

Université de Montréal

**Évaluation de l'effet de doses supérieures de ticlopidine  
chez des patients avec syndrome coronarien aigu**

par

Patrick Bélanger

Faculté de Pharmacie

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures  
en vue de l'obtention du grade de  
Maître ès sciences (M.Sc.)  
en sciences pharmaceutiques

**Octobre, 2001**

©Patrick Bélanger, 2001



QV  
705  
U58  
2002  
V.005

**Page d'identification du jury**

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :  
**Évaluation de l'effet de doses supérieures de ticlopidine  
chez des patients avec syndrome coronarien aigu**

présenté par :

Patrick Bélanger

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

France Varin : président-rapporteur  
Chantal Pharand : directeur de recherche  
Donald Palisaitis : codirecteur  
Marie-France Beauchesne : membre du jury

Mémoire accepté le :

## Résumé

**Sujet et but de l'étude.** Le but de cette étude était de vérifier si une dose supérieure de ticlopidine combinée à l'aspirine accélérerait l'inhibition plaquettaire chez des patients traités pour syndrome coronarien aigu et potentiellement candidats pour une intervention coronarienne percutanée.

**Méthode utilisée.** Dix-sept patients admis à l'urgence de l'Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal avec un syndrome coronarien aigu entre avril 1998 et mai 1999 et candidats pour une intervention coronarienne percutanée ont été randomisés en deux groupes, soit ticlopidine 500 mg ou 1000 mg par jour administrée en 2 prises pendant 5 jours. Tous les patients recevaient également de l'aspirine à raison de 325 mg par jour. L'agrégation plaquettaire était mesurée avec de l'ADP 20  $\mu$ M avant la première dose de ticlopidine et pour 5 jours par la suite. L'activation plaquettaire était mesurée à l'aide d'anticorps monoclonaux dirigés contre un site de liaison du fibrinogène sur le récepteur GPIIb/IIIa des plaquettes activées. L'activation plaquettaire était mesurée avant la première dose de ticlopidine et pendant 5 jours consécutifs par la suite.

**Résultats.** Après seulement 2 jours de traitement, les patients traités avec la dose supérieure de ticlopidine ont obtenu une réduction statistiquement significative de l'activation et de l'agrégation plaquettaire comparativement au groupe traité avec ticlopidine 500 mg. L'agrégation plaquettaire moyenne était environ 16,9 % inférieure chez les patients traités avec 1000 mg aux jours 2, 3, 4, et 5 lorsque comparée avec les résultats des patients du groupe témoin. L'activation plaquettaire moyenne était environ 18 % inférieure chez les patients traités avec ticlopidine 1000 mg pour chaque jour de traitement. Un patient du groupe ticlopidine 500 mg fut retiré de l'étude pour élévation anormale des enzymes hépatiques. Un patient du groupe ticlopidine 1000 mg a souffert d'une hémorragie gastro-intestinale sévère quelques jours après la fin de l'étude.

**Conclusion.** Une inhibition de l'activation et de l'agrégation plaquettaire plus puissante et plus rapide a été observée chez les patients traités avec 1000 mg par jour de ticlopidine combinée à l'aspirine. Ceci pourrait contribuer à diminuer l'incidence de complications suite à l'implantation d'une endoprothèse coronarienne.

Mots-clés : angioplastie, plaquettes, endoprothèse, ticlopidine, aspirine

**Abstract:**

**Background.** We investigated whether higher doses of ticlopidine combined with aspirin would allow a faster inhibition of platelet activation and aggregation in patients with acute coronary syndrome (ACS) potentially undergoing percutaneous coronary intervention (PCI) with stent placement.

**Methods and Results.** Seventeen patients who presented for ACS and were candidates for possible PCI were randomized to ticlopidine 250 mg bid (simple dose treatment: SDT) or 500 mg bid (double dose treatment: DDT) for 5 days. Platelet aggregation and activation were assessed at baseline before the first dose and daily for 5 days.

After 2 days of treatment, DDT produced a significant reduction in platelet activation and aggregation compared with SDT. Mean platelet activation was reduced by 16% with DDT from day 3 to 5 ( $p < 0.05$ ), reaching 43% vs. 58% on day 6 ( $p = 0.05$ ). Mean platelet aggregation was approximately 17% lower in patients treated with DDT on days 3 through 6 when compared to those on SDT ( $p < 0.05$ ; Fig.). One SDT patient was withdrawn from the study for an adverse event (elevation of liver enzymes).

**Conclusions.** A faster and stronger inhibition of platelet activation and aggregation is obtained when 1000 mg of ticlopidine a day is administered in combination with aspirin in patients with ACS. This may contribute to a decrease in the incidence in subacute stent thrombosis.

**Keywords:** angioplasty, platelets, stents, ticlopidine, aspirin

## Table des matières

1.0 INTRODUCTION.....	1
2.0 RAPPEL SUR LA PATHOPHYSIOLOGIE DES MALADIES CORONARIENNES.....	3
2.1 DÉFINITIONS.....	3
2.2 ÉPIDÉMIOLOGIE.....	4
2.3 ANATOMIE CORONAIRE.....	6
2.4 PATHOPHYSIOLOGIE.....	6
3.0 L'ENDOPROTHÈSE CORONAIRE.....	7
3.1 HISTORIQUE.....	7
3.2 INDICATIONS.....	9
3.2.1 <u>Prévention primaire de la resténose</u> .....	9
3.2.2 <u>Prévention secondaire de la resténose</u> .....	10
3.2.3 <u>Occlusion abrupte du vaisseau durant l'angioplastie</u> .....	10
3.2.4 <u>Greffons de veine saphène</u> .....	11
4.0 PRINCIPES PHYSIOLOGIQUES IMPORTANTS.....	11
4.1 ADHÉSION ET AGRÉGATION PLAQUETTAIRE.....	12
4.2 AGRÉGOMÉTRIE.....	14
4.3 MESURE DE L'ACTIVATION PLAQUETTAIRE.....	16
5.0 PHARMACOLOGIE ET USAGE THÉRAPEUTIQUE DE LA TICLOPIDINE.....	17
5.1 SURVOL DES PROPRIÉTÉS PHARMACOLOGIQUES DE LA TICLOPIDINE.....	17
5.2 UTILISATION THÉRAPEUTIQUE DE LA TICLOPIDINE.....	19
5.2.1 <u>Ischémies cérébrales transitoires et accidents cérébro-vasculaires (ACV)</u> .....	19
5.2.2 <u>Maladies artérielles périphériques</u> .....	20
5.2.3 <u>Maladies cardiaques ischémiques</u> .....	21
6.0 ARTICLE.....	25
METHODS.....	28
RESULTS.....	30
7.0 DISCUSSION.....	42
8.0 CONCLUSION.....	45
BIBLIOGRAPHIE.....	47
ANNEXE 1.....	50
ANNEXE 2.....	60

**Liste des tableaux**

Tableau 1 : Glycoprotéines plaquettaires de surface et leurs fonctions..... 14

**Article :**

Table 1 : Baseline characteristics.....41

**Liste des figures**

Figure 1. Angioplastie .....	4
Figure 2. Vaisseaux coronaires .....	6
Figure 3. Activation plaquettaire moyenne en absence d'agoniste .....	44

**Article :**

Figure 1. Mean platelet aggregation before and during treatment .....	38
Figure 2. Mean platelet activation (ADP+) before and during treatment .....	39
Figure 3. Confidence intervals for the difference from baseline at each day of treatment .....	40

## Liste des sigles et abréviations

- AAS : acide acétylsalicylique
- ACCP : American College of Chest Physicians
- ACV : accident cérébro-vasculaire
- ADP : adénosine diphosphate
- AST : aspartate aminotransférase
- ALT : alanine aminotransférase
- BID : deux fois par jour
- GPIIb/IIIa : glycoprotéine IIb/IIIa
- IVA : artère interventriculaire antérieure
- IVUS : “intravascular ultrasound” (ultrason intravasculaire)
- NYHA : New York Heart Association
- OAG : oleoyacetyl glycerol
- PAC-1 : anticorps monoclonaux dirigés contre un site de liaison sur le récepteur GPIIb/IIIb à l'état actif
- PAF : “platelet activating factor”
- PECAM : “platelet-endothelial cell adhesion molecule”
- TPA : tetradecanoyl-phorbol acetate
- TRAP : thrombin receptor agonist peptide

## 1.0 Introduction

Depuis plus d'un siècle, les plaquettes sanguines sont reconnues comme étant une composante majeure de l'hémostase, fournissant une première ligne de défense lors de traumatismes vasculaires. Plus récemment, leur rôle pivot dans la régulation des interactions entre les protéines de la coagulation, du processus fibrinolytique et de la fonction endothéliale vasculaire a été étudié. Normalement, les plaquettes circulent librement dans un état non-activé. Suite à une blessure de l'endothélium vasculaire, les plaquettes adhèrent à la paroi vasculaire, s'activent, puis s'agrègent et stimulent la formation d'un caillot local débutant la guérison de l'artère. Dans certaines maladies comme la maladie cardiaque ischémique, des plaquettes activées peuvent être présentes dans la circulation sanguine. De plus, l'athérosclérose augmente les interactions vaisseaux-plaquettes, augmentant ainsi les risques de thrombose.

L'angioplastie transluminale percutanée coronarienne est une méthode non-chirurgicale permettant de dilater mécaniquement l'obstruction d'une artère coronaire. Un cathéter-ballon est inséré jusqu'à l'artère affectée au site de l'obstruction puis gonflé. Les insufflations du ballon sont répétées jusqu'à ce que la plaque d'athérome soit comprimée et que le flot coronaire revienne à la normale. L'angioplastie s'est avérée être une alternative viable dans le traitement des obstructions simples ou multiples des vaisseaux coronaires.<sup>1</sup> L'expérience clinique en angioplastie chez les patients atteints d'une maladie "multi-vaisseaux" suggère que cette approche est sécuritaire et efficace, et qu'elle soulage des symptômes d'angine pour une longue période.<sup>2</sup> Les complications suite à une angioplastie coronarienne surviennent chez environ 3 % des cas et incluent l'infarctus du myocarde, la nécessité d'une chirurgie de pontage aorto-coronarien d'urgence et la mort. Selon certaines études, des procédures de revascularisation répétées comme l'angioplastie ou le pontage, peuvent être nécessaires chez 46 % des patients ayant subi une première angioplastie en raison de la resténose tardive du vaisseau.<sup>2</sup>

Malgré l'amélioration constante des techniques et du matériel utilisé ainsi qu'une meilleure compréhension du processus pathologique sous-jacent, l'incidence de complications n'a pas diminué considérablement. L'utilisation d'agents pharmacologiques comme les inhibiteurs directs de la thrombine et les inhibiteurs des récepteurs GP IIb/IIIa peuvent diminuer l'incidence d'occlusion abrupte chez certains patients.<sup>3,4</sup> Cependant, l'incidence de saignements est plus élevée avec certains de ces nouveaux médicaments et l'optimisation des dosages fait actuellement l'objet de plusieurs recherches.

L'installation d'endoprothèses coronaires ou "stents" s'est imposée comme étant une modalité de traitement très efficace pour prévenir l'occlusion abrupte de l'artère<sup>5</sup> et pour réduire la resténose.<sup>6,7</sup> Une endoprothèse coronaire est un cylindre de filet métallique de longueur variée se déployant dans l'artère coronaire à l'aide d'un ballonnet que l'on gonfle à haute pression (> 12 atm). Plusieurs endoprothèses de différentes configurations sont disponibles et plusieurs autres sont actuellement à l'étude. Deux études, BENESTENT<sup>6</sup> et STRESS<sup>7</sup>, visant à étudier les bénéfices de l'endoprothèse coronaire, ont démontré une diminution de 30 % des complications cardiaques telles la mort, l'infarctus du myocarde, l'angioplastie répétitive et le pontage aorto-coronarien chez des patients souffrant d'angine instable ou de maladie coronarienne symptomatique. Ces deux études ont été parmi les premières à démontrer des résultats favorables lors de l'utilisation d'endoprothèses coronariennes.

Cependant, toute endoprothèse a un potentiel thrombogénique pouvant résulter en une thrombose plusieurs jours après son implantation. Une thrombose subaiguë de la prothèse (survenant de 3 à 5 jours après l'intervention) survient dans 3 à 21 % des cas suivant l'implantation de celle-ci.<sup>6,7</sup> Ainsi, des régimes anticoagulants et antiplaquettaires doivent être administrés aux patients pour diminuer ce risque. L'héparine et la warfarine ont été utilisées mais augmenteraient les risques de saignements et allongeraient le séjour à l'hôpital en raison du délai pour l'obtention d'une anticoagulation adéquate. Des données récentes suggèrent qu'un régime antiplaquettaire serait supérieur à l'anticoagulation systémique.<sup>8</sup>

La ticlopidine en combinaison avec l'aspirine est utilisée comme thérapie antiplaquettaire lors de la pose d'une endoprothèse coronaire pour diminuer l'agrégation plaquettaire pouvant résulter de la manipulation de l'artère et du pouvoir thrombotique de l'endoprothèse elle-même. La présente étude vise à comparer le dosage régulier de la ticlopidine (250 mg deux fois par jour) à une dose de 500 mg deux fois par jour administrée pendant 5 jours. Khurana et al.<sup>9</sup> ont démontré chez 5 volontaires sains qu'une dose de charge de 1000 mg par jour était supérieure à une dose de 500 mg par jour pour diminuer l'agrégation plaquettaire. Nos travaux visent à étudier l'effet d'une dose de charge de ticlopidine sur l'activation et l'agrégation plaquettaire d'une population de patients coronariens.

