

Badania podstawowe przed badaniami klinicznymi, czyli dlaczego warto wrócić do laboratorium

dr n. med. Wiktor Kulickowski

Śląskie Centrum Chorób Serca, Zabrze



Leczenie przeciwplatek jest jednym z filarów współczesnej kardiologii. Łączne stosowanie kwasu acetylosalicylowego (ASA) i pochodnych tienopirydyny (tiklopidyny, a obecnie kłopidogrelu) pozwoliło na bezpieczne implantowanie stentów naczyniowych bez nadmiernego niepokoju o nagłe zamknięcie naczyń w przebiegu zakrzepicy. Skuteczność ze stosowania takiego połączenia w zmniejszaniu ryzyka zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych, zawału mięśnia serca i udaru mózgu potwierdzono również u chorych leczonych z powodu ostrego zespołu wieńcowego (OZW) [1]. Co prawda, chorzy otrzymujący kłopidogrel mieli większe ryzyko istotnych krwawień, jednak korzyści z jego zastosowania przewyższały związane z tym ryzyko.

Podwójna terapia przeciwplatekowa okazała się skuteczna w ostrych stanach kardiologicznych, może więc będzie równie korzystna u chorych stabilnych lub z jedynie ryzykiem rozwoju choroby na podłożu miażdżycy. Takie przesłanki przyświecały twórcom badania CHARISMA [2]. Do badania włączono osoby z już udokumentowaną chorobą niedokrwienną serca, objawową chorobą naczyń mózgowych lub naczyń kończyn dolnych oraz osoby z jedynie wysokim ryzykiem ich wystąpienia. Porównywano leczenie samym ASA i ASA z kłopidogrelem i obserwowano chorych przez 28 miesięcy, analizując pierwotny łączny punkt końcowy: zawał, udar mózgu lub zgon z przyczyn sercowo-naczyniowych. Po tym okresie okazało się, że takie leczenie nie pomaga, a wręcz szkodzi osobom z grupy wysokiego ryzyka (większe ryzyko krwawień) i przynosi niewielkie, ale istotne statystycznie korzyści u osób z już zdiagnozowaną chorobą.

W związku z pracą A. Undas i wsp. przychodzi na myśl badanie CHARISMA i jego dość negatywny wydźwięk – wyniki tej próby klinicznej oddaliły w czasie możliwość poprawy rokowania wśród chorych z powikłaniami miażdżycy. Grupa badana i zastosowane leczenie w omawianej pracy są podobne jak w badaniu CHARISMA. Do badania włączani byli chorzy ze stabilną postacią choroby niedokrwiennej serca, porównywano leczenie samym ASA i ASA z kłopidogrelem, bez dawki nasycającej, a efekt biologiczny oceniano po 4 tygodniach. Wykazano, że podwójna terapia przeciwplatekowa spowodowała ponad 2-krotne wy-

dłużenie czasu krwawienia, czego oczywiście można się było spodziewać. Okazało się również, że takie leczenie nie wpływa na dalsze zmniejszenie powstawania trombi-ny w miejscu uszkodzenia naczyń. To ważna obserwacja, pokazująca, że korzystny dodatkowy efekt przeciwplatekowy kłopidogrelu (poza blokowaniem receptora dla ADP) może być związany z innym mechanizmem. Ciekawe jest, na co również zwracają uwagę autorzy badania w dyskusji, że kłopidogrel zmniejszył istotnie (*in vivo* – *in loco*) wydzielanie sCD40L i P-selektyny w miejscu uszkodzenia naczyń, przy czym największy efekt obserwowano u chorych z wywiadem zawału mięśnia serca i objawową miażdżycą zarostową naczyń kończyn dolnych, którzy wyjściowo mieli najbardziej „pobudliwe” płytki krwi. Choć grupa badana była dość mała, to czy na podstawie takiego wyniku nie można zadać pytania, którzy z pacjentów ze stabilną chorobą na podłożu miażdżycy mogliby skorzystać z dołączenia kłopidogrelu do ASA? Wydaje się, że mogą to być szczególnie osoby z już udokumentowaną chorobą niedokrwinną serca i zajęciem jeszcze jednego dodatkowego łożyska naczyniowego.

Takie badania jak komentowane są szczególnie wartościowe – dają przyczynek do dalszych poszukiwań, które powinny ostatecznie doprowadzić do dużych i zogniskowanych na konkretną grupę chorych badań klinicznych. Czy odpowiednią drogą w badaniach klinicznych nie powinna być więc najpierw ocena biologicznych efektów działania leku w laboratorium w grupie osób o charakterystyce podobnej do planowanej w danym projekcie? Oczywiście zazwyczaj firmy zajmujące się projektowaniem i oceną nowych leków tak czynią, jak jednak widać na przykładzie badania CHARISMA, czasem coś nieoczekiwanego może się zdarzyć.

