

Il ruolo di clopidogrel nelle sindromi coronariche acute senza sopraslivellamento ST

Attilio Maseri, Domenico Cianflone, Alberto Margonato, Giuseppe Pizzetti

Dipartimento di Malattie Cardiovascolari, Università Vita e Salute San Raffaele, Istituto Scientifico H San Raffaele, Milano

Key words:
Antiaggregating agents;
Unstable angina.

Unstable angina and no ST-segment elevation myocardial infarction are acute coronary syndromes (ACS) typically characterized by minimal or little myocardial damage, but often heralding "classical" infarction or coronary death in the short or medium term. Coronary thrombi, mainly composed by platelets, are the major pathogenetic component of ACS and an effective therapeutic target. The hemostatic balance can be shifted towards an antithrombotic state in the clinical setting. Although the thrombogenic stimuli acting in each individual patient, their intensity as well as the prothrombotic factors that may contribute to an inappropriate thrombus growth, remain largely unknown. To this purpose the modulation of platelet aggregation is a particularly effective and practical therapeutic target. The availability of a new antiplatelet agent, clopidogrel, with a proven efficacy in the prevention of cardiovascular events, suggests the opportunity of reviewing the mechanisms of instability and the therapeutic strategies in patients with ACS.

In this review we analyze: 1) the composition of coronary thrombi in patients with ACS, 2) the mechanisms of thrombus development and growth, 3) the mechanisms of platelet adhesion and aggregation, 4) the characteristics of clopidogrel, 5) the efficacy of the various therapeutic strategies, 6) the possible implications of the adjunctive therapy with clopidogrel for the treatment and prevention of cardiovascular events in ACS with no ST-segment elevation.

(Ital Heart J Suppl 2002; 3 (2): 187-197)

© 2002 CEPI Srl

Ricevuto l'8 gennaio 2002; accettato il 14 gennaio 2002.

Per la corrispondenza:

Prof. Attilio Maseri

Dipartimento di Malattie Cardiovascolari
Università Vita e Salute San Raffaele
Istituto Scientifico H San Raffaele
Via Olgettina, 60
20132 Milano

Le sindromi coronariche acute senza sopraslivellamento ST sono l'angina instabile e l'infarto miocardico acuto che si presenta senza sopraslivellamento ST. Tipicamente queste sindromi si associano a necrosi miocardica non rilevabile o molto limitata, ma rappresentano una minaccia potenziale di infarto "classico" e di morte cardiaca a breve o medio termine ed invero sono l'unica avvisaglia clinica di un possibile infarto imminente.

La trombosi coronarica, in particolare con la sua frazione piastrinica, si è dimostrata una componente patogenetica importante ed un bersaglio terapeutico efficace per prevenire la possibile evoluzione di queste sindromi verso un infarto miocardico e la morte cardiaca. Tuttavia gli stimoli trombotici sono molteplici e non ancora identificati con chiarezza. Inoltre svariate alterazioni della cascata trombotica e di quella fibrinolitica possono contribuire ad un'inappropriata crescita del trombo (Fig. 1)¹.

Nella pratica clinica possiamo efficacemente modificare in senso antitrombotico l'equilibrio emostatico anche se ancora non conosciamo con precisione né gli stimoli trombotici che operano nei singoli pazienti, né la loro intensità, né le alterazioni

protrombotiche che potrebbero contribuire ad una crescita inappropriata del trombo. Abbiamo a disposizione farmaci fibrinolitici (in presenza di un trombo occlusivo), l'eparina ed i suoi succedanei, l'irudina e farmaci che riducono l'attività protrombinica ma, nel complesso equilibrio emostatico, la modulazione dell'aggregabilità piastrinica rappresenta un bersaglio terapeutico particolarmente maneggevole e di dimostrata efficacia per la prevenzione dell'infarto e della morte cardiaca. La disponibilità nella pratica clinica di un nuovo farmaco antiaggregante piastrinico, clopidogrel, con una provata efficacia nella prevenzione degli eventi cardiovascolari, suggerisce l'opportunità di una revisione delle strategie terapeutiche nei pazienti con sindromi coronariche acute.

A questo scopo è utile considerare una serie di punti fondamentali: 1) la composizione dei trombi coronarici nei pazienti con sindromi coronariche acute, 2) i meccanismi di formazione e di crescita del trombo, 3) i meccanismi di adesione ed aggregazione piastrinica, 4) le caratteristiche di clopidogrel, 5) l'efficacia delle varie strategie antitrombotiche nel trattamento medico delle sindromi coronariche acute, 6) le pos-

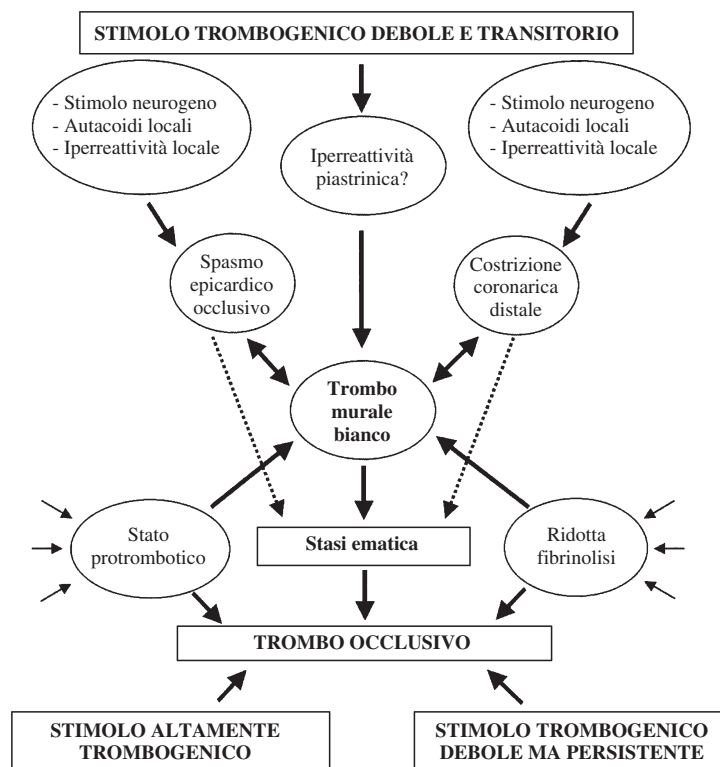


Figura 1. Circoli viziosi che possono portare alla formazione di un trombo occlusivo. Un trombo rosso occlusivo si può formare rapidamente nel giro di pochi minuti nella sede di un danno altamente trombogenico (ad esempio la rottura di una placca fortemente trombogenica). Un trombo occlusivo piastrinico si può formare gradualmente nel giro di qualche ora nella sede di uno stimolo trombogenico debole ma molto persistente (per esempio un processo infiammatorio persistente). Un trombo murale che deriva da una fissurazione di una placca o da un processo infiammatorio locale può evolvere in un trombo occlusivo in presenza di uno stato protrombotico o di stasi ematica indotta da costrizione coronarica locale o distale. Le componenti di questo circolo vizioso possono essere di importanza e prevalenza variabili in gruppi di pazienti differenti. Gli stati protrombotici possono essere secondari ad un'alterazione acquisita o genetica che porta ad un'aumentata reattività piastrinica e/o accelerata ed aumentata formazione di trombina ad una ridotta fibrinolisi. Da Maseri¹, modificata.

sibili implicazioni dell'aggiunta di clopidogrel all'armamentario terapeutico disponibile nella pratica clinica per la terapia e la prevenzione degli eventi cardiovascolari nelle sindromi coronariche acute senza soprasslievemento ST.