## **2.0 Rappel sur la pathophysiologie des maladies coronariennes**

### **2.1 Définitions**

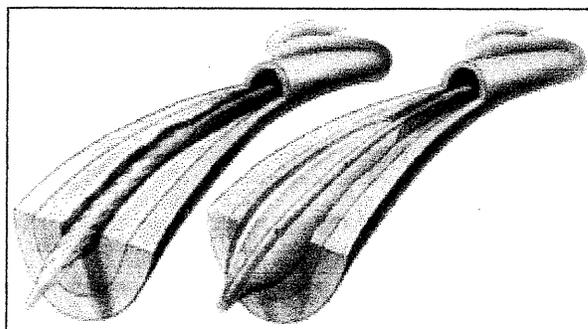
Les complications de l'ischémie myocardique incluent l'angine, l'infarctus du myocarde, l'arythmie, l'insuffisance cardiaque et la mort cardiaque subite. L'angine est un symptôme de l'ischémie myocardique habituellement secondaire à l'athérosclérose présente dans les artères coronaires. L'angine procure habituellement une douleur et un inconfort intenses à la poitrine mais sa présentation peut varier considérablement.<sup>10</sup>

Les patients présentant une angine reproductible associée avec un certain niveau d'activité physique ont une angine chronique stable ou angine d'effort.<sup>11</sup> Au contraire, les patients présentant de l'angine instable vont expérimenter des symptômes nouveaux d'angine, de l'angine de repos ou un changement dans la fréquence, l'intensité ou la durée de l'angine. Ces deux types d'angine sont observés en présence d'athérosclérose des artères coronaires. L'angine de Prinzmetal ou angine vasospastique est causée par un spasme de l'artère coronaire qui diminue le flot sanguin coronaire.<sup>12</sup> Elle peut survenir chez des patients avec ou sans

athérosclérose coronarienne. Lorsqu'un vasospasme survient au site d'une plaque d'athérome, une angine mixte peut apparaître.<sup>11</sup>

L'infarctus du myocarde est une manifestation de la maladie ischémique cardiaque caractérisée par la mort cellulaire ou la nécrose suivant une ischémie sévère ou prolongée. L'infarctus du myocarde est une urgence médicale nécessitant une intervention immédiate. Jusque dans les années 80, l'infarctus était traité de manière symptomatique seulement. La douleur du patient était soulagée, les complications de nature arythmique traitées et la consommation du cœur en oxygène était réduite par le repos au lit et la prise de  $\beta$ -bloquants et de nitrates. En 1980, une étude angiographique réalisée par DeWood et al. démontra une occlusion totale d'une artère coronaire chez 87 % des patients examinés par angiographie dans les 4 premières heures après l'apparition des symptômes.<sup>13</sup> Cette étude a entraîné un engouement dans l'utilisation des thrombolytiques pour interrompre la progression de la nécrose du myocarde. L'utilisation de thrombolytiques est maintenant le traitement de première ligne si aucune contre-indication n'est présente. Une angioplastie transluminale percutanée coronarienne peut également être réalisée au lieu d'utiliser la thrombolyse pour permettre de dilater l'artère occlue et augmenter ainsi la perfusion du myocarde. La figure 1 illustre une lésion athérosclérotique sur laquelle un cathéter-ballon est déployé pour augmenter la lumière artérielle.

**Figure 1: Angioplastie**



## 2.2 Épidémiologie

Les maladies coronariennes sont la cause majeure de mortalité, de morbidité, d'invalidité et de perte socio-économique aux États-Unis, et l'angine est le premier signe clinique de cette maladie chez un tiers des hommes et deux tiers des femmes.<sup>14</sup> L'incidence d'angine est difficile à établir car elle est souvent mal identifiée par les patients et les médecins. Une étude européenne

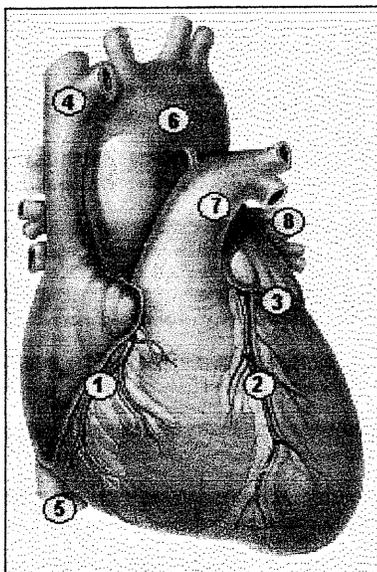
sur des travailleurs d'usine âgés de 40 à 59 ans a démontré un taux d'angine chronique stable de 4 %.<sup>15</sup>

La mortalité totale due aux syndromes angineux est de l'ordre de 4 %.<sup>15</sup> Cependant, le taux de mortalité varie selon l'âge du patient, son sexe, ses facteurs de risque, sa fonction ventriculaire, l'anatomie coronarienne et la présentation de l'angine du patient. La mortalité augmente avec l'augmentation du nombre de vaisseaux présentant des lésions athérosclérotiques graves. Les patients ayant une atteinte de l'artère coronaire gauche ont une mortalité plus élevée comparativement aux patients sans atteinte de l'artère coronaire gauche.

Approximativement 1,5 millions d'Américains subissent un infarctus du myocarde annuellement. Environ 60 % de la mortalité attribuable à l'infarctus aigu se produit à l'intérieur de 1 heure du début des symptômes en raison des fibrillations ventriculaires.<sup>16</sup> Un diagnostic et un traitement rapides de l'infarctus aigu du myocarde ont fait chuter dramatiquement la mortalité associée à celui-ci au cours des deux dernières décennies. On estime que la mortalité reliée à l'événement aigu est de 30 %, et que la moitié de ces décès surviennent avant que le patient n'atteigne l'hôpital. De plus, 5 à 10 % des patients survivant l'épisode aigu décéderont dans l'année suivant leur infarctus.

## 2.3 Anatomie coronaire

**Figure 2 : Vaisseaux coronaires**



La figure 2 illustre la distribution normale des vaisseaux coronaires majeurs quoiqu'une variation importante entre les individus puisse survenir.<sup>17</sup> La partie antérieure et latérale du ventricule gauche reçoit son apport sanguin de l'artère coronaire gauche, normalement la plus grosse et la plus courte des artères coronaires. L'artère coronaire gauche se divise ensuite en deux branches principales, l'artère interventriculaire antérieure (IVA, #2 sur la figure 2) et l'artère circonflexe (#3). L'IVA et la circonflexe se subdivisent ensuite en plusieurs branches. L'artère coronaire droite (#1) procure l'apport sanguin au ventricule droit et aux parties postérieures et inférieures du ventricule gauche. Comme l'IVA, la coronaire droite se subdivise en plusieurs branches apportant le sang oxygéné à des

régions spécifiques du muscle cardiaque. Les patients présentant de graves lésions athérosclérotiques de l'artère coronaire gauche sont à plus haut risque étant donné que l'obstruction de ce vaisseau met en péril une grande partie du ventricule gauche. De plus, les patients avec une maladie des 3 vaisseaux sont plus à risque que ceux présentant un seul vaisseau atteint. En raison de la grande variation interindividuelle dans l'anatomie coronarienne et du besoin de vérifier la nature des lésions athérosclérotiques, la plupart des patients souffrant d'angine seront invités à subir une angiographie coronaire.<sup>18</sup>

## 2.4 Pathophysiologie

Le myocarde doit constamment générer une force de contraction, et contrairement à d'autres muscles, celui-ci a toujours besoin d'oxygène. Sans oxygène, les cellules myocardiques vont

cesser de produire de l'énergie. S'il y a ischémie prolongée, les cellules myocardiques vont mourir et le cœur perdra sa capacité de pomper adéquatement le sang. Les plaques athérosclérotiques bloquant le flot sanguin et ainsi l'apport en oxygène peuvent se présenter comme des lésions isolées ou sur des zones étendues des vaisseaux coronaires.<sup>19</sup> Si la plaque d'athérome bloque moins de 50 % du diamètre de l'artère, le flot sanguin durant un exercice sera suffisant et le patient ne subira aucune douleur angineuse. Chez les patients souffrant d'angine chronique stable, la majorité des sténoses coronaires sont supérieure ou égale à 70 % du diamètre artériel mais une obstruction de plus de 50 % peut tout de même causer une ischémie myocardique.<sup>20</sup> Au repos, aucune diminution de l'apport sanguin coronaire ne se fait sentir initialement avec l'augmentation de l'obstruction par la plaque d'athérome jusqu'à ce que l'obstruction soit de l'ordre de 80 %. Au-delà de 80 % d'obstruction, le flot sanguin diminue en fonction de la taille de la plaque. Certains facteurs comme un vasospasme ou une thrombose peuvent aussi contribuer à la diminution du flot coronaire. Une lésion de plus de 95 % va totalement bloquer l'artère coronaire.

### **3.0 L'endoprothèse coronaire**

Parmi les différentes techniques dont nous disposons pour augmenter la lumière artérielle, l'implantation d'une endoprothèse coronaire est devenue une forme de revascularisation majeure depuis quelques années. L'efficacité de l'angioplastie, qui a été introduite il y a plus de vingt ans, est limitée par l'occlusion aiguë durant l'intervention et par la resténose durant les 6 mois suivant celle-ci. De toutes les techniques alternatives tentées, seule l'implantation d'endoprothèse coronaire a démontré une efficacité clinique supérieure à l'angioplastie percutanée transluminale.<sup>21</sup>

#### **3.1 Historique**

Les premières endoprothèses coronaires ont été implantées chez des patients avec maladies coronariennes en 1986. Les indications pour une telle procédure étaient : le traitement de la resténose suite à une angioplastie réussie, l'occlusion abrupte du vaisseau lors de l'angioplastie et le traitement des greffons saphènes sténosés.<sup>22</sup> L'enthousiasme d'abord ressenti pour les

endoprothèses coronaires a été suivi par une période de doute d'environ 5 ans en raison de la fréquence des complications.<sup>21</sup> En effet, l'emplacement de la prothèse était souvent inadéquat, provoquant une thrombose à l'intérieur du vaisseau. De nombreux saignements étaient également observés en raison des régimes d'anticoagulation trop puissants. Néanmoins, en 1991, des investigateurs européens et américains ont persévéré avec cette technique et ont initié des études randomisées (BENESTENT I et STRESS I) visant à comparer l'efficacité de l'endoprothèse versus l'angioplastie seule. Ces études, publiées en 1994, furent les premières à démontrer une diminution de la resténose à l'aide d'une intervention de nature mécanique. L'étude BENESTENT a randomisé 520 patients souffrant d'angine instable avec une seule lésion coronarienne à un traitement par angioplastie conventionnelle ou par une angioplastie suivie de l'implantation d'une endoprothèse coronarienne.<sup>6</sup> L'étude STRESS a randomisé 410 patients avec maladie coronarienne symptomatique à un traitement standard avec angioplastie ou à l'emplacement électif d'une endoprothèse de type Palmaz-Schatz.<sup>7</sup>

Jusqu'en 1994, le blocage de l'endoprothèse coronaire par un thrombus demeurait une complication majeure. On rapportait 20% de blocage de l'endoprothèse en 1991 alors que l'étude BENESTENT I a rapporté un taux de 3,5 % de thrombose.<sup>6</sup> C'est également en 1994 que l'on a commencé à utiliser la ticlopidine en association avec l'aspirine (plutôt que l'anticoagulation orale) et qu'une nouvelle technique de déploiement de l'endoprothèse a fait son apparition. Cette technique permet une expansion optimale de l'endoprothèse grâce à l'insufflation à haute pression du ballonnet lors de l'angioplastie. Les études réalisées suite à l'application de cette technique et à l'utilisation d'antiplaquettaires ont résulté en des taux de thromboses de l'endoprothèse inférieurs à 1% et des résultats cliniques qui tendent à surpasser ceux obtenus par l'angioplastie conventionnelle. Ces facteurs, ainsi qu'une meilleure apparence angiographique de la lésion suite à l'implantation de l'endoprothèse, expliquent la popularité de cette technique.

## **3.2 Indications**

### **3.2.1 Prévention primaire de la resténose**

L'un des objectifs lorsqu'on choisit d'implanter une endoprothèse coronaire chez un patient subissant une angioplastie est de prévenir la resténose. Quatre grandes études randomisées totalisant 1564 patients ont évalué l'efficacité de l'endoprothèse coronaire pour prévenir la resténose suite à une angioplastie. Les études BENESTENT I et II, STRESS I et l'étude START ont comparé l'angioplastie conventionnelle à l'angioplastie accompagnée de la pose d'une endoprothèse chez des patients porteurs de nouvelles lésions sur des artères coronaires natives. Ces études ont démontré une diminution de 30% des événements cliniques 6 mois plus tard chez les patients à qui on avait implanté une endoprothèse coronaire comparativement à ceux qui avaient eu leurs artères dilatées sans pose d'endoprothèse. Cette diminution était principalement due à une diminution d'environ 50% du nombre de revascularisations de la lésion-cible, en raison d'une resténose moins importante tel qu'observé par angiographie. De plus, ces études ont été réalisées avant l'avènement des régimes antiplaquettaires (ticlopidine + aspirine) et du déploiement à haute pression.

Les résultats de l'étude BENESTENT II, qui s'est déroulée entre 1995 et 1996 et qui visait à évaluer l'efficacité d'une endoprothèse recouverte d'héparine, ont eu des effets qui se font ressentir dans la pratique actuelle. En effet, dans cette étude, 53% des patients randomisés à subir une angioplastie ont obtenu des résultats d'angioplastie optimaux, se définissant par moins de 30% de sténose résiduelle. Dans BENESTENT I, de tels résultats avaient été obtenus chez 35% des patients seulement.<sup>23</sup> Ceci peut s'expliquer par l'approche plus agressive des hémodynamiciens lors de l'angioplastie, sachant qu'ils pouvaient avoir recours à l'endoprothèse coronaire en cas de dissection extensive de l'artère. Dans BENESTENT II, une endoprothèse coronaire a été implanté chez 13% des patients suite à une dissection extensive de l'artère pendant l'angioplastie comparativement à 5% dans BENESTENT I. Ceci reflète bien l'approche plus agressive adoptée depuis BENESTENT II. De plus, les résultats cliniques à 7 et 12 mois chez les patients avec angioplastie optimale dans BENESTENT II sont similaires à ceux obtenus

chez les patients ayant reçus une endoprothèse coronaire d'emblée. Ceci explique l'augmentation de l'utilisation d'endoprothèses coronaires lors de résultats sous-optimaux d'angioplastie.