Od kilku lat powstaje wiele prac dotyczących metodyki badań układu krzepnięcia, w tym oceny efektu działania leków przeciwplatekowych. W omawianej pracy sprawdzano skuteczność działania ASA za pomocą oceny stężenia metabolitu tromboksanu w surowicy krwi, co jest metodologicznie zgodne z postulowanymi wcześniej, a potwierdzonymi ostatnio zaleceniami [3]. Ciekawe byłoby również sprawdzenie efektu działania kłopidogrelu – najprościej za pomocą agregacji wywołanej ADP lub metodą cytofluometryczną oceniającą fosforylację białka VASP. Zastosowana przez autorów metodyka oceny powstawania trombi-ny *in vivo* wymaga skrupulatnej standaryzacji

oraz dobrze wyszkolonego i sprawnego badacza – pobieranie krwi z miejsca nacięcia skóry w odstępach minutowych przez kolejnych 6 min z szybkim przenoszeniem niektórych próbek na lód i potem do wirówki. Tym bardziej należy pogratulować zaledwie kilkuprocentowej zmienności wyników. Jest to z pewnością metoda dość czasochłonna i trudna do zastosowania na co dzień w praktyce klinicznej, jednak pozwalająca na pewne istotne obserwacje biologiczne.

Obecnie obserwuje się pewien podział laboratoryjnych metod oceny funkcji układu krzepnięcia, szczególnie płytek krwi, na metody takie jak wyżej opisana – bardziej wymagające i czasochłonne, i metody szybkie, z zastosowaniem wymiennych jednorazowych wkładów do przyłóżkowych aparatów dających wynik w ciągu kilku minut. Oba rodzaje metod analitycznych już obecnie pokazują, że przy pewnej mierzonej wartości można zidentyfikować grupy chorych leczonych przeciwplateletowo mających wyższe ryzyko zdarzeń niepożądanych w przyszłości. Metody te są może wciąż zbyt mało specyficzne i czułe, jednak można się spodziewać ich poprawy w nadchodzących latach, a wraz z tym przybliżenia się perspektywy monitorowania leczenia przeciwplateletowego. Metodyka zastosowana w omawianej pracy pozwoliła na wykrycie efektu przeciwplateletowego klopidogrelu, który nie był mierzalny we krwi obwodowej u tych samych chorych, jest przez to już na samym początku obiecująca i miejmy nadzieję, że w przyszłości udowodni swoją przydatność w przewidywaniu zdarzeń klinicznych.

Badania nad związkiem pomiędzy pobudzeniem płytek krwi, efektem działania leków przeciwplateletowych i genetyką są prowadzone również od wielu lat. Dotąd wyniki dotyczące wpływu polimorfizmu genów kodujących białka receptorowe dla fibrynogenu i ADP na funkcję płytek są sprzeczne. Autorzy omawianej pracy również nie wykryli różnic co do efektu przeciwplateletowego ASA i klo-

pidogrelu w zależności od obecności allele PIA2. Możliwe jednak, że powinniśmy szukać nie polimorfizmu genów kodujących struktury receptorowe, ale polimorfizmu genów kodujących enzymy w szlaku przemian leków przeciwplateletowych. Ostatnie doniesienia na temat słabszego efektu przeciwplateletowego klopidogrelu u osób z wariantem CYP2C19 [4] doprowadziły wręcz do tego, że w ulotce dołączonej do leku w Stanach Zjednoczonych pojawiła się informacja na ten temat.

Pomimo że ASA i klopidogrel są stosowane w kardiologii od wielu lat, nadal wiele pytań dotyczących ich działania czeka na odpowiedź. Którzy chorzy ze stabilną chorobą niedokrwienną serca mogą skorzystać z podwójnej terapii przeciwplateletowej? Jaką metodą najlepiej oceniać efekt działania leku? Jaki wariant genetyczny związany jest ze słabszym działaniem leku? – żeby odpowiedzieć na te pytania, warto i należy „wrócić do laboratorium”.

Piśmiennictwo

1. Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, 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: 494-502.
2. Bhatt DL, Fox KA, Hacke W, et al. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med* 2006; 354: 1706-17.
3. Kulickowski W, Witkowski A, Polonski L, et al. Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2009; 30: 426-35.
4. Varenhorst C, James S, Erlinge D, et al. Genetic variation of CYP2C19 affects both pharmacokinetic and pharmacodynamic responses to clopidogrel but not prasugrel in aspirin-treated patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 2009 (w druku).