Composizione dei trombi coronarici nelle sindromi coronariche acute

Una serie di studi autoptici dimostrano che la maggior parte dei trombi coronarici sono costituiti da piastrine in variabile associazione con fibrina²⁻⁶:

- nelle placche fissurate, il trombo è composto quasi esclusivamente da piastrine;
- i trombi murali che si estendono dalla fissurazione della placca fino al lume o che si sviluppano sopra aree di erosione intimale hanno un contenuto misto di piastrine e fibrina, e sovente sono composti da strati di età diverse indicativi di un ripetersi a distanza di giorni o settimane di fasi di attività e crescita alternate a fasi di quiescenza e di rimodellamento;
- i trombi occlusivi su stenosi molto serrate sono composti per lo più da piastrine e fibrina;
- i trombi occlusivi su stenosi non critiche sono in ge-

nere composti da una rete lassa di fibrina con molti globuli rossi e leucociti ed una scarsa quantità di piastrine, spesso aggregate in gruppi. Questi trombi si osservano di solito in corrispondenza di placche ulcerate in profondità con esposizione di materiale altamente trombogenico;

- la trombosi coronarica occlusiva si può estendere distalmente ed anche prossimalmente a causa della stasi ematica, dell'attivazione massiva di fattori protrombotici ed alla loro mancata rimozione. Tali trombi sviluppati per propagazione hanno la stessa composizione dei coaguli ematici venosi.

La grande prevalenza della componente piastrinica nei trombi coronarici ha chiare implicazioni patogenetiche sull'intensità e durata dello stimolo trombogenico.

Meccanismi di formazione e crescita del trombo

La composizione, velocità di crescita e modalità di organizzazione del trombo variano in funzione dell'intensità e della durata dello stimolo trombogenico. Il deficit di fattori antitrombotici e fibrinolitici può influenzare la crescita e l'estensione del trombo (Fig. 1). In ge-

nerale tanto più intenso è lo stimolo trombogenico, tanto più rapida la crescita del trombo stesso e tanto maggiore la componente di fibrina e globuli rossi, che può causare rapidamente l'occlusione completa del vaso nello spazio di pochi minuti. Una tumultuosa crescita del trombo si verifica nell'animale quando si inserisce in un'arteria una spirale di rame. Nell'uomo questa evenienza si può verificare per la rottura meccanica di una placca, anche non stenotica, ma ad alta potenzialità trombotica, con ulcerazione estesa al core lipidico, ricco in fattore tissutale⁷.

Più frequentemente lo stimolo trombogenico non è così intenso da sopraffare i fattori antitrombotici e fibrinolitici continuamente apportati dal flusso ematico o prodotti dalla parete arteriosa. In tal caso la progressiva deposizione delle piastrine è variabile e la velocità di crescita del trombo "bianco" ricco in piastrine è proporzionale all'intensità e alla durata dello stimolo trombogenico, come nel modello animale in cui l'applicazione di una corrente elettrica continua causa l'occlusione piastrinica di un'arteria in circa 1 ora. Quando lo stimolo non è persistente, la trombosi presenta fasi di arresto e ricrescita che spiegano la presenza di trombi con strati di età diversa⁶. Questa constatazione è anche compatibile con l'andamento prolungato ed altalenante dell'angina instabile verosimilmente legato ad una variabile attività di processi infiammatori locali. La combinazione di trombi murali con stati protrombotici geneticamente determinati o acquisiti, con stasi ematica causata da fenomeni di vasospasmo o vasocostrizione distale, può precipitare l'occlusione completa del vaso.

Uno stimolo trombogenico debole può riconoscere cause diverse:

- la fissurazione meccanica di placche non fortemente trombogeneiche;
- l'attivazione infiammatoria dell'endotelio vascolare che lo rende trombogenico e può anche causare la rottura di placche aterosclerotiche che oltre a esporre materiale trombogenico, sono anche ricche di cellule infiammatorie e citochine proinfiammatorie;
- l'attivazione piastrinica da elevato "shear stress" in presenza di stenosi critiche anche in assenza di agonisti solubili. Tale possibilità appare di limitata importanza, dato che stenosi critiche sono frequenti anche nei pazienti completamente stabili.

L'attivazione infiammatoria endoteliale causa la perdita delle sue capacità antiadesive ossido nitrico-mediate ed antiaggreganti mediate dalla prostaciclina⁸, induce l'espressione di molecole di adesione per piastrine e leucociti quali l'E-selectina, ICAM-1, VCAM-1^{9,10}, nonché di fattore tissutale¹¹, riduce la sintesi di fattori vasodilatanti (ossido nitrico, prostaciclina)¹², determina la produzione di stimoli vasocostrittori intensi come l'endotelina^{13,14}. L'attivazione infiammatoria può inoltre essere estesa all'intera parete vascolare, con espressione di metalloproteasi in grado di causare la perdita di endotelio, indebolire la parete della placca e

causarne la rottura¹⁵. Di solito lo stimolo trombogenico è debole ma persistente e spesso è ricorrente, verosimilmente a causa della variabile attività di processi infiammatori. Quindi il ruolo delle piastrine appare cruciale anche nel medio-lungo termine ed i fattori che influenzano l'adesività e l'aggregabilità piastrinica rappresentano un importante bersaglio farmacologico nelle sindromi coronariche acute.

L'adesione delle piastrine alla superficie endovascolare può essere causata da vari fattori, elencati in tabella I. L'adesione piastrinica avviene tramite proteine adesive costitutive o espresse dopo attivazione piastrinica, grazie soprattutto a legami con proteine del sottoendotelio (collagene monomero tipo IV della membrana basale, fattore di von Willebrand, fibronectina, trombospondina, laminina, fibrinogeno) o della media (collagene fibrillare tipo I e III, fattore tissutale)¹⁶⁻¹⁸. Le glicoproteine (GP) coinvolte sono molteplici e le principali sono elencate in tabella II¹⁹.

In presenza di endotelio attivato da citochine infiammatorie, vengono espresse molecole di adesione che innescano l'adesione e l'attivazione piastrinica e leucocitaria. Particolarmente studiate sono le selettine, ICAM-1 e VCAM-1 e il fattore di attivazione piastrinica (PAF)²⁰. In tabella III vengono riassunte le molecole potenzialmente coinvolte nelle interazioni tra endotelio, leucociti e piastrine.

Successivamente all'adesione piastrinica all'endotelio attivato o al subendotelio o a leucociti attivati, le porzioni citoplasmatiche delle GP legate ai loro agonisti innescano i segnali intracellulari che portano all'attivazione piastrinica. Una serie di cascate biochimiche (aumento degli ioni calcio, fosforilazione selettiva di proteine, variazione dei livelli di AMP ciclico) comportano una variazione di morfologia e di affinità recettoriale, generazione di trombossano A₂, liberazione del contenuto dei granuli densi (adenosina difosfato-ADP, serotonina) e dei granuli alfa (beta-tromboglobulina, trombospondina, fattore piastrinico 4), modifica-

Tabella I. Fattori promotori dell'adesione piastrinica.

1. Fattori anatomici: soluzione di continuità dello strato endoteliale
2. Fattori funzionali: attivazione infiammatoria endoteliale
3. Fattori reologici: "shear stress"
4. Una varia combinazione dei fattori 1, 2, 3

Tabella II. Recettori mediatori dell'adesione piastrinica.

Glicoproteine	GPIb con fattore di von Willebrand GP IV con collagene, trombospondina
Beta ₁ -integrine	GP Ia/IIa con collagene GP Ic/IIa con laminina, fibronectina
Beta ₃ -integrine	GP IIa/IIIb con conformazione a bassa affinità con fibrinogeno e fattore di von Willebrand

Da Fozzard et al.¹⁹, modificata.

Tabella III. Recettori mediatori dell'adesione intercellulare (leucociti/endotelio/piastrine).