### 3.2.2 Prévention secondaire de la resténose

Les lésions resténosées ont un processus pathologique différent des nouvelles lésions et peuvent prédisposer à une seconde resténose. Certains auteurs ont d'ailleurs rapporté des taux de resténose plus élevés lors de l'implantation d'endoprothèses sur des lésions resténosées.<sup>24</sup> L'étude REST qui s'est terminée en 1997 visait à comparer l'implantation d'une endoprothèse versus l'angioplastie conventionnelle dans le traitement de lésions resténosées. Les résultats de cette étude supportent l'utilisation de l'endoprothèse coronaire dans cette optique car les investigateurs ont observé 16% d'événements cliniques à 6 mois chez les patients avec une endoprothèse comparativement à 28% chez les patients ayant subi une angioplastie conventionnelle.<sup>23</sup> Comme en prévention primaire, ces résultats sont expliqués par un besoin de ré-intervention diminué en raison d'un taux de resténose plus bas.

### 3.2.3 Occlusion abrupte du vaisseau durant l'angioplastie

L'endoprothèse coronaire est également utilisée pour traiter l'occlusion d'un vaisseau qui s'est disséqué suivant une angioplastie. Une étude française multicentrique sur l'utilisation de l'endoprothèse coronaire a rapporté des taux d'occlusion de 3,4% dans le groupe de patients traités pour occlusion abrupte, lorsque la ticlopidine était ajoutée au régime antiplaquettaire après la procédure.<sup>25</sup> Ces taux relativement bas se comparent bien aux taux habituellement observés avec les régimes d'anticoagulants conventionnels contenant de la warfarine.<sup>26</sup> Le placement d'endoprothèses coronaires semble être actuellement la meilleure technique afin d'éviter l'occlusion abrupte d'une artère pendant une angioplastie. Une grande variété de conditions, des résultats angiographiques sous-optimaux à la dissection empêchant le flot distal ou bouchant complètement le vaisseau, peuvent bénéficier de l'implantation d'une endoprothèse. En raison de l'absence de grandes études randomisées nous permettant de connaître la meilleure

approche à utiliser, l'opérateur devrait choisir le type d'endoprothèse avec lequel il est le plus familier et utiliser l'angioplastie à haute pression.<sup>23</sup>

### 3.2.4 Greffons de veine saphène

La réalisation d'une angioplastie conventionnelle sur un greffon veineux est limitée par le risque d'embolisation distale de la plaque d'athérome durant l'intervention et par le risque élevé de resténose. L'installation d'endoprothèses coronaires sur de telles lésions se pratique depuis le milieu des années 1980 et l'expérience de plusieurs centres a déjà été publiée.<sup>27,28</sup> Même avant l'ère du guidage par ultrasons ou de l'angioplastie à haute pression, l'implantation d'endoprothèses sur des lésions de greffons veineux était caractérisée par un très faible taux de thrombose subaiguë de la prothèse alors que l'on peut s'attendre à une incidence de resténose de 30% dans les quelques mois suivant la procédure.<sup>23</sup> L'étude SAVED (Stent versus balloon Angioplasty for aortocoronary saphenous Vein bypass graft Disease) a permis d'établir que l'utilisation d'une endoprothèse coronaire chez des patients avec pontage aorto-coronarien de veine saphène donnait de meilleurs résultats à 6 mois qu'une simple angioplastie de la lésion.<sup>29</sup> Malgré de bons résultats à court et à moyen terme au site de la lésion, la resténose peut se produire et la progression de la maladie coronarienne est commune.<sup>30</sup>

## 4.0 Principes physiologiques importants

Comme la ticlopidine agit spécifiquement sur les plaquettes, il est important de comprendre ce que sont les plaquettes et comment elles fonctionnent. Les plaquettes ne sont pas des cellules mais des morceaux de cellules d'environ 2 à 3 micromètres de diamètre. Elles sont issues des mégacaryocytes, cellules souches de la moelle osseuse dont le cytoplasme se fragmente pour donner des milliers de plaquettes. La surface externe de la plaquette contient une trentaine de glycoprotéines (GP) différentes dont les principales sont les glycoprotéines Ib, IIb/IIIa, I, IIa et IV.<sup>31,32</sup>

Depuis l'identification des plaquettes sanguines en 1881, des progrès continus ont été réalisés dans la compréhension du fonctionnement de celles-ci. Malgré ces progrès et l'accessibilité des plaquettes sanguines comparativement aux cellules humaines non-circulantes, il y a peu de tests de la fonction plaquettaire en clinique. Les seuls tests cliniques standards de la fonction plaquettaire sont le temps de saignement et l'agrégométrie plaquettaire, lesquels ont des limitations importantes.

#### **4.1 Adhésion et agrégation plaquettaire**

Dans des conditions physiologiques normales, les plaquettes n'adhèrent pas à l'endothélium vasculaire intact. Cependant, elles adhèrent rapidement à l'endothélium vasculaire endommagé ou dysfonctionnel, particulièrement aux régions sous-endothéliales exposant des fibres de collagène, comme celles que l'on retrouve sur les plaques d'athérome ulcérées.

Les récepteurs membranaires à la surface des plaquettes sont essentiels à l'adhésion plaquettaire. Les plaquettes possèdent plusieurs molécules d'adhésion cellulaire dont les intégrines  $\beta_1$  et  $\beta_3$ , la P-sélectine (CD62), la « platelet-endothelial cell adhesion molecule » (PECAM), et la GP IV (CD36, un récepteur pour le collagène et la thrombospondine) (voir tableau 1).<sup>31</sup> Plusieurs récepteurs plaquettaires, comme les récepteurs GP Ia/IIa, GP Ic/IIa et GP Ic'/IIa semblent être fonctionnels à l'état normal et ainsi prêts à initier la liaison de la plaquette à la matrice extracellulaire. Les récepteurs GP IIb/IIIa sont quant à eux présents à l'état inactif sur la plaquette au repos. À l'état normal, l'endothélium séquestre les glycoprotéines adhésives (le facteur de von Willebrand, le collagène et la fibronectine) prévenant leur contact avec les plaquettes. Lorsqu'un dommage vasculaire survient, le collagène, la fibronectine et le facteur de von Willebrand sont libérés et entrent ainsi en contact avec les glycoprotéines adhésives plaquettaires. Les récepteurs GP Ib/IX initient la liaison des plaquettes au facteur de von Willebrand au niveau de la matrice sous-endothéliale. Cette interaction induit l'activation plaquettaire, entraînant la libération du contenu des granules denses et alpha (contenant entre autres de l'ADP, de la thrombine et de la sérotonine) et un changement de conformation des

récepteurs GP IIb/IIIa.<sup>31</sup> Les différents agonistes ainsi libérés vont activer les plaquettes circulantes qui pourront se lier ensemble par l'entremise de divers ligands comme le fibrinogène, la fibronectine, la vitronectine, le facteur de von Willebrand et la thrombospondine pour former l'agrégat plaquettaire.<sup>31</sup>

**Tableau 1**

**Glycoprotéines plaquettaires de surface et leurs fonctions.** Les noms dans la première colonne sont les noms usuels des récepteurs. Les glycoprotéines de la famille des intégrines sont aussi identifiées par des caractères représentant les sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  dont elles sont constituées. Une autre nomenclature souvent employée, CD (cluster determinant), est également illustrée.

Récepteur	Ligands	Fonction
GP IIb/IIIa ( $\alpha_{IIb}\beta_3$ ) (CD41/CD61)	fibrinogène, vWF, fibronectine, vitronectine thrombospondine	Agrégation, adhésion
Récepteur de la vitronectine ( $\alpha_v\beta_3$ ) (CD51/CD61)	vitronectine, vWF, fibronectine, fibrinogène thrombospondine	Adhésion
GP Ia/IIa ( $\alpha_2\beta_1$ )(CD49b/CD29)	collagène	Adhésion
GP Ic/IIa ( $\alpha_5\beta_1$ )(CD49e/CD29)	fibronectine	Adhésion
GP Ic'/IIa ( $\alpha_6\beta_1$ )(CD49f/CD29)	laminine	Adhésion
GP Ib/IX (CD42)	vWF, thrombine	Adhésion
GP IV (CD36)	thrombospondine, collagène	Adhésion
P-sélectine (CD62)	sialyl Lewis x	Interaction plaquette- leucocyte
PECAM (CD31)	PECAM	Interaction plaquette- plaquette

vWF : facteur de von Willebrand (modifié de Jang et al.<sup>31</sup>)

## 4.2 Agrégométrie

L'agrégométrie est une technique turbidimétrique permettant de déterminer le pourcentage d'opacification d'un tube contenant un plasma riche en plaquettes suite à l'ajout d'un agoniste pro-agrégant. Lorsqu'il est ajouté au plasma riche en plaquettes, l'agoniste, par exemple l'ADP,

active les plaquettes qui changent de forme puis s'agrègent. L'agrégation ainsi induite par l'ADP exogène est réversible et est décrite comme étant l'agrégation primaire. Les plaquettes normales répondent en relâchant de l'ADP endogène de leurs granules sécrétoires résultant en une seconde vague d'agrégation irréversible.<sup>33</sup> L'agrégomètre est calibré à 0 % d'agrégation avec un plasma pauvre en plaquettes provenant d'un échantillon sanguin du patient centrifugé à haute vitesse (2800 tours/minute).

L'effet de la ticlopidine sur l'agrégation plaquettaire est bien connu. La ticlopidine a un effet inhibiteur puissant sur l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP et le collagène. Par contre, son effet est presque nul sur l'agrégation plaquettaire induite par l'épinéphrine.<sup>34</sup> De son côté, l'aspirine inhibe l'agrégation plaquettaire induite par la thromboxane A<sub>2</sub>, l'épinéphrine et le collagène. Son activité contre l'induction par l'ADP est faible.

Une étude chez 30 patients traités à la ticlopidine durant plusieurs mois a démontré une réduction significative de l'agrégation plaquettaire chez tous les sujets, sauf pour de très faibles dilutions d'ADP (0,5 µM).<sup>35</sup> Cet effet a été observé chez les patients hyperagrégants comme chez les patients normo-agrégants. Il semble en effet qu'une certaine partie de la population réagirait plus fortement aux stimuli agrégants. L'étude de Petronio et al<sup>35</sup> a démontré que l'effet de la ticlopidine est plus prononcé chez les patients hyperagrégants. Chez tous les patients, on observe une chute considérable de l'agrégation plaquettaire au début du traitement suivi par une légère augmentation. Tout au long de cette étude de 6 mois, la ticlopidine a maintenu son effet sur l'agrégation plaquettaire.

Droste et al<sup>34</sup> ont réalisé une étude en chassé-croisé visant à analyser l'effet de l'aspirine et de la ticlopidine sur différents paramètres hématologiques. Pendant 2 semaines, un groupe de patients a reçu de l'aspirine à raison de 300 mg par jour suivi de la ticlopidine 250 mg BID pendant 2 autres semaines. Un autre groupe de patients a reçu le traitement inverse. Cette étude a démontré que les modes d'action différents de ces agents antiplaquettaires sont reflétés par des profils d'agrégation plaquettaire différents. L'agrégation plaquettaire induite par l'ADP était à son

minimum lors du traitement à la ticlopidine alors que l'agrégation induite par le collagène et l'épinéphrine était à son minimum lors du traitement à l'aspirine. L'efficacité supérieure de la ticlopidine en prévention des accidents vasculaires cérébraux pourrait donc s'expliquer par son effet inhibiteur sur l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP. Lors de cette étude, le nombre de plaquettes circulantes était supérieur lors du traitement à la ticlopidine, comme déjà observé dans des études chez l'animal. La ticlopidine augmente la survie plaquettaire, ce qui peut expliquer cette élévation du nombre de plaquettes.

### **4.3 Mesure de l'activation plaquettaire**

L'activation plaquettaire peut être mesurée à l'aide de la cytométrie en flux. La cytométrie en flux est une technique permettant la mesure des caractéristiques spécifiques d'un grand nombre de cellules individuelles. Avant de procéder à l'analyse cytométrique, les cellules en suspension doivent être marquées à l'aide d'une molécule fluorescente conjuguée à un anticorps monoclonal. Dans le cytomètre, les cellules en suspension passent devant un faisceau laser de longueur d'onde connue dans une chambre de flux à un taux de 1000 à 10000 cellules à la minute. Après l'activation du fluorophore à la longueur d'onde d'activation, un détecteur analyse la lumière émise et la dispersion de celle-ci.<sup>36</sup>

L'utilisation de certaines techniques comme le lavage des plaquettes sanguines ou l'utilisation d'un plasma riche en plaquettes lors d'analyses cytométriques sont susceptibles d'activer *in vitro* les plaquettes en raison des étapes de séparation des cellules (centrifugation, lavage).<sup>36</sup> L'introduction d'une technique sur le sang complet en 1987 par Shattil et al<sup>37</sup> fut une étape importante de l'application de la cytométrie en flux dans des conditions cliniques.

Les analyses cytométriques sur sang complet permettent de déterminer l'état d'activation basal *in vivo* des plaquettes circulantes. L'addition d'un agoniste exogène permet également l'analyse de la réactivité des plaquettes *in vitro*. Ainsi, la cytométrie sur sang complet permet une analyse physiologique de la fonction plaquettaire car l'addition d'un agoniste (ADP, TRAP, etc.)

engendre une réponse spécifique de la plaquette comme par exemple un changement dans l'expression d'antigènes de surface.

## **5.0 Pharmacologie et usage thérapeutique de la ticlopidine**

### **5.1 Survol des propriétés pharmacologiques de la ticlopidine**

Même si les mécanismes par lesquels la ticlopidine exerce son activité antiagrégante ne sont pas bien élucidés, il est possible qu'elle agisse à une étape initiale commune à tous les processus d'activation de la plaquette. Le mécanisme d'action proposé par le fabricant est que la ticlopidine agirait en interférant au niveau de la membrane plaquettaire et inhiberait les liaisons plaquettes-fibrinogène induites par l'ADP ainsi que les interactions plaquettes-plaquettes subséquentes. La ticlopidine cause une inhibition temps et dose-dépendante irréversible de l'agrégation plaquettaire et de la libération du contenu des granules plaquettaires et une prolongation du temps de saignement.

