoksib, meloksib, meloksicam, acetaminofen oraz diklofenak [25].

#### **Wpływ wartości ciśnienia tętniczego na ryzyko nieprawidłowej odpowiedzi na kwas acetylosalicylowy**

W niniejszej pracy NT wiązało się ze wzrostem ryzyka wystąpienia oporności na ASA ( $p = 0,049$ ). Potwierdza to również publikacja Glerup i wsp., którzy wykazali, że u pacjentów z NT płytki krwi różnią się kształtem, objętością oraz długością życia w porównaniu z płytkami krwi pacjentów normotensyjnych, a także wykazują zwiększoną zdolność do agregacji [26].

showed an adverse effect of ibuprofen or naproxen on development of ASA-resistance. However, no such interaction was found for other agents, including rofecoxib, celecoxib, meloxicam, acetaminophen, and diclofenac [25].

### Arterial hypertension and risk of resistance to ASA

Arterial hypertension correlated significantly with increased risk of developing resistance to ASA in the analysed group of patients ( $p = 0.049$ ). This is in accordance with results published by Glerup et al. who showed that platelets in patients with arterial hypertension have different shape, volume and lifespan compared to normotensive subjects; this phenomenon was also related with increased platelet proaggregatory activity [26]. Platelet activation dependent on microparticles is also observed in the setting of increased thrombin synthesis [27]. Kjeldsen et al. measured  $\beta$ -thromboglobulin levels in patients with untreated arterial hypertension, and observed significantly higher levels of this marker as compared to a control normotensive patient group. This phenomenon should reflect increased platelet activity in the setting of hypertension [28]. Other authors could also confirm correlations between increased arterial blood pressure and high platelet activity [29–31]. It was also demonstrated that effective hypotensive treatment aimed at restoring normal blood pressure may reduce abnormal platelet function [32, 33].

The study was founded by research grant no. 403 1867 34 from the Medical Centre of Postgraduate Education in Warsaw

### Conclusions

1. The incidence of resistance to acetylsalicylic acid was high in the presented patient group, which reflects a risk of lack of effective antiplatelet therapy in many subjects.
2. Advanced atherosclerosis, arterial hypertension, and administration of non-steroid anti-inflammatory drugs were important risk factors of development of resistance to ASA.
3. Routine biochemical assessment of response to acetylsalicylic acid by the patient's bedside may be of importance in patients bearing the above-mentioned risk factors of becoming resistant to the drug.

### References

1. Smith SC J, Blair SN, Bonow RO et al (2001) AHA/ACC guidelines for preventing heart attack and death in patients with atherosclerotic cardiovascular disease: 2001 update. A statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. *Circulation*; 104: 1577–1579.

Aktywacja płytek krwi zależna od mikrocząstek jest również wynikiem zwiększonej syntezy trombin [27]. Kjeldsen i wsp. na podstawie oznaczeń stężenia  $\beta$ -tromboglobuliny u pacjentów z nieleczonym do tej pory nadciśnieniem tętniczym stwierdzili istotnie wyższe wartości tego markera świadczącego o nasilonej aktywności płytek krwi w porównaniu z grupą kontrolnej, z prawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego krwi [28]. Także w innych badaniach udało się potwierdzić związek między nieprawidłowymi wartościami ciśnienia tętniczego a zwiększoną aktywnością płytek krwi [29–31]. Z kolei w wielu pracach wykazano, że skuteczne leczenie hipotensyjne, prowadzące do normalizacji ciśnienia tętniczego, może zmniejszać zaburzenia funkcji płytek krwi [32, 33].

### Wnioski

1. Częstość aspirynooporności w badanej grupie chorych jest wysoka, co wskazuje na możliwość istnienia braku skutecznej terapii przeciwplateletowej u znacznej części pacjentów.
2. Zaawansowana miażdżyca, nadciśnienie tętnicze, przyjmowanie NLPZ to czynniki ryzyka mogące wpływać na wystąpienie oporności na przeciwplatetowe działanie ASA.
3. Rutynowe, „przyłóżkowe” badania oporności biochemicznej na ASA może być uzasadnione u pacjentów z obecnością wyżej wymienionych czynników ryzyka wystąpienia oporności na przeciwplatetowe działanie ASA.

Praca finansowana ze środków grantu naukowego nr 403 1867 34 uzyskanego przez Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego w Warszawie

2. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group (1998) Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). *Lancet*; 351: 1379–1387.
3. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators (1991) Beneficial Effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. *N Engl J Med*; 325: 445–453.
4. AbuRahma AF, Kyer PD 3rd, Robinson PA et al (1998) The correlation of ultrasonic carotid plaque morphology and carotid plaque hemorrhage: clinical implications. *Surgery*; 124: 721–726.
5. Ackerstaff RG, Moons KG, van de Vlasakker CJ et al (2000) Association of intraoperative transcranial doppler monitoring variables with stroke from carotid endarterectomy. *Stroke*; 31: 1817–1823.
6. Alberts MJ, Bergman DL, Molner et al (2004) Antiplatelet effect of aspirin in patients with cerebrovascular disease. *Stroke* 35: 175–178.