Beta ₂ -integrine	Specifiche dei leucociti; riconoscono altre proteine adesive
Selectine	
P-selectina (endotelio)	Presente nei granuli alfa (piastrine) e nei corpi di Weibel-Palade; espressa dopo attivazione piastrinica; riconosce recettori specifici su monociti e neutrofil
E-selectina	Espressa dopo attivazione endoteliale; riconosce Syalyl-Lewis X (neutrofil, monociti, linfociti T memoria)
Superfamiglia delle immunoglobuline	
ICAM-1	Costitutiva endoteliale, aumenta dopo stimolo con interleuchina-1, fattore di necrosi tumorale, interferone, fattore di attivazione piastrinica; riconosce neutrofil, monociti e linfociti
VCAM-1	Espressa dopo attivazione endoteliale da citochine; riconosce i monociti
PECAM-1	Costitutiva su piastrine, dopo attivazione su endotelio e leucociti; facilita la tras migrazione leucocitaria

zioni di membrana in grado di facilitare la cascata coagulativa e la formazione di trombina. Un ruolo particolarmente importante è svolto dall'attivazione piastrinica tramite legame della trombina con recettori specifici (*protease activated receptor* 1 e 3) esposti anche su endotelio e leucociti attivati. La rapidità e l'entità dell'attivazione piastrinica sono influenzate da sostanze prodotte dall'endotelio quali la prostaciclina, il PAF e l'ectoADPase o da fattori ormonali solubili quali le catecolamine e la vasopressina²¹. In tabella IV sono riassunti gli attivatori fisiologici e patologici delle piastrine.

Una volta innescato, il processo di attivazione piastrinica rende possibile l'aggregazione irreversibile delle piastrine con induzione anche di un'attività procoagulativa. La liberazione del contenuto dei granuli (ADP e trombina) e la sintesi di trombina permettono il reclutamento di un elevato numero di piastrine, amplificando e perpetuando il processo trombotico. In tabella V sono elencati i principali fattori promotori l'aggregazione piastrinica.

La modulazione o il blocco di una o più di queste vie di aggregazione piastrinica è potenzialmente in grado di limitare l'accrescimento dei trombi.

Tabella IV. Fattori promotori l'attivazione piastrinica.

1. Attivazione piastrinica da contatto, successiva all'adesione alla parete vasale, leucociti o ad altre piastrine già aggregate.
2. Fattori solubili con elevata capacità attivante: trombina, adenosina difosfato, trombina.
3. Fattori solubili con minore capacità attivante: catecolamine, serotonina, fattore di attivazione piastrinica, vasopressina, trombolitici.

Tabella V. Fattori promotori l'aggregazione piastrinica.

1. Modifica della conformazione della glicoproteina IIb/IIIa (ad alta affinità) con creazione di legami "a ponte" grazie al legame con fattori solubili (fibrinogeno, fattore di von Willebrand, fibronectina, trombospondina, vitronectina).
2. Interazione con leucociti attivati tramite proteine di segnale transcellulare (selectine, integrine) con la formazione di aggregati misti (piastrine e leucociti).
3. Meccanismo di potenziamento tramite tre vie indipendenti: adenosina difosfato, trombina, trombina A₂.

Inibizione dell'aggregazione piastrinica

I principali meccanismi attraverso i quali, sulla base di quanto finora esposto, l'aggregazione piastrinica può essere inibita sono tre: a) blocco della ciclossigenasi-1; b) blocco della GP IIb/IIIa; c) blocco del recettore P2Y₁₂ dell'ADP²² (Fig. 2).

La ciclossigenasi viene inibita selettivamente dall'acido acetilsalicilico (ASA) che blocca la sintesi di trombina A₂ e, quindi, l'attivazione piastrinica trombina A₂-dipendente. Questa inibizione alle dosi usate è praticamente massimale ed anche irreversibile per cui l'aggregazione piastrinica trombina A₂-dipendente può essere ripristinata solo dalla sintesi di nuove piastrine.

L'inibizione del recettore GP IIb/IIIa impedisce il legame con molecole bivalenti di fibrinogeno essenziale per la formazione di aggregati piastrinici²³⁻²⁶. Questa inibizione è dose-dipendente e può essere mantenuta fino a 24 ore²⁷ a seconda del tipo di bloccante usato.

L'ADP è presente in elevate concentrazioni intrapiastriniche (granuli densi) ed innesca e mantiene il fenomeno dell'aggregazione. L'aggregazione indotta da ADP, nell'uomo, avviene attraverso recettori purinergici^{28,29} i quali una volta attivati inducono i seguenti fenomeni: 1) modificazioni morfologiche delle piastrine, 2) aumento della concentrazione intracellulare di calcio, 3) assemblaggio della GP IIb/IIIa, 4) espressione della P-selectina.

L'antagonizzazione degli effetti aggreganti dell'ADP, quindi, è un target farmacologico particolarmente composito nella terapia antiaggregante piastrinica³⁰⁻³³.

Le caratteristiche di clopidogrel

Meccanismo d'azione. Clopidogrel, analogamente a ticlopidina, è un derivato tienopiridinico in grado di inibire l'aggregazione indotta da ADP. L'uso clinico di ticlopidina non ha avuto ampia diffusione clinica perché questo farmaco può indurre in una percentuale apprezzabile (circa il 2.5%) leucopenia talora grave (0.8%)¹⁹. Clopidogrel appare privo di effetto mielotossico ed ha un migliore profilo di sicurezza³⁴.

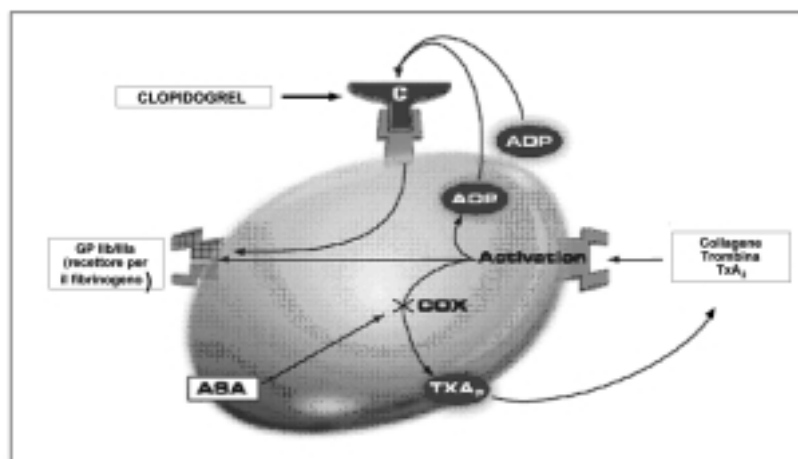


Figura 2. Questa figura illustra le vie coinvolte nell'attivazione piastrinica e i punti dove agiscono clopidogrel ed acido acetilsalicilico (ASA). Clopidogrel è un potente inibitore non competitivo dell'aggregazione piastrinica indotta dall'adenosina difosfato (ADP), che inibisce in modo irreversibile il legame dall'ADP ai recettori sulla membrana delle piastrine. Il legame dell'ADP è necessario per l'attivazione del recettore della glicoproteina (GP) IIb/IIIa, che è il sito di legame per il fibrinogeno. Quest'ultimo lega diverse piastrine tra loro formando l'aggregato piastrinico. Pertanto, clopidogrel inibisce, in ultimo, l'attivazione del recettore per la GP IIb/IIIa ed il suo legame con il fibrinogeno. L'ASA inibisce l'enzima ciclossigenasi (COX), prevenendo la produzione di prostaglandine e di trombossano A₂ (TXA₂) dall'acido arachidonico. Il TXA₂ attiva il sito di legame per la GP IIb/IIIa sulla superficie delle piastrine, consentendo il legame del fibrinogeno. Poiché ASA e clopidogrel inibiscono vie diverse dell'attivazione piastrinica, esiste la possibilità di un effetto sinergico tra i due agenti.