Plusieurs métabolites de la ticlopidine ont été identifiés et les différences observées entre les études *in vitro*, *in vivo* et *ex vivo* peuvent être le résultat d'un métabolite actif transitoire. Les études sur le modèle animal peuvent également être difficiles à interpréter étant donné les différences dans la physiologie plaquettaire entre certaines espèces animales et l'homme.<sup>38</sup>

Une puissante inhibition de l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP par la ticlopidine a été démontrée chez l'homme dans des études *ex vivo*. L'effet antiagrégant est noté après 24-48 heures et est maximal après 3 à 5 jours d'administration de ticlopidine à raison de 500 mg par jour. La ticlopidine augmente le temps de saignement avec un effet maximal après 5 à 6 jours de traitement. Une inhibition plaquettaire significative peut encore se faire sentir 72 heures après l'arrêt du traitement, avec un retour aux valeurs de base en 4 à 10 jours. L'inhibition de l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP *ex vivo* semble proportionnelle à la dose administrée et atteint un maximum avec des doses de 500 mg/jour.<sup>39</sup>

Suite à la liaison de l'ADP sur un récepteur plaquettaire spécifique, plusieurs effets différents surviennent incluant l'inhibition de l'adénylate cyclase, une augmentation de calcium intracellulaire, et l'exposition des récepteurs au fibrinogène.<sup>38</sup> *In vitro*, la ticlopidine inhibe l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP et l'acide arachidonique. Cependant, la ticlopidine n'inhibe pas la liaison du fibrinogène et du facteur de von Willebrand à leurs récepteurs plaquettaires induite par l'ADP et l'épinéphrine. La ticlopidine est moins efficace que l'aspirine dans ces épreuves *in vitro* et agit seulement à des concentrations que l'on ne peut atteindre à dose thérapeutique.<sup>38</sup> Dans les études *ex vivo* sur des plaquettes animales, la ticlopidine inhibe de manière efficace l'agrégation plaquettaire induite par l'ADP, la thrombine, le collagène et l'acide arachidonique de façon dose-dépendante. L'inhibition plaquettaire est irréversible et dure toute la vie de la plaquette, c'est-à-dire environ 7 jours.<sup>40</sup>

La ticlopidine inhibe la première et la seconde phase de l'agrégation plaquettaire et amplifie la désagrégation plaquettaire chez les sujets sains et chez les patients atteints de maladies associées à une activation des plaquettes. L'inhibition de l'agrégation plaquettaire par l'acide arachidonique, le collagène, la thrombine, l'épinéphrine, la sérotonine, le platelet-activating-factor (PAF), le tetradecanoyl-phorbol acétate (TPA) et l'oleoyacetyl glycerol (OAG) ont aussi été observé chez les sujets sains et les patients mais est probablement un résultat indirect de la ticlopidine bloquant l'amplification de l'agrégation plaquettaire par l'ADP libérée des plaquettes suivant de faibles concentrations de ces agonistes.<sup>38</sup> L'amplitude de cet effet est très variable et il semble y avoir une grande variabilité entre les individus et les méthodes d'analyse. Chez le modèle animal, la ticlopidine ne semble pas affecter la production de thromboxane A<sub>2</sub>, et contrairement à l'aspirine, n'inhibe pas la cyclo-oxygénase.

*Ex vivo*, la ticlopidine inhibe la liaison du fibrinogène au complexe glycoprotéique IIb/IIIa.<sup>38</sup> Cette inhibition se fait possiblement par l'inhibition de l'exposition du récepteur en réponse à l'ADP ou à d'autres agonistes. Ainsi, les effets de la ticlopidine sur l'activité plaquettaire peuvent s'expliquer par le blocage des récepteurs plaquettaires de fibrinogène ou l'altération de la liaison plaquettaire par l'ADP.

## **5.2 Utilisation thérapeutique de la ticlopidine**

La ticlopidine agit presque exclusivement sur les plaquettes et son utilité a été étudiée dans une variété de désordres caractérisés par une dysfonction plaquettaire. Initialement, la ticlopidine fut évaluée dans les situations où il y avait une interaction entre les plaquettes et une surface artificielle, comme par exemple dans la chirurgie cardiaque avec circulation extracorporelle ou chez les patients hémodialysés. L'expérience clinique subséquente s'est élargie pour inclure la ticlopidine chez d'autres patients à risque élevé de maladies thrombotiques, notamment ceux avec des ischémies cérébrales transitoires, des accidents cérébro-vasculaires, une maladie artérielle périphérique et une maladie ischémique cardiaque.

### **5.2.1 Ischémies cérébrales transitoires et accidents cérébro-vasculaires (ACV)**

L'attaque ischémique transitoire précède l'ACV chez 17 à 20 % des patients et dans les deux cas, l'agrégation plaquettaire joue un rôle prééminent. Les médicaments avec une activité antiplaquettaire ont un rôle établi dans la prévention d'ischémies cérébrales transitoires et dans la réduction de la fréquence et de la sévérité d'un ACV chez les patients à haut risque.<sup>41</sup> Étant donné que l'utilisation de l'aspirine peut être limitée par ses effets indésirables au niveau gastro-intestinal et par son efficacité moindre chez les femmes, l'efficacité de la ticlopidine chez les patients avec une maladie ischémique cérébrale est d'un intérêt considérable.

L'étude CATS<sup>42</sup> a établi que la ticlopidine à raison de 250 mg deux fois par jour réduisait le taux annuel moyen de premiers événements vasculaires (ACV, infarctus du myocarde ou mort vasculaire) comparativement au placebo. En effet, l'étude CATS a démontré une diminution de 30,2 % des ACV, infarctus du myocarde et morts vasculaires en faveur des patients traités à la ticlopidine. Cette étude a également démontré l'efficacité équivalente de la ticlopidine chez l'homme et chez la femme.

L'étude TASS<sup>43</sup> visait à comparer l'efficacité de la ticlopidine à celle de l'aspirine chez des patients ayant souffert d'une attaque ischémique transitoire, d'un déficit neurologique ischémique réversible ou d'un ACV mineur dans les 3 mois précédents l'étude. La ticlopidine s'est avérée supérieure à l'aspirine en prévention de la mort de toutes causes et d'ACV non-fatals dans la première année de l'étude et cette différence significative s'est maintenue durant 5 ans ( $p=0,048$ ).

### 5.2.2 Maladies artérielles périphériques

Les patients avec une maladie artérielle périphérique ont une incidence élevée de thromboembolie systémique. La progression naturelle de cette maladie entraîne le patient vers une augmentation de la sévérité de ses symptômes comme la claudication et des complications cardiovasculaires et cérébro-vasculaires.

Quelques études cliniques ont étudié l'efficacité de la ticlopidine chez les patients atteints de claudication intermittente due à la maladie artérielle périphérique. Dans ces études, la ticlopidine a été administrée pour une période allant de 6 mois à 7 ans, à raison de 250 mg deux fois par jour. Ces études ont démontré que la ticlopidine pouvait améliorer significativement l'habileté du patient à marcher. De plus, le ratio des pressions systoliques à la cheville et au bras au repos et après exercice ont également été améliorés. Dans une étude, la distance que les patients étaient capables de marcher s'est améliorée de plus de 50 % chez 73 % des patients traités avec la ticlopidine comparativement à 30 % dans le groupe placebo après 6 mois de traitement.<sup>44</sup> La vitesse à laquelle les patients traités à la ticlopidine étaient capables de marcher s'est également améliorée par les mêmes pourcentages. En effet, 73 % des patients traités à la ticlopidine étaient en mesure d'atteindre 3,2 km/h contre 30 % dans le groupe placebo. La ticlopidine semblait avoir le plus d'effet sur l'habileté à marcher chez les patients les plus sévèrement atteints par la maladie artériopathique.<sup>44</sup>

Une méta-analyse de 4 études incluant un total de 618 patients avec claudication intermittente a permis d'identifier les bienfaits à court terme de la ticlopidine sur la prévention d'événements vasculaires.<sup>45</sup> Une diminution significative dans le nombre d'événements cardiovasculaires fatals et non-fatals est apparue. Ainsi, le taux d'événements cardiovasculaires dans le groupe traité à la ticlopidine était de 3 %, comparativement à un taux de 9 % dans le groupe placebo ( $p = 0,002$ ), ce qui signifie une diminution relative de 66 % du risque d'événements cardiovasculaires sur une période de suivi moyenne de 6 mois.

Une étude à double-insu publiée en 1990 avait pour objectif de mesurer l'efficacité de la ticlopidine à long terme (suivi minimum de 5 ans) à raison de 250 mg deux fois par jour ( $n = 346$ ) contre placebo ( $n = 341$ ) sur l'incidence d'infarctus du myocarde, d'ACV et d'attaques ischémiques transitoires chez des patients atteints de claudication intermittente.<sup>46</sup> Les paramètres primaires évalués étaient l'incidence d'infarctus fatals ou non, d'accidents cérébro-vasculaires et d'attaques ischémiques transitoires récurrentes. Une analyse selon l'intention de traiter de ces paramètres primaires a démontré une réduction relative de 11,4 % dans le groupe ticlopidine comparativement au groupe placebo (25,7 % vs. 29 %), mais cette diminution n'était pas statistiquement significative. Cependant, la réduction relative de la mortalité totale dans le groupe ticlopidine fut de 29,1 % comparativement au groupe placebo ( $p = 0,015$ ), ce qui peut être expliqué par moins de mortalité par maladies cardiaques ischémiques (incluant mort cardiaque subite) dans le groupe ticlopidine. Cette étude a également démontré que la ticlopidine ne diminuait pas seulement l'incidence d'événements cardio-vasculaires mais améliorait aussi la survie des patients ayant souffert d'un tel événement.<sup>38</sup>

### 5.2.3 Maladies cardiaques ischémiques

L'étude STAI<sup>47</sup> a étudié l'effet de la ticlopidine à raison de 250 mg BID chez des patients admis pour angine instable. Les patients étaient séparés en deux groupes : un groupe était traité de manière conventionnelle (aspirine,  $\beta$ -bloqueurs, antagonistes calciques ou nitrates) et l'autre groupe recevait le traitement conventionnel plus la ticlopidine qui devait être débutée dans les 48

heures suivant l'admission. Les paramètres d'évaluation primaires étaient l'infarctus fatal ou non et la mort d'origine vasculaire. Durant une période de 6 mois, le risque d'infarctus non-fatal fut réduit de 46,1 % ( $p = 0,039$ ), le risque d'infarctus (fatals ou non) de 53,2 % ( $p = 0,006$ ) et le risque d'infarctus fatals ou de mort vasculaire de 46,3 % ( $p = 0,009$ ) avec le traitement à la ticlopidine.<sup>47</sup>

Lorsque la ticlopidine (500 mg/jour) et l'aspirine (100 à 200 mg/jour) furent administrés avec de l'héparine, des nitrates et du propranolol chez des patients se présentant à l'urgence à moins de 24 heures du début d'un infarctus du myocarde, la fréquence et l'intensité des douleurs angineuses furent réduites comparativement au niveau de base.<sup>47</sup> La récurrence des douleurs angineuses ainsi que l'incidence de réinfarction durant les premières 48 heures étaient similaires dans les deux groupes de traitement.

L'utilisation de l'aspirine et de la ticlopidine en combinaison comme thérapie antiplaquettaire suite à la pose d'une endoprothèse a démontré son efficacité et a permis de diminuer les complications vasculaires et le séjour à l'hôpital de manière significative tout en diminuant les risques de thrombose de la prothèse à moins de 2%.<sup>26</sup> En 1995, l'American College of Chest Physicians a émis des recommandations quant aux régimes antithrombotiques à utiliser lors de l'implantation d'une endoprothèse coronarienne.<sup>48</sup> Ce régime inclut l'aspirine à raison de 325 mg par jour débutant au moins 2 heures avant l'intervention et il est poursuivi indéfiniment. L'héparine à forte dose est recommandée durant la procédure pour maintenir un temps de céphaline activée au-dessus de 300-350 secondes selon la méthode utilisée. On recommande ensuite d'ajouter la warfarine, la ticlopidine ou l'héparine de faible poids moléculaire pour 4 semaines après la procédure. Les recommandations de l'ACCP proposent donc 3 régimes différents et plusieurs adaptations de ces régimes se sont retrouvées dans les centres hospitaliers.

Les premières études cliniques portant sur un régime antithrombotique sans warfarine (ticlopidine + aspirine) étaient en majorité non-contrôlées, non-randomisées et ouvertes. Ces études sont difficiles à comparer car les protocoles diffèrent d'une étude à l'autre. Certaines études employaient la ticlopidine à des doses de 250 mg/jour alors que d'autres utilisaient 500

mg/jour.<sup>49</sup> Certains protocoles débutaient la ticlopidine 2 à 3 jours avant la procédure alors que d'autres la débutaient immédiatement après. De plus, ces études utilisaient plusieurs sortes d'endoprothèses coronaires (Flexstent, Palmaz-Schatz, Wiktor, Micro, Cordis, Multi-Link). Il est donc difficile d'évaluer justement l'effet du traitement pharmacologique car on soupçonne certaines endoprothèses d'être plus thrombogéniques que d'autres. Certaines études utilisaient aussi le guidage intravasculaire par ultrasons (IVUS), ce qui permet de vérifier le bon déploiement de l'endoprothèse au site de la lésion. Or, un meilleur déploiement de l'endoprothèse au site de la lésion amène une diminution des événements thrombotiques. Les patients recrutés dans ces études étaient pour la plupart des patients à bas risques puisque ceux-ci ne présentaient peu ou pas de sténose résiduelle après la procédure, une couverture adéquate de la lésion par l'endoprothèse, pas de dissection, des lésions situées dans des vaisseaux de plus de 3 mm de diamètre et une lumière au site de l'endoprothèse supérieure aux sites distaux du vaisseau. Malgré leurs différences à l'égard du protocole, ces études ont montré un faible taux de thromboses aiguës/subaiguës, peu d'événements hémorragiques et peu d'effets secondaires graves.