7. Antiplatelet Trialist Collaboration Collaborative (2002) Metaanalysis of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *Br Med J*; 324: 71–86.
8. Antiplatelet Trialists' Collaboration (1994) 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* 308: 81–106.
9. Antman EM, Anbe DT, Armstrong PW et al (2004) ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction — executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 1999 Guidelines for the management of patients with acute myocardial infarction). *Circulation*; 110: 588–600.
10. Arnolds BJ, von Reutern GM (1986) Transcranial Doppler sonography. Examination technique and normal reference values. *Ultrasound Med Biol*; 12: 115–123.
11. Barnett HJ, Taylor DW, Eliasziw M, et al (1998) Benefit of carotid endarterectomy in patients with symptomatic moderate or severe stenosis. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. *N Engl J Med*; 339: 1415–1425.
12. Bassiouny HS, Sakaguchi Y, Mikucki SA et al (1997) Juxtaluminar location of plaque necrosis and neoformation in symptomatic carotid stenosis. *Vasc Surg*; 26: 585–594.
13. Bergquist D (1994) Risk benefit aspects of surgery for symptomatic carotid artery stenosis. Risk benefit aspects of vascular surgery. International symposium. Stockholm; 198–200.
14. Bhatt DL, Topol EJ (2003) Scientific and therapeutic advances in antiplatelet therapy. *Nature Rev*; 2: 15–28.
15. Bhatt DL, Topol EJ (2004). Clopidogrel added to aspirin versus aspirin alone in secondary prevention and high risk primary prevention: rationale and design of the Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management and Avoidance (CHARISMA) trial. *Am Heart J*; 148: 263–268.
16. Bhatt DL (2004) Aspirin resistance: more than just a laboratory curiosity. *J Am Coll Cardiol*; 43: 1127–1129.
17. Biasi GM, Mingazzini PM, Baronio L, et al (1998) Carotid plaque characterization using digital image processing and its potential in future studies of carotid endarterectomy and angioplasty. *J Endovasc Surg*; 5: 240–246.
18. Biasi GM, Mingazzini P, Nicolaidis AN (1999) Computer analysis of ultrasonic plaque echolucency in identifying high risk carotid bifurcation lesions. *Eur J Vasc Endovasc Surg*; 17: 476–479.
19. Buchanan MR et al (1986). Role of lipoxygenase metabolism in platelet function. *Bioch*; 21: 157–168.
20. Bullock R., Mendelow A.D., Bone I., Patterson J. (2003) *Nature Rev*; 2: 15–28.
21. Burt RW, Witt RM, Cirkit DF (1992). Carotid artery disease: evaluation with acetazolamide-enhanced with Tc-99m HMPAO SPECT. *Radiology*; 182: 461–464.
22. Camejo G, Olofsson SO, Lopez F et al (1988) Identification of Apo B-100 segments mediating the interaction of low density lipoproteins with arterial proteoglycans. *Arteriosclerosis*; 8: 368–377.
23. Catella-Lawson F, Reilly MP, Kapoor SC et al (2001). Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. *N Engl J Med*; 345: 1809–1817.
24. Chakroun T, Gerotziafz G, Robert F et al (2004). In vitro aspirin resistance detected by PFA 100 closure time: pivotal role of plasma von Willebrand factor. *Br J Haematol Jan*; 124: 80–85.
25. Catella F, Healy D, Lawson JA, FitzGerald GA (1986) 11-Dehydrothromboxane B2: a quantitative index of thromboxane A2 formation in the human circulation. *Proc Natl Acad Sci USA*; 83: 5861–5865.
26. Christiaens L, Macchi L, Herpin D et al (2003) Resistance to aspirin in vitro at rest and during exercise in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Thromb Res*; 108: 115–119.
27. Coleman JL, Alberts MJ (2006) Effect of Aspirin Dose, Preparation, and Withdrawal on Platelet Response in Normal Volunteers. *Am J Cardiol*; 98: 838–841.
28. Kjeldsen SE, Lande K, Gjesdal K et al (1987) Increased platelet release reaction in 50-year-old men with essential hypertension: correlation with atherogenic cholesterol fractions. *Am Heart J*; 113: 151–155.
29. Collaborative Group of Primary Prevention Project (2001) Low dose aspirin and vitamin E in people at cardiovascular risk: a randomized trial in general practice. *Lancet*; 357: 89–95.
30. Davies MJ (1992) Anatomic features in victims of sudden coronary death: coronary artery pathology. *Circulation*; 85: 119–124.
31. Letcher RL, Chien S, Pickering TG et al (1981) Direct relationship between blood pressure and blood viscosity in normal and hypertensive subjects: role of fibrinogen and concentration. *Am J Med*; 70: 1195–202.
32. Spencer CG, Gurney D, Blann AD et al (2002) Von Willebrand factor, soluble P-selectin, and target organ damage in hypertension: a substudy of the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial (ASCOT). *Hypertension*; 40: 61–66.
33. Schafer AI (1995) Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on platelet function and systemic hemostasis. *J Clin Pharmacol*; 35: 209–219.