L'inibizione selettiva dell'aggregazione indotta da ADP da parte di clopidogrel si verifica esclusivamente *in vivo*, solo dopo metabolismo del farmaco a livello epatico da parte del citocromo P450 che trasforma clopidogrel nella sua forma attiva^{35,36}. Dal punto di vista della struttura chimica, clopidogrel non dà luogo a metaboliti comuni con ticlopidina e quindi anche il suo metabolita attivo non può essere generato a partire da ticlopidina³⁷.

Il metabolita attivo di clopidogrel blocca irreversibilmente il recettore piastrinico purinergico P2Y₁₂, in precedenza chiamato P2t, P2Yac, P2tac o P2cyc da vari autori^{28,29,37,38}.

Il blocco del recettore piastrinico per l'ADP interferisce solo sul terzo e quarto meccanismo ADP-dipendente, cioè:

- inibizione dell'“assemblaggio” della GP IIb/IIIa²⁸. La durata di questa inibizione è correlata all'effetto di blocco irreversibile del recettore piastrinico per l'ADP P2Y₁₂³⁹;
- riduce l'espressione della P-selectina, fondamentale per l'adesione delle piastrine con l'endotelio e con i leucociti, attraverso meccanismi non del tutto chiariti. Infatti, clopidogrel è in grado di ridurre l'attivazione piastrinica misurata come presenza di P-selectina, che non varia dopo somministrazione di ASA⁴⁰.

Per contro, clopidogrel non interferisce con gli altri due meccanismi ADP-dipendenti perché non modifica la morfologia delle piastrine^{39,41,42} e le concentrazioni intracellulari dello ione calcio^{28,43}.

Farmacodinamica. Clopidogrel esplica la sua azione antiaggregante in tempi rapidi. L'effetto antiaggregante è evidente entro 2 ore dalla somministrazione di 75 mg di farmaco⁴⁴. Una dose di carico (300-375 mg) accele-

ra l'inizio dell'effetto statisticamente significativo già dopo 30 min^{45,46}, e permette di raggiungere valori di massima inibizione più elevati e più precoci.

L'effetto antitrombotico di clopidogrel somministrato come dose di carico risulta più precoce e più elevato di una singola dose di 75 mg o di una dose di 500 mg bid di ticlopidina⁴⁷. Un effetto antitrombotico sinergico risulta dall'impiego di clopidogrel in associazione ad ASA e la comparsa di tale beneficio risulta più precoce con l'utilizzo di una dose di carico di clopidogrel ancora più marcata⁴⁸.

Nonostante la necessità dell'attivazione epatica di clopidogrel da parte del citocromo P450^{49,50} una serie di studi clinici hanno dimostrato che non sono necessari aggiustamenti di dose nei pazienti anziani^{44,51,52}, in quelli con insufficienza renale^{51,53}, né nei soggetti con cirrosi epatica di entità lieve-moderata^{51,54}.

Le caratteristiche di clopidogrel, che conducono alla possibilità dell'impiego di una dose di carico ed in associazione ad ASA, rappresentano un vantaggio significativo sotto il profilo clinico rispetto a ticlopidina.

L'efficacia delle varie strategie antitrombotiche nel trattamento medico delle sindromi coronariche acute

Una notevole serie di studi ha dimostrato in maniera inequivocabile l'efficacia di ASA nella prevenzione di eventi ischemici cardiaci e cerebrali⁵⁵⁻⁵⁷. Questa dimostrazione complementa l'evidenza fornita dallo studio ISIS-2 che la somministrazione acuta di ASA di per sé riduce la mortalità per infarto e ha un effetto benefico addizionale a quello della streptochinasi⁵⁸.

Quindi, per la sua semplicità d'uso, la sua efficacia, il basso costo, la notorietà di tutti i suoi effetti collaterali (dato che è in uso da oltre un secolo), questo farmaco rappresenta il pilastro della terapia e prevenzione antitrombotica nei pazienti con sindromi coronariche acute.

Tuttavia, non tutti i pazienti tollerano l'ASA, per fenomeni allergici o per disturbi gastrici. Inoltre, anche se questo farmaco può ridurre l'incidenza di infarto nelle sindromi coronariche acute di circa il 50%^{55,56}, il rimanente dei pazienti va incontro ad infarto nonostante la terapia con ASA. Pertanto sono state sperimentate una serie di strategie antitrombotiche aggiuntive all'ASA per ridurre ulteriormente il rischio cardiovascolare, particolarmente in pazienti sottoposti a terapie interventistiche a rischio elevato.

I più ampi studi clinici effettuati prima dell'avvento di clopidogrel riguardano l'uso di farmaci somministrati per via parenterale o per via orale.

Somministrazione parenterale. Fra i farmaci somministrati per via parenterale l'utilizzo dell'eparina in associazione ad ASA è ormai pratica standard in unità di terapia intensiva, come specificato sia nelle linee guida dell'American College of Cardiology/American Heart Association che in quelle dell'European Society of Cardiology⁵⁹.

Più recentemente, risultati vantaggiosi in termini di efficacia e tollerabilità sono stati ottenuti utilizzando le eparine a basso peso molecolare iniettate per via sottocutanea al posto dell'eparina standard iniettata endovena⁶⁰⁻⁶⁴. Le eparine a basso peso molecolare rispetto all'eparina non frazionata hanno il vantaggio di una più lineare correlazione dose/effetto e un minore "rebound" protrombotico.

La somministrazione degli inibitori della GP IIb/IIIa, in associazione ad eparina e ASA, si è dimostrata efficace nel ridurre gli eventi ischemici sia nei pa-

zienti trattati con rivascolarizzazione percutanea, che in quelli trattati con terapia medica⁶⁵⁻⁶⁹.

Le linee guida ne raccomandano l'uso in associazione ad ASA più eparina standard o frazionata soprattutto nei pazienti ad alto rischio. In particolare, eptifibatide e tirofiban sono indicati nelle linee guida per la prevenzione di eventi ischemici nei pazienti con angina instabile/infarto senza sopraslivellamento ST, mentre l'uso di abciximab è limitato ai pazienti sottoposti ad intervento di rivascolarizzazione percutanea. La tabella VI⁶⁵⁻⁶⁹ presenta i risultati dei principali trial nei pazienti non sottoposti a strategia interventistica.

Somministrazione orale. Gli anticoagulanti orali non sono entrati nell'uso routinario nei pazienti con sindromi coronariche acute, anche se alcune evidenze sono riscontrabili, in particolare lo studio pilota dell'OASIS che ha mostrato, sebbene in un ristretto campione (n = 197) ed inevitabilmente in aperto, un potenziamento dell'azione dell'ASA, utilizzando un INR target di 2.0-2.5, con una riduzione degli eventi ischemici da 12.1 a 5.1%⁷⁰.

Ticlopidina, invece, pur avendo dimostrato un effetto paragonabile a quello di ASA nell'angina instabile, non ha avuto ampia diffusione a causa tanto dell'evidenza clinica del ritardo dell'effetto antitrombotico, rappresentato dal fatto che le curve di distribuzione degli eventi non divergono nei primi 15-20 giorni di trattamento, tanto dell'alta incidenza di gravi effetti collaterali (neutropenia nell'1% dei casi), che richiedono un attento monitoraggio ematologico^{71,72}.

Clopidogrel è stato valutato nello studio CURE (Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events), disegnato per stabilirne l'efficacia terapeutica in aggiunta alla terapia standard (comprendente ASA) nelle sindromi coronariche acute⁷³. Lo studio ha incluso complessivamente 12 562 pazienti che sono stati randomizzati a ricevere, in doppio cieco, clopidogrel o

Tabella VI. Outcome dei pazienti trattati con inibitori della glicoproteina IIb/IIIa senza rivascolarizzazione.