L'une des dernières études à avoir été publiée à ce sujet est l'étude STARS (Stent Anticoagulation Restenosis Study).<sup>50</sup> Cette étude a comparé l'efficacité et l'innocuité de trois régimes antithrombotiques ; l'aspirine seule, l'aspirine avec la warfarine et l'aspirine avec la ticlopidine après l'implantation d'une endoprothèse coronaire. Lors de cette étude, 557 patients ont reçu l'aspirine seule après la pose d'une endoprothèse coronaire, 550 ont reçu l'aspirine avec de la warfarine et 546 patients ont reçu de l'aspirine et de la ticlopidine. Le paramètre primaire d'efficacité de l'étude était composé de la combinaison de plusieurs événements survenant dans les 30 jours suivant la pose de l'endoprothèse tel la mort, la revascularisation de la lésion initiale, une évidence angiographique de thrombose et l'infarctus du myocarde. Trente-huit patients ont subi un événement défini dans les paramètres d'efficacité ; 20 (3,6 %) chez les patients assignés à recevoir l'aspirine (325 mg/jour) seule, 15 (2,7 %) chez les patients recevant l'aspirine avec la warfarine et 3 (0,5 %) chez les patients assignés à l'aspirine 325 mg avec la ticlopidine 250 mg BID ( $p = 0,001$  pour la comparaison entre les 3 groupes). Cette étude a donc démontré que la combinaison aspirine + ticlopidine après l'implantation d'une endoprothèse

coronaire résultait en un taux inférieur de thrombose de la prothèse, avec un taux de complications hémorragiques légèrement supérieur au traitement avec l'aspirine seule.

Quoique l'administration d'une dose de charge de ticlopidine de 1000 mg par jour soit utilisée dans certains centres hospitaliers, aucune de ces études n'était conçue pour vérifier l'efficacité et l'innocuité d'une telle pratique. Seul un résumé publié par Khurana et al.<sup>9</sup> a comparé les résultats d'agrégation plaquettaire suivant l'administration d'une dose de 500 mg BID à une dose de 250 mg BID en chassé-croisé chez 5 individus sains. Les auteurs ont conclu qu'une dose de 500 mg BID permettait d'inhiber plus rapidement l'agrégation plaquettaire qu'une dose de 250 mg BID.

## 6.0 Article

### **EFFECT OF HIGHER DOSES OF TICLOPIDINE ON PLATELET ACTIVATION AND AGGREGATION IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME**

Patrick Bélanger<sup>1,2</sup>, B.Pharm, Donald A. Palisaitis<sup>1,3</sup>, MD, Jean G. Diodati<sup>1,3</sup>, MD, Chantal  
Pharand<sup>1,2</sup>, Pharm.D.

<sup>1</sup>Research Center, Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal,  
and <sup>2</sup>Faculty of pharmacy and <sup>3</sup>Faculty of Medicine, Université de Montréal.

#### Correspondence:

Chantal Pharand, Pharm D  
Centre de Recherche, Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal  
5400, Gouin Blvd. West  
Montreal, Quebec, H4J 1C5  
Tel: 514-338-2222 ext: 2506  
Fax: 514-338-2694  
E-mail: [pharandc@crhsc.umontreal.ca](mailto:pharandc@crhsc.umontreal.ca)

**This project has been financially supported by an unrestricted grant from Hoffmann-La Roche Limited.**

## Abstract

**Background.** We investigated whether higher doses of ticlopidine combined with aspirin would allow a faster inhibition of platelet activation and aggregation in patients with acute coronary syndromes (ACS) potentially undergoing percutaneous coronary intervention (PCI) with stent placement.

**Methods and Results.** Seventeen patients presenting with ACS and candidates for possible PCI were randomized to ticlopidine 250 mg (T250) or 500 mg (T500) twice daily for 5 days. Platelet aggregation and activation were assessed at baseline before the first dose and daily for 5 days. After 2 days of treatment, T500 produced a significantly larger reduction in platelet activation and aggregation than T250. Mean platelet activation was reduced by  $17,6 \pm 3,3$  % with T500 from day 3 to 6 ( $p \leq 0.05$ ). Mean platelet aggregation was  $16,9 \pm 0,6$  % lower in patients treated with T500 on days 3 through 6 when compared to those on T250 ( $p < 0.05$ ).

**Conclusions.** A faster and stronger inhibition of platelet activation and aggregation is obtained when 1000 mg of ticlopidine is administered daily in combination with aspirin in patients with ACS. This could potentially contribute to decrease the incidence of subacute stent thrombosis.

**Keywords:** angioplasty, platelets, stents, ticlopidine, aspirin

Percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA) is commonly used to treat patients with acute coronary syndromes. The drawbacks of conventional PTCA remain abrupt closure and late restenosis. The advent of intracoronary stenting has decreased the incidence of both these events.<sup>1,2</sup> Combination antiplatelet therapy with aspirin and a thienopyridine derivative is necessary to minimize acute and subacute closure of vessels after stenting.<sup>3-7</sup> The pharmacodynamics of the two thienopyridines, ticlopidine and clopidogrel, are very similar due to their common chemical structure. The maximal effect of the standard dose of ticlopidine (250 mg twice daily) occurs after 3 to 5 days of administration.<sup>8</sup> As a result, the majority of patients undergoing stent placement have less than optimal platelet inhibition during the first few days after the procedure. For this reason, ticlopidine 500 mg twice daily is often used when several days of ticlopidine therapy cannot be completed prior to the procedure. However, there exists no evidence to support such a practice. From a theoretical point of view, decreasing the time to optimal ticlopidine-induced platelet inhibition would be advantageous, especially in those patients at high risk of complications and undergoing PTCA less than 3 days after initiation of ticlopidine therapy.

In the present study, we investigated the effect of a double dose of thienopyridine derivative, 500 mg of ticlopidine twice daily, on platelet activation and aggregation in a group of patients who presented to the emergency department with acute coronary syndromes and were potential candidates for PTCA with coronary stenting.

## **Methods**

**Patient selection and study protocol.** This double-blind, randomized, controlled study included 17 patients who were admitted to the emergency department for ischemic chest pain within the last 24 hours. Exclusion criteria were contraindications to aspirin or ticlopidine, any clinically significant hematological disorders, any active pathologic bleeding, any major surgery within the last 2 months and current use of warfarin.

All patients gave written informed consent and the study was approved by the institutional review committee. Patients were randomized to ticlopidine (Ticlid<sup>®</sup>, Hoffman-LaRoche) 250 mg twice daily (Group T250), or to ticlopidine 500 mg twice daily (Group T500). Every patient received acetylsalicylic acid 325 mg daily. A peripheral venous blood sample was taken before the first dose of ticlopidine and daily thereafter for 5 days. Blood samples were taken each morning at 07h00 before the morning dose of ticlopidine. Platelet activation and aggregation were assessed for 6 consecutive days. In addition, a complete blood count was performed every day to monitor the occurrence of hematological disorders.

**Platelet aggregation studies.** Platelet aggregation was measured with a four channel PAP-4 Aggregometer (BioData, Hatboro, PA, USA). Blood samples for platelet aggregation assessments were collected via peripheral venipuncture. For each measurement, two 4.5-ml blood samples were collected in ambient 5-ml vacutainer tubes containing 0.5 ml of 3.8% sodium citrate. Whole blood was centrifuged for 10 minutes at 2000 RPM to obtain a platelet rich plasma (PRP). Assessment of platelet aggregation was performed with 450  $\mu$ l of PRP and adenosine 5'-diphosphate (ADP) 20  $\mu$ M was utilized as an agonist. Each test was done in

duplicate. The extent of platelet aggregation was expressed as a percent, where 100% light transmission corresponded to transmission through platelet poor plasma.

**Platelet activation studies.** Using a FACSCAN flow cytometer (Becton Dickinson, Mountain View, CA, USA), the platelet population was identified by size and granularity. Anti-CD42b and PAC-1 monoclonal antibodies (Pharmingen, Mississauga, ON, Canada) were commercially obtained as phycoerythrin (PE) and fluorescein isothiocyanate (FITC) conjugates, respectively. Anti-CD42b antibodies react with glycoprotein GP Ib, a platelet glycoprotein that forms a non-covalent complex with glycoprotein GP IX (CD42a) found on platelets and megakaryocytes. The GP Ib/IX complex serves as the von Willebrand factor (vWF) surface receptor involved in the adhesion of platelets to the subendothelium of damaged vascular walls.<sup>11</sup> Anti-CD42b antibodies detect platelets regardless of whether they are in an activated or resting form and allow an accurate identification of the platelet population. PAC-1 antibodies recognize an epitope on the GP IIb/IIIa complex of activated platelets at or near the platelet fibrinogen receptor.<sup>12</sup> Thus, PAC-1 binding indicates activity of the GP IIb/IIIa receptor and platelet activation. The result is expressed as percentage of specific fluorescence-positive platelets, i.e. CD42b or PAC-1 positive platelets over total platelets times 100.<sup>9</sup>

Preparation and immunolabeling of platelets with monoclonal antibodies were performed within 10 minutes of blood drawing. Peripheral blood samples were taken in a forearm vein at the same time each morning. The first 2 ml of blood were discarded. In brief, whole blood (450  $\mu$ L) was activated with 50  $\mu$ L of ADP 20  $\mu$ M. Five  $\mu$ L of activated blood was then added to

polypropylene tubes pre-loaded with 20  $\mu$ L of anti-CD42b and PAC-1 antibodies. Non-activated samples were also processed in the same manner to analyze platelet activation at rest. Samples were then incubated for 20 minutes at room temperature without agitation. Immunolabeled samples were fixed with 500  $\mu$ L of paraformaldehyde 1% in PBS at pH 7.4. Samples were stored at 4°C until flow cytometric analysis, which was performed within 72 hours.

**Statistical analysis.** Groups were compared with Chi-square or Fisher's exact test as appropriate. The primary endpoints of the study were the percent inhibition of platelet activation, as indicated by PAC-1 antibody binding, and percent inhibition of platelet aggregation induced by ADP compared to baseline pre-ticlopidine samples. Continuous variables are presented as mean values  $\pm$  standard deviation and differences were tested using an unpaired *t* test and repeated measures ANOVA where appropriate. A two-tailed *p* value  $< 0.05$  was considered statistically significant.

## ***Results***

Nine subjects were randomized to the T250 and T500 groups. One subject in the T250 group was withdrawn from analysis because he was discharged after one day of treatment and only baseline values had been obtained. The two groups were similar with respect to demographics and major baseline clinical characteristics (Table 1). However, more patients were already using acetylsalicylic acid at baseline as a prophylactic antiplatelet therapy in the T250 group (87.5 %) than in the T500 group (33.3 %).

Figure 1 shows mean platelet aggregation in both groups as a function of time. Mean platelet aggregation at baseline was similar in both groups:  $65,7 \pm 18,6 \%$  and  $68,9 \pm 12,8 \%$  for the T250 and T500 groups, respectively. Inhibition of platelet aggregation was faster and more complete with ticlopidine 500 mg twice daily, as illustrated in figure 1. Maximum inhibition of platelet aggregation appeared after 4 days of treatment in both groups. A statistically significant difference ( $16,9 \pm 0,6 \%$   $p < 0,05$ ) was found between the two groups 2 days after initiation of treatment, a difference that was maintained until the end of the study.

Inhibition of platelet activation showed a similar pattern (Figure 2). Treatment with ticlopidine 500 mg twice daily produced a faster and more important inhibition of platelet activation than ticlopidine 250 mg twice daily. At baseline, platelet activation with ADP  $20 \mu\text{M}$  was similar in the T250 and T500 groups ( $77,8 \pm 14,3 \%$  and  $76,1 \pm 22,3 \%$ , respectively). Platelet activation reached a minimum of  $43,3 \pm 19,3 \%$  in T500 and a minimum of  $57,8 \pm 12,2 \%$  in T250 at the end of treatment. Statistically significant differences were observed after 2, 3 and 4 days of therapy ( $p < 0,05$ ).

Figure 3 shows confidence intervals for the difference between each day of treatment and the baseline value for platelet activation and aggregation. A trend toward a stronger effect of ticlopidine 500mg twice daily is apparent from day 1 of treatment for both parameters. This effect is clear and statistically significant on all subsequent days of treatment except on Day 5 for platelet activation ( $p = 0,05$ ).

**Side effects.** One subject in the T250 group was withdrawn from the study after 4 days of treatment secondary to elevated liver enzymes. One subject in the T500 group had a severe

gastrointestinal bleeding a few days after the end of the study. No differences were observed between hematological parameters of both groups before and during therapy.

### ***Discussion***

Previous studies have shown that higher doses of thienopyridine derivatives expedite inhibition of platelet activation and aggregation. Khurana et al<sup>10</sup> described faster inhibition of platelet aggregation with higher doses of ticlopidine in 5 healthy subjects. Berglund et al also showed increased inhibition of platelet aggregation when a loading dose of 1500 mg of ticlopidine was given to 18 stable coronary patients already treated with aspirin.<sup>11</sup> Our study confirms this finding for the first time in an unstable angina population.

Not only is time to peak inhibition of platelet aggregation and activation decreased with higher doses of ticlopidine, but to our knowledge, this is the first study to demonstrate that the magnitude of this inhibition is also increased significantly. Ticlopidine 500 mg twice daily achieved up to 80% inhibition of platelet aggregation whereas the standard dose reached maximal plateau values of approximately 63% inhibition of platelet aggregation. Levels of 80-90% inhibition of platelet aggregation are common target values sought after in studies using GP IIb/IIIa antagonists, suggesting that in the acute phase of unstable coronary syndromes, we may be underdosing thienopyridine derivatives. It is interesting to note that despite a higher proportion of patients on aspirin in the T250 group, platelet aggregation and activation at baseline were similar. This may be partly explained by the agonist (ADP) used *in vitro* in our study. Droste et al showed that acetylsalicylic acid is less effective in inhibiting ADP induced platelet aggregation.<sup>12</sup>

The objective of this study was not to verify the safety of higher ticlopidine doses but hematological parameters were monitored every day during the study and no differences were observed between groups. Nevertheless, one subject in the T500 group suffered from severe gastrointestinal bleeding requiring blood transfusions 4 days after the end of the study. This subject had undergone coronary angiography on his third day of study treatment and the combination of heparin, aspirin and ticlopidine might have precipitated this adverse event.

**Study limitations.** The results of the current study should be used with caution. Using a small number of patients, surrogate endpoints were used to evaluate the potential benefit of higher doses of ticlopidine early after PTCA. Although 500 mg twice daily of ticlopidine appeared more effective in reducing platelet activation and aggregation, this might not necessarily translate into a reduction in coronary event rate. Finally, the study of platelet activation and platelet aggregation is always hampered by possible artefactual activation of platelets during blood sampling and manipulations. However, methodological variables were kept constant among all samples to minimize variability between patient groups.