Morte/IMA a 30 giorni	Inibitore IIb/IIIa (%)	Rx standard (%)	RR
PARAGON A ⁶⁵ (lamifiban)*	10.6	11.7	0.99
PARAGON A ⁶⁵ (lamifiban)**	12.0	11.7	1.2
PARAGON B ⁶⁵ (lamifiban)	10.5	11.5	0.91
PRISM ⁶⁶ (tirofiban)	5.8	7.1	0.81 ^{§§§}
PRISM-PLUS ⁶⁷ (tirofiban) [§]	8.7	11.9	0.70 ^{§§§}
PRISM-PLUS ⁶⁷ (tirofiban) ^{§§}	13.6	11.7	1.19 ^{§§§}
PURSUIT ⁶⁸ (eptifibatide)	14.2	15.7	0.89
GUSTO-IV ⁶⁹ (abciximab)	8.7	8.0	1.08
Media	10.6	11.8	0.92

La maggior parte degli studi ha evidenziato una riduzione del rischio di eventi cardiovascolari con l'utilizzo degli inibitori della glicoproteina IIb/IIIa in associazione ad acido acetilsalicilico. La riduzione degli eventi a 30 giorni varia dal 9 al 30% raggiungendo tuttavia la significatività statistica solo in due studi, PRISM e PRISM-PLUS. Tuttavia nello studio PRISM-PLUS il braccio che ha paragonato tirofiban da solo vs eparina da sola ha evidenziato un significativo eccesso di mortalità a 7 giorni nel gruppo tirofiban. IMA = infarto miocardico acuto; RR = rischio relativo. * = bassa dose lamifiban; ** = alta dose lamifiban; § = tirofiban + eparina vs eparina; §§ = tirofiban vs eparina; §§§ = p < 0.005.

placebo. Lo schema di trattamento per il gruppo clopidogrel prevedeva una dose di carico di 300 mg all'entrata dello studio e quindi il proseguimento con 75 mg fino ad 1 anno di trattamento.

I pazienti venivano arruolati se la presentazione clinica era entro le 24 ore dall'inizio dei sintomi. Venivano esclusi pazienti con sopraslivellamento ST e arruolati quelli con sottoslivellamento ST di almeno 1 mm in due derivazioni contigue, inversione dell'onda T di almeno 2 mm in due derivazioni contigue, la presenza di appuntimento dell'onda T in fase acuta. Venivano altresì accettati come criteri di arruolamento l'innalzamento del livello degli enzimi cardiaci o di troponina I o T pari ad almeno 2 volte il limite superiore della normalità.

Gli endpoint primari valutati comprendevano il primo evento di una delle seguenti manifestazioni: morte cardiovascolare, infarto miocardico o ictus, oppure un raggruppamento più ampio comprendente oltre i tre sopra nominati anche l'ischemia refrattaria.

I risultati dello studio hanno dimostrato una riduzione di morte per cause cardiovascolari, infarto non fatale o ictus del 20% rispetto al placebo (Tab. VII). Anche l'aggiunta di un evento più "soft", rispetto ai precedenti, come l'ischemia refrattaria ha comunque permesso di osservare nel gruppo clopidogrel, rispetto al placebo, una riduzione complessiva del 14% (Tab. VIII).

Tutti i vari eventi considerati separatamente hanno dimostrato la tendenza nel gruppo trattato con clopi-

dogrel ad essere più bassi, in particolare per quel che riguarda la frequenza di infarto miocardico.

Il beneficio compare precocemente e perdura per tutta la durata dello studio, le curve infatti divergono già dal primo giorno e continuano a divergere sino a 12 mesi, termine del periodo di osservazione (Fig. 3).

La riduzione di eventi è stata significativa nei diversi sottogruppi di pazienti considerati (Tab. IX). Inoltre nel periodo intraospedaliero, l'evidenza radiologica di

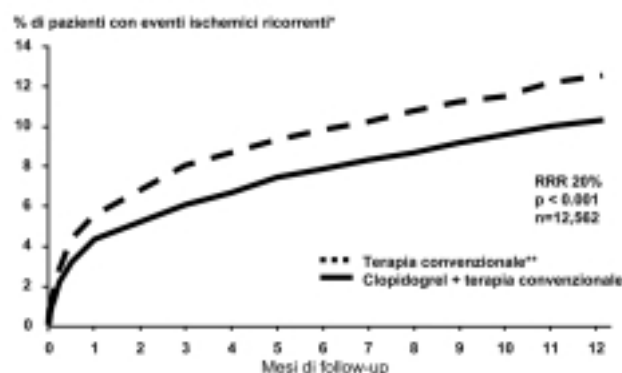


Figura 3. Le curve rappresentano il rischio cumulativo per il primo endpoint primario costituito da morte cardiovascolare, infarto miocardico ed ictus (*) nei due gruppi di trattamento. Il beneficio a favore del gruppo trattato con clopidogrel in aggiunta alla terapia standard comprendente acido acetilsalicilico (**) è rappresentato da una significativa riduzione del rischio relativo (RRR) del 20% ($p < 0.001$). Le curve si separano precocemente e continuano a divergere per tutto il periodo dello studio.

Tabella VII. Endpoint primario.

	Clopidogrel + terapia tradizionale* (n = 6259)	Terapia tradizionale* (n = 6303)	RR	IC 95%
Endpoint primario**	9.3%	11.4%	0.80	0.72-0.90***
Morte cardiovascolare	5.1%	5.5%		
Infarto miocardico	5.2%	6.7%		
Ictus	1.2%	1.4%		

L'aggiunta di clopidogrel alla terapia tradizionale, ha determinato una riduzione del 20% ($p < 0.001$) del rischio combinato di morte cardiovascolare, infarto miocardico, ictus, rispetto al trattamento con sola terapia tradizionale a 12 mesi di follow-up. La riduzione più significativa si è osservata per il rischio di infarto miocardico. IC = intervallo di confidenza; RR = rischio relativo. * = comprendente acido acetilsalicilico; ** = morte cardiovascolare, infarto miocardico, ischemia refrattaria; *** = $p < 0.001$.

Tabella VIII. Secondo endpoint primario.

	Clopidogrel + terapia tradizionale* (n = 6259)	Terapia tradizionale* (n = 6303)	RR	IC 95%
Secondo endpoint primario**	16.5%	18.8%	0.86	0.79-0.94***
Ischemia refrattaria	8.7%	9.3%		
In ospedale	1.4%	2.0%		
Dopo la dimissione dall'ospedale	7.6%	7.6%		

Anche per il secondo endpoint primario (primo endpoint primario + ischemia refrattaria) è stato riscontrato un beneficio nel gruppo clopidogrel in aggiunta alla terapia tradizionale (riduzione del 14%, $p < 0.001$). Abbreviazioni come in tabella VII. * = comprendente acido acetilsalicilico; ** = morte cardiovascolare, infarto miocardico, ischemia refrattaria; *** = $p < 0.001$.

Tabella IX. Risultati nei principali sottogruppi (primo endpoint primario).

Caratteristiche dei pazienti	% eventi		RR
	Terapia tradizionale*	Clopidogrel + terapia tradizionale*	
Totale	11.4	9.3	0.79
Deviazione ST +	14.3	11.5	0.79
Deviazione ST -	8.6	7.0	0.81
↑ livelli enzimatici all'ingresso +	13.0	10.7	0.81
↑ livelli enzimatici all'ingresso -	10.9	8.8	0.80
Diabete +	16.7	14.2	0.82
Diabete -	9.9	7.9	0.79
Rischio			
Basso	6.7	5.1	0.75
Intermedio	9.4	6.5	0.69
Alto	18.0	16.3	0.90
Rivascolarizzazione dopo randomizzazione +	13.9	11.5	0.82
Rivascolarizzazione dopo randomizzazione -	10.0	8.1	0.80
Anamnesi di rivascolarizzazione +	14.4	8.4	0.57
Anamnesi di rivascolarizzazione -	10.7	9.5	0.86

Il beneficio dell'aggiunta di clopidogrel alla terapia tradizionale è stato coerente in tutti i sottogruppi di pazienti considerati, indipendentemente dalla presenza di slivellamento ST, aumento degli enzimi, diabete, presentazione a rischio e rivascolarizzazione in fase acuta. Il vantaggio del trattamento con clopidogrel è stato ancora più evidente nei pazienti con pregressa rivascolarizzazione miocardica. Abbreviazioni come in tabella VII. * = comprendente acido acetilsalicilico.

scompenso cardiaco è stata significativamente ridotta, verosimilmente in conseguenza della riduzione dell'estensione ischemica nel gruppo clopidogrel.

L'incidenza di sanguinamenti maggiori è stata leggermente più elevata nel gruppo clopidogrel (3.7%) che nel gruppo placebo (2.7%). La differenza è stata totalmente da attribuire agli episodi che hanno richiesto trasfusioni di sangue, mentre non c'è stata differenza apprezzabile per gli episodi fatali, per le emorragie cerebrali, per gli episodi emorragici che hanno causato la caduta di emoglobina di oltre 5 g/dl, né per quelli che hanno richiesto un intervento chirurgico oppure l'impiego di farmaci inotropi o la trasfusione di oltre 4 unità di sangue.

La definizione di sanguinamento maggiore impiegata nello studio CURE è stata, come visto, particolarmente ampia. È di particolare interesse notare che, se fossero state applicate le definizioni di sanguinamento maggiore adottate per gli studi TIMI 11B e GUSTO-IV, non si sarebbe riscontrata alcuna differenza nel primo caso oppure, nel secondo, questa differenza non avrebbe raggiunto la significatività statistica (Tab. X)^{64,69,73}.

Clopidogrel ha dimostrato un beneficio significativo anche nei pazienti sottoposti a procedura di rivascolarizzazione percutanea come dimostrato dallo studio PCI-CURE. Lo studio, che ha incluso tutti i pazienti arruolati nello studio CURE che hanno avuto necessità di rivascolarizzazione coronarica, ha evidenziato nel periodo pre e postangioplastica una riduzione globale degli eventi ischemici (morte cardiovascolare ed infarto miocardico) del 31% nel gruppo clopidogrel, rispetto al gruppo di controllo. Il beneficio è stato ottenuto nonostante che per 2-4 settimane successive alla procedura fosse ammessa per entrambi i gruppi la sospensione del trattamento in studio e l'adozione della terapia con tienopiridina in associazione ad ASA in aperto⁷⁴.

In particolare è emerso che il pretrattamento di 6 giorni (mediana) con clopidogrel, iniziato con una dose di carico ed in aggiunta alla terapia standard comprendente ASA, è in grado di determinare a 30 giorni dalla procedura, una riduzione del 30% di eventi quali morte cardiovascolare, infarto miocardico e necessità urgente di nuova rivascolarizzazione.

Tabella X. CURE - Sicurezza complicitanze emorragiche maggiori.

Criteri	Clopidogrel + terapia tradizionale*	Terapia tradizionale*	RR (IC 95%)	p
CURE ⁷³	231	169	1.38 (1.13-1.67)	0.001
TIMI 11B ⁶⁴	68	73	0.94 (0.68-1.30)	0.70
GUSTO-IV ⁶⁹	78	70	1.12 (0.81-1.55)	0.48

La definizione di sanguinamento maggiore impiegata dall'organizzazione OASIS nello studio CURE è piuttosto ampia. Nel caso fossero stati usati i criteri più restrittivi degli studi TIMI o GUSTO le differenze tra i due gruppi non avrebbero raggiunto la significatività statistica⁷³. Abbreviazioni come in tabella VII. * = comprendente acido acetilsalicilico.

Implicazioni pratiche

La disponibilità di clopidogrel nella pratica clinica influenza notevolmente le scelte terapeutiche nelle sindromi coronariche acute senza sopraslivellamento ST sia per l'importanza patogenetica della trombosi piastrinica, continua, intermittente e ricorrente, sia per la sua dimostrata efficacia clinica; ciò richiede un rapido aggiornamento delle linee guida⁵⁹.

I vantaggi pratici della scelta di clopidogrel come farmaco da aggiungere alla terapia già prevista dalle linee guida internazionali sono indubbiamente molteplici:

- la praticità della sua somministrazione per via orale in monodose;
- l'inizio immediato dell'effetto (con dose di carico di 300 mg);
- l'entità della riduzione degli endpoint primari e secondari che è simile o superiore a quella ottenuta con dei farmaci somministrati per via parenterale (eparina, eparine a basso peso molecolare, bloccanti del recettore IIb/IIIa);
- la coerenza del beneficio in tutti i sottogruppi di pazienti che dimostra, inoltre, come il precoce impiego di clopidogrel non precluda nessuna scelta terapeutica successiva;
- l'accettabile incidenza di effetti collaterali in aggiunta ad ASA per i pazienti a rischio.

Infine questo farmaco rappresenta un sostituto ideale di ASA nei pazienti che presentano allergia o intolleranza gastrica o eventi ischemici in corso di terapia con ASA.

La possibile intercambiabilità di clopidogrel con ticlopidina è una domanda di indubbio interesse da un punto di vista delle conseguenze cliniche.

La questione dell'estrapolabilità dei risultati relativi ad un farmaco alla classe farmacologica di appartenenza è oggetto di continuo dibattito. Da un punto di vista strettamente metodologico, i risultati di uno studio clinico sono esclusivamente attribuibili al farmaco impiegato nello studio.

Nel caso di clopidogrel e ticlopidina ci sono due evidenti differenze fra i due farmaci:

1. solo clopidogrel permette di effettuare una dose di carico, alla quale va ragionevolmente ascritto il beneficio precoce osservato nello studio CURE;
2. il profilo di tollerabilità di clopidogrel è migliore rispetto a ticlopidina, soprattutto in relazione ad effetti collaterali gravi quali quelli sulla crasi ematica.

Tali considerazioni depongono in favore di un miglior rapporto rischio/beneficio di clopidogrel rispetto a ticlopidina, di particolare importanza in pazienti polimedicati.

In un prossimo futuro si svilupperanno sostanziali progressi della comprensione degli stimoli trombogenici. Questo permetterà lo sviluppo di nuovi obiettivi terapeutici, mirati a ridurre l'intensità, la durata e la ricorrenza degli stimoli trombogenici stessi. Quindi verrà eliminato il rischio di fenomeni emorragici da dosaggi eccessivi di farmaci antitrombotici.

Riassunto

Le sindromi coronariche acute senza sopraslivellamento ST si associano tipicamente ad un danno miocardico limitato, ma rappresentano una minaccia potenziale di infarto "classico" e di morte cardiaca a breve o medio termine. La trombosi coronarica, in particolare con la sua funzione piastrinica, è una componente patogenetica importante ed un bersaglio terapeutico efficace. Nella pratica clinica possiamo efficacemente modificare in senso antitrombotico l'equilibrio emostatico anche se ancora non conosciamo con precisione né gli stimoli trombogenici che operano nei singoli pazienti, né la loro intensità, né le alterazioni protrombotiche che potrebbero contribuire ad una crescita inappropriata del trombo. La modulazione dell'aggregabilità piastrinica rappresenta un bersaglio terapeutico particolarmente maneggevole e la disponibilità di clopidogrel, un nuovo farmaco antiaggregante con provata efficacia nella prevenzione degli eventi cardiovascolari, suggerisce l'opportunità di una revisione delle conoscenze fisiopatologiche e terapeutiche nei pazienti con sindromi coronariche acute.