In conclusion, higher-dose ticlopidine does not only lead to a more rapid inhibition of platelet aggregation and activation but also produces a greater magnitude of this inhibition in a non-ST-elevation acute coronary syndrome population.

### *Acknowledgements*

We would like to thank Dr Daniel Bichet and his laboratory personnel for the tremendous help that they provided as well as Mr Serge Sénéchal who provided his technical expertise on flow cytometry. We would also like to thank Mr John Stewart who helped with statistical analysis.

## REFERENCES

1. Serruys PW, deJaegere P, Kiemeneij F, et al. A comparison of balloon-expandable stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med.* 1994;331:489-95.
2. Fischman DL, Leon MB, Baim DS, et al. A randomized comparison of coronary stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. *N Engl J Med.* 1994;331:496-501.
3. Schoemig A, Neumann FJ, Kastrati A, et al. A randomized comparison of antiplatelet and anticoagulant therapy after the placement of coronary artery stents. *N Eng J Med.* 1996;334:1084-1089.
4. Schulen H, Hadamitzky M, Walter H, et al. Major benefit from antiplatelet therapy for patients at high risk for adverse cardiac events after coronary Palmaz-Schatz stent placement. *Circulation.* 1997;95:2015-2021.
5. Neumann FJ, Gawaz M, Dickfeld T, et al. Antiplatelet effect of ticlopidine after coronary stenting. *J Am Coll Cardiol.* 1997;29:1519.
6. Muller C, Buttner HJ, Petersen J, et al. A randomized comparison of clopidogrel and aspirin versus ticlopidine and aspirin after the placement of coronary-artery stents. *Circulation.* 2000;101:590-3.
7. Bertrand ME, Rupprecht HJ, Urban P, et al. Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting. *Circulation.* 2000;102:624-9.

8. Panak E, Maffrand JP, Picard-Fraire C, et al. Ticlopidine: a promise for the prevention and treatment of thrombosis and its complications. *Haemostasis*. 1983;13(suppl.1):1-54.
9. Shattil SJ, Cunningham M, Hoxie JA. Detection of activated platelets in whole blood using activation-dependant monoclonal antibodies and flow cytometry. *Blood*. 1987;70:307.
10. Khurana S, Westley S, Mattson JC, et al. Is it possible to expedite the antiplatelet effect of ticlopidine? (abstract). *Transcatheter Cardiovasc Therapeutics*. 1996;8:65.
11. Berglund U, Lindahl T. Enhanced onset of platelet inhibition with a loading dose of ticlopidine in ASA-treated stable coronary patients. *Int J Cardiol*. 1998;64:215-7.
12. Droste DW, Siemens HJ, Sonne M, et al. Hemostaseologic and hematologic parameters with aspirin and ticlopidine treatment in patients with cerebrovascular disease: a cross-over study. *Journal of Cardiovasc Pharm*. 1996;28:591-594.

## **FIGURE LEGEND**

### **Figure 1.**

Inhibition of platelet aggregation was faster and more complete with ticlopidine 500 mg twice daily. A statistically significant difference ( $16,9 \pm 0,6 \% p < 0,05$ ) was found between the two groups 2 days after initiation of treatment. This difference was maintained until the end of the study (day 5).

### **Figure 2.**

Treatment with ticlopidine 500 mg twice daily produced a faster and more important inhibition of platelet activation than ticlopidine 250 mg twice daily. Statistically significant differences were observed after 2, 3 and 4 days of therapy ( $p < 0,05$ ).

### **Figure 3.**

A trend toward a stronger effect of ticlopidine 500mg twice daily is apparent from day 1 of treatment for both parameters. This effect is clear and statistically significant on all subsequent days of treatment except on Day 5 for platelet activation ( $p = 0,05$ ).

Figure 1.

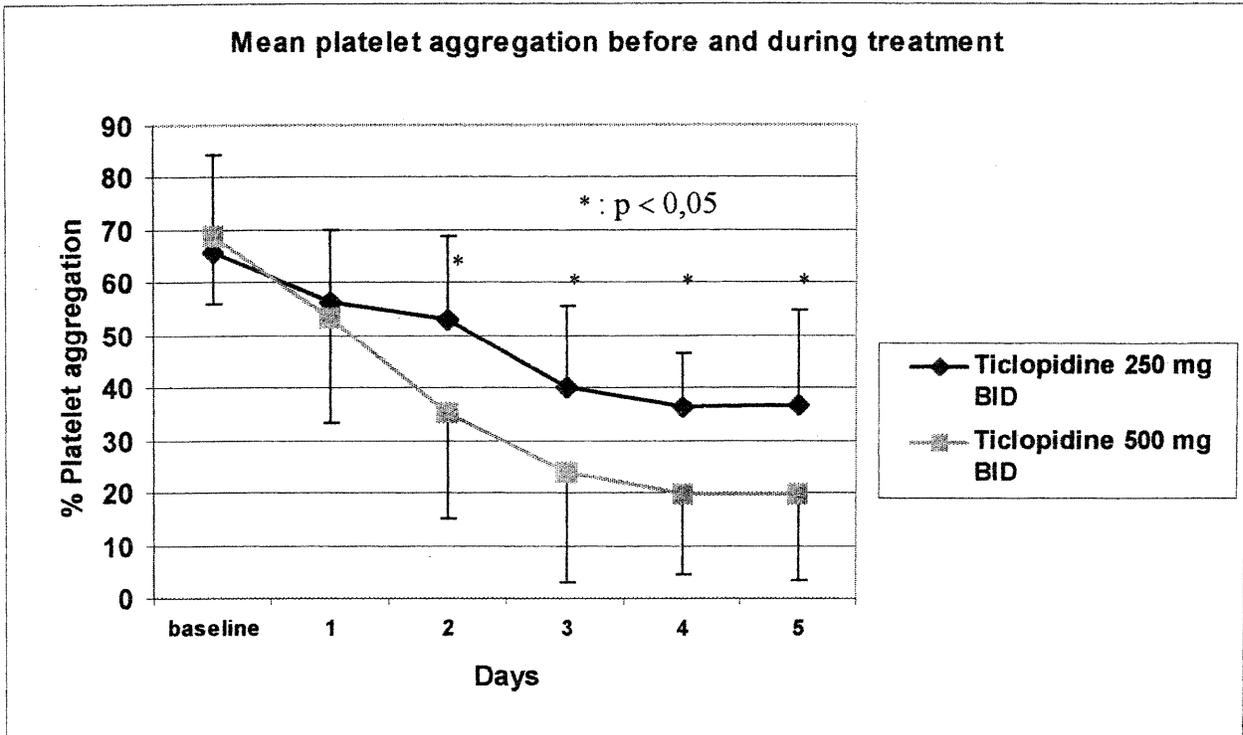


Figure 2.

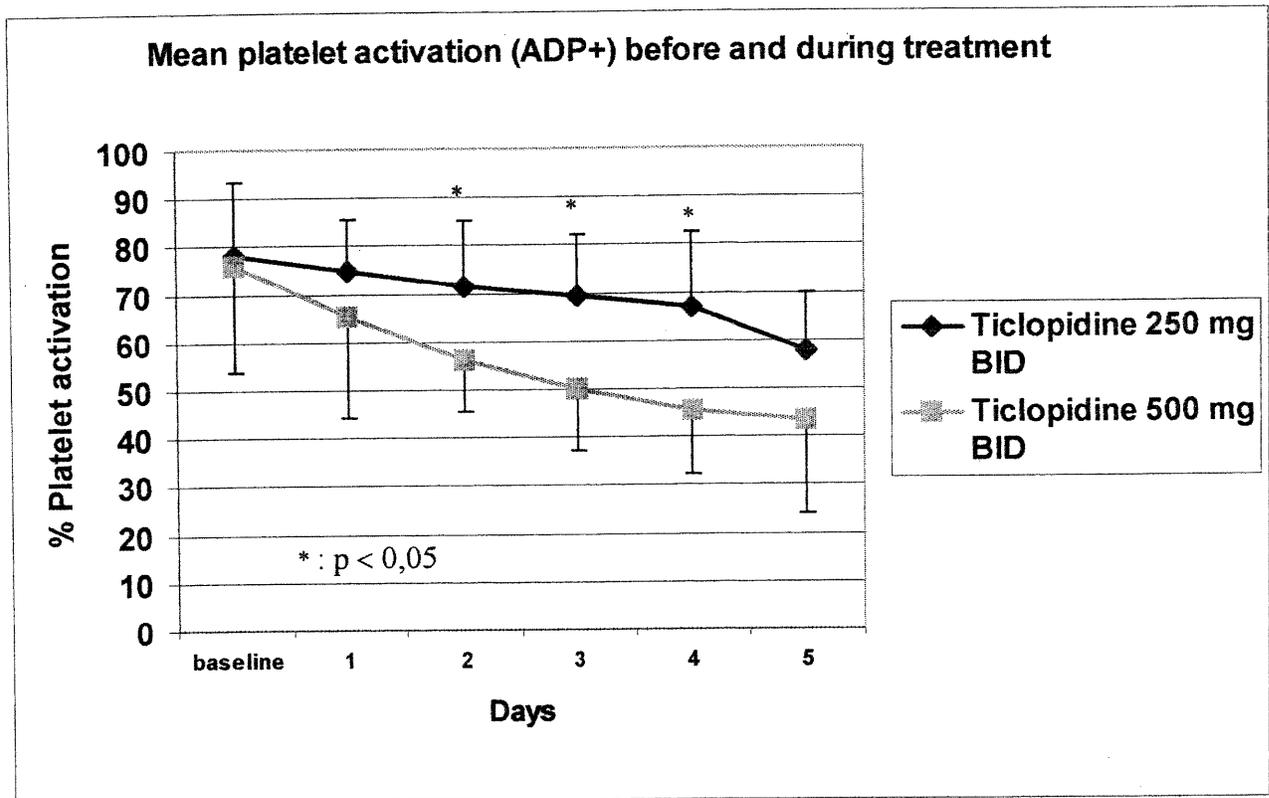
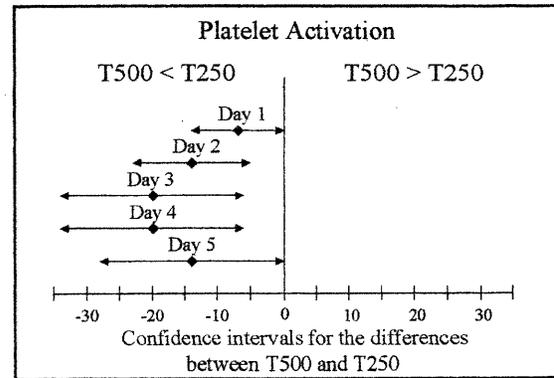
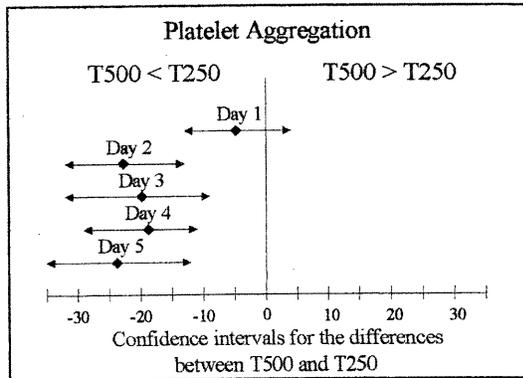


Figure 3.



**Table 1. Baseline Characteristics**

	<b>T250</b>	<b>T500</b>
	<b>n = 8</b>	<b>n = 9</b>
Age (y)	57 ± 13	61 ± 5
Weight (kg)	81 ± 26	79 ± 16
Male (%)	5 (63 %)	8 (89 %)
Previous MI (%)	2 (25 %)	1 (11 %)
Previous angina (%)	6 (75 %)	4 (44 %)
Previous CABG (%)	3 (38 %)	1 (11 %)
Previous PTCA (%)	1 (13 %)	2 (22 %)
Heart failure (%)	1 (13 %)	1 (11 %)
Hypercholesterolemia (%)	5 (63 %)	4 (44 %)
Smokers (%)	2 (25 %)	3 (33 %)
Diabetes (%)	1 (13 %)	1 (11 %)
Hypertension (%)	6 (75 %)	4 (44 %)
ASA (%)	7 (88 %)	3 (33 %)

ASA = acetylsalicylic acid; CABG = coronary artery bypass grafting;

MI = myocardial infarction; PTCA = percutaneous transluminal coronary angioplasty;

T250: ticlopidine 250 mg twice daily; T500: 500 mg twice daily

## 7.0 Discussion

Cette étude randomisée et à double insu suggère qu'un traitement à l'aide de doses élevées de ticlopidine combinée à l'aspirine permet d'accélérer et d'augmenter l'inhibition de l'activation

plaquettaire ainsi que de l'agrégation plaquettaire. Khurana et al avaient déjà suggéré cette hypothèse en réalisant une étude chez 5 sujets sains.<sup>9</sup> Ils avaient alors conclu qu'une dose supérieure de ticlopidine permettait d'accélérer l'inhibition de l'agrégation plaquettaire et que cet effet pourrait être utile lors de l'installation d'endoprothèses coronaires. Dans leur étude, Khurana et al avaient testé des doses de 250 et de 500 mg BID pendant 3 jours chez 5 sujets sains. En utilisant l'ADP à des concentrations de 10 et de 20  $\mu\text{M}$ , une différence statistiquement significative avait été obtenue après 3 jours de traitement. Une étude de Berglund et al publiée en 1998 avait également comme objectif de tester l'hypothèse qu'une dose de charge de ticlopidine pouvait accélérer l'inhibition plaquettaire chez des patients coronariens.<sup>51</sup> Cette étude mesurait l'agrégation plaquettaire *in vitro* suite à l'addition d'ADP chez des patients coronariens randomisés selon deux groupes de traitement. Un groupe recevait une dose de charge de 1500 mg de ticlopidine avec aspirine suivi de la dose usuelle de ticlopidine de 250 mg BID et l'autre groupe recevait un traitement standard de ticlopidine à raison de 250 mg deux fois par jour. Les résultats de cette étude montrèrent une diminution rapide et significative de l'agrégation plaquettaire dès la journée suivant l'administration de la dose de charge. La conclusion de cette étude était qu'une dose de charge de ticlopidine donnée la journée précédant la procédure pourrait diminuer les complications reliées à l'angioplastie avec pose d'endoprothèse.<sup>51</sup> Ces deux études utilisant des doses supérieures de ticlopidine ont par contre le désavantage de ne pas représenter la réalité de la pratique. En effet, l'étude de Khurana n'a utilisé qu'un faible nombre de sujets sains non-traités à l'aspirine, alors que l'étude de Berglund a utilisé une dose de charge que l'on ne voit jamais en pratique. La littérature ne fournit aucune autre preuve quant à l'efficacité et l'innocuité d'une dose supérieure de ticlopidine en combinaison avec l'aspirine.