A questo scopo è utile considerare una serie di punti fondamentali: 1) la composizione dei trombi coronarici nei pazienti con sindromi coronariche acute, 2) i meccanismi di formazione e di crescita del trombo, 3) i meccanismi di adesione ed aggregazione piastrinica, 4) le caratteristiche del clopidogrel, 5) l'efficacia delle varie strategie antitrombotiche, 6) le possibili implicazioni dell'aggiunta di clopidogrel all'armamentario terapeutico disponibile nella pratica clinica per la terapia e la prevenzione degli eventi cardiovascolari nelle sindromi coronariche acute senza sopraslivellamento ST.

Parole chiave: Angina instabile; Antiaggreganti piastrinici.

Bibliografia

1. Maseri A. Ischemic heart disease. A rational basis for clinical practice and clinical research. New York, NY: Churchill Livingstone, 1995.
2. Davies MJ. Macroscopic or microscopic view of coronary thrombi. *Circulation* 1990; 82: 1138-2.
3. Arbustini E, Grasso M, Diegoli M, et al. Coronary atherosclerotic plaques with and without thrombus in ischemic heart syndromes: a morphologic immunohistochemical and biochemical study. *Am J Cardiol* 1991; 68: 36B-50B.
4. Arbustini E, Grasso M, Diegoli M, et al. Coronary thrombosis in non cardiac death. *Coron Artery Dis* 1993; 4: 751-9.
5. Kragel AH, Gertz SD, Roberts WC. Morphologic comparison of frequency and types of acute lesions in the major coronary epicardial arteries in unstable angina pectoris, sudden coronary death and acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 1991; 18: 801-8.
6. Falk E. Unstable angina with fatal outcomes: dynamic coronary thrombosis leading to infarction and/or sudden cardiac death. Autopsy evidence of recurrent mural thrombosis with peripheral embolization culminating in total vascular occlusion. *Circulation* 1985; 71: 699-708.

7. Falk E. Plaque rupture with severe preexisting stenosis precipitating coronary thrombosis. Characteristics of coronary atherosclerotic plaques underlying fatal occlusive thrombi. *Br Heart J* 1983; 50: 127-34.
8. Stern DM, Kaiser E, Nawroth P. Regulation of the coagulation system by vascular endothelial cells. *Haemostasis* 1988; 18: 202-14.
9. Pober J, Cotran R. The role of endothelial cells in inflammation. *Transplantation* 1990; 50: 537-44.
10. Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJH, et al. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol* 1993; 171: 223-9.
11. Moreno PR, Bernardi VH, Fuster V, Fallon JT. Macrophage, smooth muscle cells and tissue factor in unstable angina: implications for cell-mediated thrombogenicity in acute coronary syndromes. *Circulation* 1996; 94: 3090-7.
12. Vanhoutte PM, Shimokawa M. Endothelium-derived relaxing factor and coronary vasospasm. *Circulation* 1989; 80: 1-9.
13. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332: 411-5.
14. Bogaty P, Hackett D, Davies G, Maseri A. Vasoreactivity of the culprit lesion in unstable angina. *Circulation* 1994; 90: 5-11.
15. Shah PK, Falk E, Badimon JJ, et al. Human monocyte-derived macrophages induce collagen breakdown in fibrous caps of atherosclerotic plaques: potential role of matrix-degrading metalloproteinases and implications for plaque rupture. *Circulation* 1995; 92: 1565-9.
16. Bevilacqua MP, Gimbrone MA. Inducible endothelial functions in inflammation and coagulation. *Semin Thromb Hemost* 1987; 13: 425-33.
17. Goldsmith HL, Turitto VT. Rheological aspects of thrombosis and haemostasis: basic principles and applications. ICTH-Report - Subcommittee on Rheology of the International Committee on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost* 1986; 55: 415-35.
18. Collier BS. Platelets in cardiovascular thrombosis and thrombolysis. In: Fozzard HA, Haber E, Jennings RB, Katz AM, Morgan HE, eds. *The heart and cardiovascular system*. New York, NY: Raven Press, 1993: 219-75.
19. Fozzard HA, Haber E, Jennings RB, Katz AM, Morgan HE. *The heart and cardiovascular system: scientific foundations*. Vol 1. New York, NY: Raven Press, 1991: 223.
20. Gimbrone MA, Kune N, Cibulsky M. Vascular endothelial dysfunction and the pathogenesis of atherosclerosis. In: Weber P, Leaf A, eds. *Atherosclerosis reviews*. Vol 25. New York, NY: Raven Press, 1993: 1-9.
21. Verstraete M, Fuster V, Topol EJ. *Cardiovascular thrombosis*. New York, NY: Lippincott-Raven, 1998.
22. Hollopeter G, Jantzen HM, Vincent D, et al. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. *Nature* 2001; 409: 202-7.
23. Weitz JL, Hirsh J. New antithrombotic agents. *Chest* 1998; 114 (Suppl): 715S-727S.
24. Wilson JM, Ferguson JJ III. Platelet-endothelial interactions in atherothrombotic disease: therapeutic implications. *Clin Cardiol* 1999; 22: 687-98.
25. Savi P, Herbert JM. ADP receptors on platelets and ADP-selective antiaggregating agents. *Med Res Rev* 1996; 16: 159-79.
26. Jin J, Daniel JL, Kunapuli SP. Molecular basis for ADP-induced platelet activation: II. The P2Y₁ receptor mediates ADP-induced intracellular calcium mobilization and shape change in platelets. *J Biol Chem* 1998; 273: 2030-4.
27. Tchong JE, Ellis SG, George BS, et al. Pharmacodynamics of chimeric glycoprotein IIb/IIIa integrin antiplatelet antibody Fab 7E3 in high-risk coronary angioplasty. *Circulation* 1994; 90: 1757-64.
28. Geiger J, Brich J, Honig-Leidl P, et al. Specific impairment of human platelet P2Y₁ ADP receptor-mediated signaling by the antiplatelet drug clopidogrel. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2007-11.
29. Herbert JM, Savi P, Maffrand JR. Biochemical and pharmacological properties of clopidogrel: a new ADP receptor antagonist. *Eur Heart J* 1999; 20 (Suppl): A31-A40.
30. Sharis PJ, Cannon CP, Loscalzo J. The antiplatelet effects of ticlopidine and clopidogrel. *Ann Intern Med* 1998; 129: 394-405.
31. Schror K. The basic pharmacology of ticlopidine and clopidogrel. *Platelets* 1993; 4: 242-61.
32. Quinn MJ, Fitzgerald DJ. Ticlopidine and clopidogrel. *Circulation* 1999; 100: 1667-72.
33. Patrono C, Collier B, Dalen JE, et al. Platelet-active drugs: the relationship among dose, effectiveness, and side effects. *Chest* 1998; 114 (Suppl): 470S-488S.
34. CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). *Lancet* 1996; 348: 1329-39.
35. Herbert JM. Clopidogrel and antiplatelet therapy. *Expert Opinion in Investigational Drug* 1994; 3: 449-55.
36. Herbert JM, Savi R. Non-specific inhibition of ADP-induced platelet antiaggregation by clopidogrel in vitro. (letter) *Thromb Haemost* 1999; 82: 156-7.
37. Savi P, Pereillo JM, Uzabiaga MF, et al. Identification and biological activity of the active metabolite of clopidogrel. *Thromb Haemost* 2000; 84: 891-6.
38. Savi P, Labouret C, Delesque N, Guette F, Lupker J, Herbert JM. P2Y₁₂, a new platelet ADP receptor, target of clopidogrel. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 283: 379-83.
39. Savi P, Heilmann E, Nurden P, et al. Clopidogrel: an antithrombotic drug acting on the ADP-dependent activation pathway of human platelets. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 1996; 2: 35-42.
40. Klinkhardt U, Kirkmaier CM, Westrup D, et al. Ex vivo-in vitro interaction between aspirin, clopidogrel, and the glycoprotein IIb/IIIa inhibitors abciximab and SR121566A. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 67: 305-13.
41. Gachet C, Stierle A, Cazenave JP, et al. The thienopyridine PCR 4099 selectively inhibits ADP-induced platelet aggregation and fibrinogen binding without modifying the membrane glycoprotein IIb-IIIa complex in rat and in man. *Biochem Pharmacol* 1990; 40: 229-38.
42. Mills DCB, Puri R, Hu CJ, et al. Clopidogrel inhibits the binding of ADP analogues to the receptor mediating inhibition of platelet adenylate cyclase. *Arterioscler Thromb* 1992; 12: 430-6.
43. Savi P, Beauverger P, Labouret C, et al. Role of P2Y₁ purinoceptor in ADP-induced platelet activation. *FEBS Lett* 1998; 422: 291-5.
44. Denninger MH, Necciari J, Serre-Lacroix E, et al. Clopidogrel antiplatelet activity is independent of age and presence of atherosclerosis. *Semin Thromb Hemost* 1999; 25 (Suppl 2): 41-5.
45. Thebault JJ, Kieffer G, Cariou R. Single-dose pharmacodynamics of clopidogrel. *Semin Thromb Hemost* 1999; 25 (Suppl 2): 3-8.
46. Savic M, Hauert J, Bachmann F, et al. Clopidogrel loading dose regimens: kinetic profile of pharmacodynamic response in healthy subjects. *Semin Thromb Hemost* 1999; 25 (Suppl 2): 15-9.
47. Gawaz M. Comparison of effect of clopidogrel versus ticlopidine on platelet function in patients undergoing coronary stent placement. *Am J Cardiol* 2001; 87: 332-6.