La présente étude confirme donc les résultats de ces deux études, puisque ici aussi, une différence significative a aussi été obtenue après seulement quelques jours de traitement. Cette étude fournit donc d'autres éléments de réponse permettant de croire qu'une dose supérieure de ticlopidine en combinaison avec l'AAS permettrait d'accélérer l'inhibition de l'activation et de l'agrégation plaquettaire. L'effet d'une dose supérieure de ticlopidine est apparu dans cette étude après seulement 48 heures de traitement. De plus, l'effet d'une double dose de ticlopidine prend

une allure de tout ou rien. En comparant les intervalles de confiance pour la différence entre les résultats à chaque jour de traitement comparativement au temps 0, on constate que l'effet est maximal au jour 2 et que cet effet se maintient du jour 2 jusqu'à la fin du traitement au jour 5 (6.0 Article, Figure 3).

On constate également que les intervalles de confiance sont plus grands pour les résultats d'activation plaquettaire. Ceci résulte d'un moins grand nombre de résultats disponibles pour l'analyse statistique en raison de problèmes techniques en début d'étude et d'erreurs de manipulation. Malgré ces difficultés techniques, la courbe d'activation plaquettaire est très similaire à celle de l'agrégation plaquettaire et permet d'en tirer la même conclusion.

D'autre part, l'activation plaquettaire mesurée sans l'ajout d'ADP (figure 3) est minime. En effet, les deux courbes ne semblent prendre aucune tendance. L'activation plaquettaire diminue dans les 2 groupes lors des 2 premiers jours de traitement mais remonte ensuite lors des jours suivants. Il est très difficile d'expliquer cette remontée des valeurs d'activation plaquettaire lors des derniers jours de traitement étant donné le petit nombre de patients ayant participé à l'étude et la grande variabilité des résultats d'activation plaquettaire. Cet effet n'aurait peut-être pas apparu si un plus grand échantillon avait été utilisé.

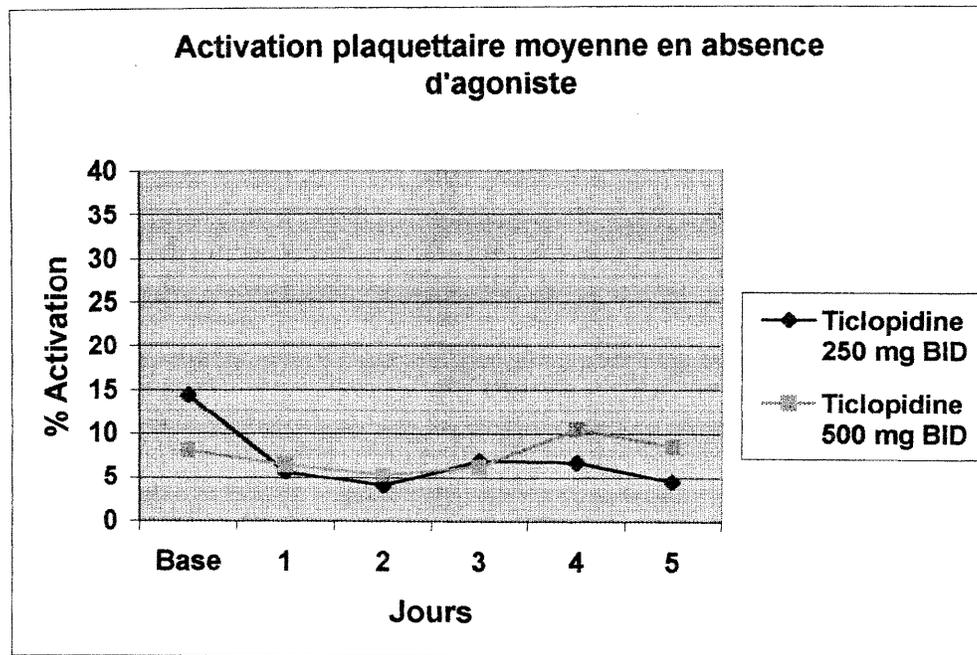


Figure 3.

Le recrutement de patients a dû être arrêté en cours d'étude en raison de la difficulté à obtenir des patients correspondant aux critères d'inclusion. Quelques études majeures recrutaient la même population de patients, ce qui rendait le recrutement très difficile. Malgré le petit nombre de patients randomisés dans cette étude, des résultats statistiquement significatifs ont quand même été obtenus grâce à la variance limitée des résultats. La randomisation a bien fonctionné car les groupes sont comparables, sauf pour l'utilisation d'aspirine comme agent antiplaquettaire avant le début de l'étude. En effet, 88 % des patients du groupe T250 utilisait déjà l'aspirine avant la randomisation contre seulement 33% dans le groupe T500. Cette différence ne semble pas avoir eu d'effets sur les résultats car l'agrégation plaquettaire ainsi que l'activation plaquettaire de base (au jour 0) étaient presque les mêmes dans les 2 groupes. Une diminution de l'agrégation plaquettaire induite par la prise d'aspirine chez les patients du groupe T250 aurait pu avoir des conséquences néfastes sur les résultats de cette étude, puisqu'en théorie, on aurait pu s'attendre à avoir plus de difficulté à observer une diminution de l'agrégation plaquettaire dans ce groupe. Cependant, l'équivalence des valeurs d'agrégation plaquettaire au temps 0 entre les 2 groupes nous permet de croire que l'aspirine consommée avant le début de l'étude par les patients du groupe T250 a eu peu d'effet en ce sens. L'agoniste utilisé lors de cette étude (ADP), est par contre moins sensible pour démontrer une inhibition de l'agrégation

plaquettaire induite par l'AAS. Il aurait été intéressant de mesurer l'agrégation plaquettaire au jour 0 à l'aide de d'autres agonistes comme l'épinéphrine et le collagène.

L'utilisation de doses supérieures de ticlopidine a donc permis une meilleure inhibition de l'activation plaquettaire induite par l'ADP. Ce mécanisme d'activation des plaquettes n'est pas le seul mais il joue un rôle important.

Le but de cette étude n'était pas de vérifier l'innocuité d'une dose supérieure de ticlopidine mais les paramètres hématologiques ainsi que les effets secondaires des patients ont été observés tout au long de l'étude. Un sujet appartenant au groupe T250 a dû être retiré de l'étude pour élévation anormale des enzymes hépatiques. La ticlopidine a été associée à une élévation des enzymes hépatiques pouvant survenir dans les 4 premiers mois de traitement chez environ 3% des patients selon le fabricant. Un sujet du groupe T500 a eu un saignement gastro-intestinal sévère nécessitant des transfusions sanguines. Cet effet secondaire sérieux est survenu 4 jours après la fin du traitement. L'hémoglobine du patient se situait à 116 g/L à la fin de l'étude mais le sujet a subi une angiographie au jour 3 et la combinaison héparine, aspirine et ticlopidine a peut-être permis à un ulcère de stress de se former. Aucune différence statistiquement significative n'a été établie entre les paramètres hématologiques des patients des groupes T250 et T500. Cependant, les globules blancs montrent une tendance vers une diminution progressive des valeurs leucocytaires. Cette diminution des globules blancs pourrait être expliquée par une diminution des neutrophiles puisque l'on observe également une diminution progressive des neutrophiles. Cette tendance débute à partir du deuxième jour de traitement.

## 8.0 Conclusion

Les résultats de la présente étude suggèrent que l'administration d'une dose supérieure de ticlopidine de 500 mg BID combinée à l'aspirine chez des patients coronariens permette d'accélérer et d'augmenter l'inhibition plaquettaire comparativement à l'administration d'une dose usuelle de 250 mg BID. Aucune grande étude randomisée et contrôlée ne nous permet

cependant de connaître l'innocuité d'une telle pratique. De plus, la ticlopidine est de moins en moins utilisée dans la pratique en raison de ses effets secondaires sérieux et surtout depuis qu'un substitut efficace et sécuritaire est disponible. Le clopidogrel a remplacé la ticlopidine en prévention d'événements ischémiques lors de l'angioplastie. Certains praticiens utilisent déjà des doses de charge de clopidogrel chez les patients devant subir une angioplastie avec implantation d'une endoprothèse coronaire. De récentes études ont également démontré l'efficacité et l'innocuité de cette pratique.<sup>52,53</sup>

## Bibliographie

1. Subcommittee on percutaneous transluminal coronary angioplasty. Guidelines on percutaneous transluminal coronary angioplasty: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on assessment of diagnostic and therapeutic cardiovascular procedures. *JACC*. 1988;12:529-545.
2. O'Keefe JH, et al. Multivessel coronary angioplasty from 1980 to 1989: procedural results and long-term outcome. *JACC*. 1990;16:1097-1102.
3. Serruys PW, Herrman JPR, Simon R, et al. A comparison of hirudin with heparin in the prevention of restenosis after coronary angioplasty. *N Eng J Med*. 1995;333:757-63.
4. The EPIC investigators. Use of a monoclonal antibody directed against the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in high-risk coronary angioplasty. *N Eng J Med*. 1994;330:956-961.
5. Sutton JM, Ellis SG, Roubin GS, Pinkerton CA, King SB, Rainer AE, Holmes DR, Kereiakes DJ, Topol EJ. Major clinical events after coronary stenting. The multicenter registry of acute and elective Gianturco-Roubin stent placement. *Circulation*. 1994;89.
6. Serruys PW, deJaegere P, Kiemeneij F, et al. A comparison of balloon-expandable stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 1994;331:489-95.
7. Fischman DL, Leon MB, Baim DS, et al. A randomized comparison of coronary stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. *N Engl J Med*. 1994;331:496-501.
8. Schoemig A, Neumann FJ, Kastrati A, et al. A randomized comparison of antiplatelet and anticoagulant therapy after the placement of coronary artery stents. *N Eng J Med*. 1996;334:1084-1089.
9. Khurana S, Westley S, Mattson JC, et al. Is it possible to expedite the antiplatelet effect of ticlopidine? (abstract). *Transcatheter Cardiovasc Therapeutics*. 1996;8:65.
10. Rosengren A, et al. Clinical course and symptomatology of angina pectoris in a population study. *Acta Med Scand*. 1986;22:117.
11. Tofler GH, Stone PH. Clinical patterns of angina pectoris: how pathophysiology determines therapy. *Postgrad Med*. 1986;80:148.
12. Prinzmetal M, et al. Angina pectoris 1. A variant form of angina pectoris. *Am J Med*. 1959;27:375.
13. DeWood MA, et al. Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction. *N Eng J Med*. 1980;303:897.
14. Kannel WB. Meaning in the downward trend in cardiovascular mortality. *JAMA*. 1982;247:887.
15. Tunstall-Pedoe H. Angina pectoris: epidemiology and risk factors. *Eur Heart J*. 1985;6:1.
16. Pasternak RC, et al. Acute myocardial infarction. In: Braunwald E, ed. *Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine*. Philadelphia: WB Saunders; 1992:1200.
17. Raehl CL, Nolan PE. Ischemic heart disease: Anginal syndromes. In: Young L, Koda-Kimble M, eds. *Applied Therapeutics: the clinical use of drugs*. Vancouver: Applied Therapeutics, Inc; 1995:13.1-13.23.
18. Gensini GC. Coronary arteriography. In: E B, ed. *Heart disease: A textbook of cardiovascular medicine*. Philadelphia: WB Saunders; 1984:304.
19. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis-an update. *N Eng J Med*. 1986;314:488.
20. Lichtlen PR. Pathophysiology of coronary and myocardial function in angina pectoris: important aspects for drug treatment. *Eur Heart J*. 1985;6(suppl. F):11.
21. Goy JJ, Eeckhout E. Intracoronary stenting. *The Lancet*. 1998;351:1943-9.
22. Sigward U, Puel J, Mirkovitch V, et al. Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty. *N Eng J Med*. 1987;316:70-76.
23. Eeckhout E, Kappenberger L, Goy JJ. Stents for intracoronary placement: current status and future directions. *JACC*. 1996;27:757-65.
24. Savage MP, Fischman DL, Schatz RA, et al. Long-term angiographic and clinical outcome after implantation of a balloon-expandable stent in the native coronary circulation. *JACC*. 1994;24:1207-12.
25. Morice MC, Zemour G, Beneviste E, et al. Intracoronary stenting without coumadin: one month results of a French multicenter study. *Cathet Cardiovasc Diagn*. 1995;35:1-7.
26. Colombo A, Hall P, Nakamura S, et al. Intracoronary stenting without anticoagulation accomplished with intravascular ultrasound guidance. *Circulation*. 1995;91:1676-88.