48. Cadroy Y, Bossavy JP, Thalamos C, et al. Early potent anti-thrombotic effect with combined aspirin and a loading dose of clopidogrel on experimental arterial thrombogenesis in humans. *Circulation* 2000; 101: 2823-8.
49. Savi P, Herbert JM, Pflieger AM, et al. Importance of hepatic metabolism in the antiaggregating activity of the thienopyridine clopidogrel. *Biochem Pharmacol* 1992; 44: 527-32.
50. Savi P, Combalbert J, Caich C, et al. The antiaggregating activity of clopidogrel is due to a metabolic activation by the hepatic cytochrome P450-1A. *Thromb Haemost* 1994; 72: 313-7.
51. Sanofi-Synthelabo Inc. Plavix prescribing information. New York, NY: Sanofi-Synthelabo Inc, 2000.
52. Guillin MC, Bonnet G, Sissmann J, et al. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the novel anti-platelet agent, clopidogrel, in the young and the elderly with and without symptomatic atherosclerosis. (abstr) *Eur Heart J* 1996; 17 (Suppl): 161.
53. Deray G, Bagnis C, Brouard R, et al. Clopidogrel activities in patients with renal function impairment. *Clin Drug Invest* 1998; 16: 319-28.
54. Slugg PH, Much DR, Smith WB, et al. Cirrhosis does not affect the pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel. *J Clin Pharmacol* 2000; 40: 396-401.
55. Lewis HD, Davis JW, Archibald DG, et al. Protective effect of aspirin against acute myocardial infarction and death in men with unstable angina. *N Engl J Med* 1983; 309: 396-403.
56. The RISC Group. Risk of myocardial infarction and death during treatment with low dose aspirin and intravenous heparin in men with unstable coronary artery disease. *Lancet* 1990; 336: 827-30.
57. Theroux P, Waters D, Quiu S, et al. Aspirin versus heparin to prevent myocardial infarction during the acute phase of unstable angina. *Circulation* 1993; 86: 2045-8.
58. 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; ii: 349-60.
59. Hamm CW, Bertrand M, Braunwald E. Acute coronary syndrome without ST elevation: implementation of new guidelines. *Lancet* 2001; 358: 1533-8.
60. Klein W, Buchwald A, Hillis SE, et al. Comparison of low-molecular-weight heparin with unfractionated heparin acutely and with placebo for 6 weeks in the management of unstable coronary artery disease. Fragmin in unstable coronary artery disease study (FRIC). *Circulation* 1997; 96: 61-8.
61. Fragmin during Instability in Coronary Artery Disease (FRISC) Study Group. Low-molecular-weight heparin during instability in coronary artery disease. *Lancet* 1996; 347: 561-8.
62. The FRAX.I.S. Study Group. Comparison of two treatment durations (6 days and 14 days) of a low molecular weight heparin with a 6-day treatment of unfractionated heparin in the initial management of unstable angina or non-Q wave myocardial infarction: FRAX.I.S. (FRAXiparine in Ischaemic Syndrome). *Eur Heart J* 1999; 20: 1553-62.
63. Cohen M, Demers C, Gurfinkel EP, et al. A comparison of low molecular weight heparin with unfractionated heparin for unstable coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 447-52.
64. Antman EM, McCabe CH, Gurfinkel EP, et al. Enoxaparin prevents death and cardiac ischemic events in unstable angina/non-Q-wave myocardial infarction. Results of the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 11B trial. *Circulation* 1999; 100: 1593-601.
65. International, randomized, controlled trial of lamifiban (a platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitor), heparin or both in unstable angina. The PARAGON Investigators. Platelet IIb/IIIa Antagonism for the Reduction of Acute coronary syndrome events in a Global Organization Network. *Circulation* 1998; 97: 2386-95.
66. A comparison of aspirin plus tirofiban with aspirin plus heparin for unstable angina. Platelet Receptor Inhibition in Ischemic Syndrome Management (PRISM) Study Investigators. *N Engl J Med* 1998; 378: 1498-505.
67. Inhibition of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor with tirofiban in unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction. Platelet Receptor Inhibition in Ischemic Syndrome Management in Patients Limited by Unstable Signs and Symptoms (PRISM-PLUS) Study Investigators. *N Engl J Med* 1998; 338: 1488-97.
68. Inhibition of platelet glycoprotein IIb/IIIa with eptifibatid in patients with acute coronary syndromes. The PURSUIT Trial Investigators. Platelet Glycoprotein IIb/IIIa in Unstable Angina: Receptor Suppression Using Integrilin Therapy. *N Engl J Med* 1998; 339: 436-43.
69. The GUSTO-IV Investigators. Global Utilization of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries IV: unstable angina. *Circulation* 2000; 101: 2788-99.
70. Anand SS, Yusuf S, Pogue J, Weitz JI, Flather M. Long-term anticoagulant therapy in patients with unstable angina or suspected non-Q-wave myocardial infarction: organization to assess strategies for ischemic syndromes (OASIS) pilot study results. *Circulation* 1998; 98: 1064-70.
71. Balsano F, Rizzon P, Violi F, et al. Antiplatelet treatment with ticlopidine in unstable angina: a controlled multicenter clinical trial. *Circulation* 1990; 82: 17-26.
72. Bennett CL, Weinberg PD, Rozenberg-Ben-Dror K, Yarnold PR, Kwaan HC, Green D. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with ticlopidine: a review of 60 cases. *Ann Intern Med* 1998; 128: 541-4.
73. Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, et al, for the Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events Trial Investigators. 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.
74. Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, et al. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary interventions: the PCI-CURE study. *Lancet* 2001; 358: 527-33.