27. Urban P, Sigwart U, Golf S, et al. Intravascular stenting for stenosis of aortocoronary venous bypass grafts. *JACC*. 1994;23:1296-304.
28. Fenton SH, Fischman DL, Savage MP, et al. Long-term angiographic and clinical outcome after implantation of balloon-expandable stents in aortocoronary saphenous vein grafts. *Am J Cardiol*. 1994;74:1187-91.
29. Douglas JS, Savage MP, Bailey ST, et al. Randomized trial of coronary stent and balloon angioplasty in the treatment of saphenous vein graft stenosis (abstract). *JACC*. 1996;27:178A.
30. Sketch MH, Wong SC, Chuang YC, et al. Progressive deterioration in late (2 year) clinical outcome after stent implantation in saphenous vein grafts: the multicenter JJIS experience (abstract). *JACC*. 1995;25:79A.
31. Jang Y, Lincoff AM, Plow EF, Topol EJ. Cell adhesion molecules in coronary artery disease. *JACC*. 1994;24:1591-1601.
32. Becker RC. Antiplatelet therapy in coronary heart disease. *Arch Pathol Lab Med*. 1993;117:89.
33. Owen CA, Bowie EJW, Thompson JH. *The diagnosis of bleeding disorders*. Little, Brown and Co.; 1975.
34. Droste DW, Siemens HJ, Sonne M, et al. Hemostaseologic and hematologic parameters with aspirin and ticlopidine treatment in patients with cerebrovascular disease: a cross-over study. *Journal of Cardiovascular Pharm*. 1996;28:591-594.
35. Petronio AS, Evangelisti L, Gherarducci G, et al. Platelet aggregation behavior in patients treated with ticlopidine. *Drugs Exptl Clin Res*. 1987;13:43-50.
36. Michelson AD. Flow cytometry: a clinical test of platelet function. *Blood*. 1996;87:4925-4936.
37. Shattil SJ, Cunningham M, Hoxie JA. Detection of activated platelets in whole blood using activation-dependant monoclonal antibodies and flow cytometry. *Blood*. 1987;70:307.
38. McTavish D, Faulds D, Goa KL. Ticlopidine; an updated review of its pharmacology and therapeutic use in platelet - dependant disorders. *Drugs*. 1990;40:238-259.
39. Association des Pharmaciens du Canada. *Compendium des produits et spécialités pharmaceutiques*. 35 ed. Toronto: Association des Pharmaciens du Canada; 2000.
40. Hoffman-LaRoche Limitée. Emploi de Ticlid lors d'installation d'extenseur coronaire ; dose de charge. In: Communication personnelle; 1997.
41. Canadian Cooperative Study Group. A randomized trial of aspirin and sulfinpyrazone in threatened stroke. *N Engl J Med*. 1978;299:53-59.
42. Gent M, Blakely JA, Easton JD, Ellis DJ, Hachinski VC, et al. The Canadian American Ticlopidine Study (CATS) in thromboembolic stroke. *Lancet*. 1989;1215-1220.
43. Haas WK, Easton JD, Adams HP, Pryse-Phillips W, Molony BA, et al. A randomized trial comparing ticlopidine hydrochloride with aspirin for the prevention of stroke in high-risk patients. *N Engl J Med*. 1989;321:501-507.
44. Cloarec M, Arcean JC, Caillard P, Gouraud B, Mouren X. Double-blind clinical trial of ticlopidine versus placebo in peripheral atherosclerotic disease of the legs. *Angiologie*. 1988;5:14-20.
45. Boissel JP, Peyrieux JC, Destors JM. Is it possible to reduce the risk of cardiovascular events in subjects suffering from intermittent claudication of the lower limbs? *Thrombosis and Haemostasis*. 1989;62(2):681-685.
46. Janzon L, Bergqvist D, Boberg J, Ericksson I, et al. Prevention of myocardial infarction and stroke in patients with intermittent claudication: effects of ticlopidine. *Journal of Internal Medicine*. 1990;227:301-308.
47. Balsano F, Rizzon P, Violi F, et al. Antiplatelet treatment with ticlopidine in unstable angina. A controlled multicenter trial. The Studio della ticlopidina nell'Angina Instabile group. *Circulation*. 1990;82:17-26.
48. Pompa JJ, Collier BS, Ohman EM, et al. Antithrombotic therapy in patients undergoing coronary angioplasty. *Chest*. 1995;108:486S-501S.
49. Spinler S, Cheng J. Antithrombotic therapy after intracoronary stenting. *Pharmacotherapy*. 1997;17:74-90.
50. Leon MB, Baim DS, Popma JJ, Gordon PC, Cutlip DE, Ho KKL, Giambartolomei A, Diver DJ, Lasorda DM, Williams DO, et al. A clinical trial comparing three antithrombotic-drug regimens after coronary artery stenting. *N Engl J Med*. 1998;339:1665-71.
51. Berglund U, Lindahl T. Enhanced onset of platelet inhibition with a loading dose of ticlopidine in ASA-treated stable coronary patients. *Int J Cardiol*. 1998;64:215-7.
52. Savcic 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 2:15-19.

53. Bertrand ME, Rupprecht HJ, Urban P, et al. Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting. *Circulation*. 2000;102:624-9.

## **Annexe 1**

# **Protocole de l'étude**

**EVALUATION OF THE EFFECT OF HIGHER DOSES  
OF TICLOPIDINE ON PLATELET ACTIVATION AND AGGREGATION  
IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME**

Investigators:

Chantal Pharand, Pharm.D, BCPS

Donald Palisaitis, M.D.

Patrick Bélanger, B.Pharm

November 1997

## 1. BACKGROUND AND RATIONALE

Conventional percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA) may result in complications such as abrupt closure of vessels or late restenosis. This has led to the increased application of mechanical revascularization techniques including intracoronary stents. Several studies like the BENESTENT<sup>1</sup> (Belgium and Netherland Stent trial) study and the STRESS<sup>2</sup> (Stent Restenosis Study) study, demonstrated a 30% reduction in cardiac events including death, myocardial infarction, repeated PTCA and coronary artery bypass graft surgery (CABG). Traditionally, anticoagulation with heparin followed by warfarin was given to reduce the risk of acute and subacute thrombosis. However, increasing bleeding complications and increasing hospital cost related to the prolonged stay to achieve a target INR before discharge have been observed<sup>3</sup>.

The early clinical experience with reduced antithrombotic regimens after intracoronary stenting with ASA and ticlopidine for 3-6 weeks suggests a small acute/subacute thrombosis rate, reduced bleeding complications and reduced hospital stays. A recent study investigated the contribution of ticlopidine to the inhibition of platelet activation after coronary stent placement<sup>4</sup>. The investigators found that the percent of platelets with activated fibrinogen-binding receptors was significantly lower in the ticlopidine + ASA group than in the ASA alone group. They concluded that combined ASA and ticlopidine is superior to ASA alone in inhibiting platelet activation after coronary stenting. Several studies of antithrombotic regimens with aspirin (ASA) and ticlopidine reported a decrease in subacute stent thrombosis to less than 2% using intravascular ultrasound (IVUS) and high-pressure balloon inflation<sup>5,6,7,8</sup>.

Some cardiologists currently use 500 mg twice daily prior to the procedure in order to obtain a faster inhibition of platelet aggregation. It is not known if such a practice effectively enhances the onset of action of ticlopidine and may further reduce the acute/subacute thrombosis rate, emergency CABG and repeat PTCA. Khurana et al. compared 500 mg twice daily of ticlopidine to 250 mg twice daily for 3 days on 5 healthy volunteers<sup>9</sup>. They concluded that loading doses of ticlopidine with 500 mg twice daily hastens the onset of antiplatelet effect and may be useful in intracoronary stenting. Some non-published data from Hoffman-LaRoche suggest that the onset of action may be faster with higher doses but with a small increase in gastro-intestinal disorders<sup>10</sup>. These data also suggest that the inhibitory effect on platelet aggregation is not increased with doses higher than 250 mg twice daily. In this trial, 112 subjects aged 50-75 year old were randomized to 125 mg, 250 mg, 500 mg and 750 mg daily. The median inhibition rates at 15 days were respectively 46,3 %, 64,3 %, 70,0 % and 70,4 %<sup>10</sup>. These data suggest that a dosage of 500 mg twice daily for 5 days would probably not result in a higher inhibition rate and higher bleeding complications.

There is no data concerning doses of 500 mg twice daily and blood dyscrasias. However, in 1529 patients who took part in the largest trial of ticlopidine<sup>11</sup>, neutropenia did not occur during the first month. Neutropenia at such an early stage with doses of 250 mg twice daily appears to be exceedingly rare.

## 2. OBJECTIVES

The objective of this study is to determine whether 5 days of higher doses of ticlopidine (500 mg BID) followed by regular doses would be more efficient than regular doses (250 mg bid) in inhibiting platelet activation and aggregation after coronary stenting in patients admitted with acute coronary syndrome and undergoing PTCA.

## 3. METHODS

### 3.1 PATIENTS

All patients admitted with acute coronary syndrome in whom PTCA followed by coronary stenting is considered will be asked to participate in this study. The study will be performed over a 7-month period between December 1997 and June 1998 at Hôpital du Sacré-Coeur de Montréal.

#### 3.1.1 Exclusion criteria

All patients meeting any of the following criteria will be excluded from the study:

- Contraindication to ticlopidine or aspirin.
- Patient or family history of bleeding diathesis.
- Any clinically significant hematologic disorder including von Willebrand's disease, factor VII deficiency, neutropenia ( $< 2000/\text{mm}^3$ ) or thrombocytopenia (platelet count  $< 150 \times 10^9/\text{L}$  prior to receiving heparin)
- Presence of active pathological bleeding e.g. active peptic ulcer or history of gastric ulcer or duodenal ulcer, within one year prior to screening.
- History (within one year prior to screening) of CVA, arteriovenous malformation or aneurysm.
- Patient has any of the following lab abnormalities at screening: serum creatinine  $> 265 \mu\text{mol/L}$ ; AST or ALT  $> 2 \times$  upper limit of normal range.
- Uncontrolled hypertension defined as systolic pressure  $\geq 170$  mm Hg and/or diastolic pressure  $\geq 110$  mm Hg on three repeated measurements over a 24 hour period prior to initial dose.
- Current hemodynamic instability including hypotension (systolic pressure  $< 90$  mm Hg within 24 hours prior to first doses of study drug), or active pulmonary edema or congestive heart failure (NYHA class IV).
- Major surgery or trauma including gastrointestinal or genitourinary bleeding, cardiopulmonary resuscitation, intracranial or intraspinal surgery within two months prior to screening.
- Current use or inability to discontinue any of the following prior to first dose of study drug: warfarin, NSAIDs (other than aspirin), ticlopidine.
- Any elective surgery, or any dental surgery/extraction occurring seven days prior to administration of study drug or planned within 14 days after the last anticipated dose of study drug.

- Psychosis or emotional or intellectual problems that are likely to limit the validity of consent or result in unwillingness or inability to comply with the protocol procedures.
- Patient was previously admitted to this study.

### **3.2 STUDY DESIGN**

This is a randomized, parallel, controlled study. All patients entering the study will be randomized into two groups. Group A will receive ASA 325 mg PO QD and ticlopidine 250 mg PO BID (Ticlid<sup>®</sup>, Hoffman-LaRoche) within 48 hours of admission. Group B will receive ASA 325 mg PO QD and ticlopidine 500 mg PO BID within 48 hours of admission.

Both groups will receive ticlopidine for at least 5 days. In patients undergoing PTCA, the procedure will be performed at any time as desired by the treating physician. If the angioplasty is to be undergone more than 5 days after initiation of ticlopidine, ticlopidine will be maintained at the standard dose of 250 mg twice daily in both groups. For those patients not undergoing a PTCA, study medication will be stopped after 5 days. All patients (regardless of group assignment) undergoing PTCA with coronary stenting will continue on ticlopidine 250 mg BID and ASA 325 mg QD for 4 weeks.

A peripheral blood sample will be taken to determine complete blood cell count and differential, hemoglobin/hematocrit, platelet count and platelet activation and aggregation starting before initiation of study drug and daily thereafter until the day of the PTCA or for 5 days in those patients not undergoing the procedure. In addition, a complete blood cell count with differential will be performed at 2 and 4 weeks after initiation of ticlopidine in all patients. Five weeks after the beginning of the study, follow-up will be performed in all patients by telephone interview. All personnel involved in performing PTCA, stenting and laboratory analysis will be blinded to study groups.

### **3.3 STUDY PARAMETERS**

#### **3.3.1 Demographics and clinical data**

Usual demographic parameters will be recorded in all patients.

- gender
- age
- smoking status
- prior history of coronary disease (MI, CABG, PTCA)
- hypercholesterolemia : documented or under treatment
- diabetes mellitus : documented or under treatment
- hypertension : documented or consistently high blood pressure during hospitalization
- family history of cardiac disease
- extent of coronary disease as per angiography (when available)
- left ventricular ejection fraction (when available)
- hematology parameters (platelet count, hematocrit/hemoglobin, white blood cell count with

- differential, etc.)
- concomitant drug use (ASA,  $\beta$ -blockers, calcium-antagonists, nitrates, etc..)

### 3.3.2 Clinical endpoints

These clinical events will be assessed over the 5-week period of the investigation to evaluate the study objective:

#### *Cardiac clinical events*

- Death from cardiac events
- Myocardial infarction
- Revascularisation (CABG, PTCA)
- Acute and subacute thrombosis of stented vessels

#### *Undesirable events*

- Major bleeding event, defined as a fall in hemoglobin of  $> 40$  g/L, or the need for transfusion of 2 or more units of blood, or corrective surgery, or both, or an intracranial or major retroperitoneal hemorrhage
- Gastrointestinal side effects (diarrhea, nausea, etc..)
- Neutropenia
- Cutaneous reactions
- Abnormal liver function tests (AST or ALT  $> 2$  x upper limit of normal)

During the study period, patients should be evaluated daily for signs of bleeding. Serial hemoglobin/hematocrit, complete blood counts with differentials and platelet counts should also be performed daily.

### 3.3.3 Criteria for discontinuation

Patients will be withdrawn from treatment for the following reasons:

- Platelet count  $< 100 \times 10^9/L$
- Major bleeding event
- Neutropenia  $< 1200/mm^3$
- Abnormal liver function tests (AST or ALT  $> 2$  x upper limit of normal)
- Development of any other clinically significant adverse event requiring medical intervention based on the opinion of the investigator.
- Patient decision/withdrawal of informed consent
- Investigator's judgment.

#### *Thrombocytopenia*

If the platelet count drops below  $100 \times 10^9/L$ , ticlopidine will be stopped. If the platelet count drops below  $20 \times 10^9/L$ , high-dose intravenous gammaglobulins (1 g/kg during day 1 and day 2) will be administered and/or platelet concentrate will be transfused. The decision to administer steroids will be left to the treating physician.

### ***Neutropenia***

If the neutrophil count drops below 1200/mm<sup>3</sup>, ticlopidine will be stopped. This adverse effect is reversible within 1-3 weeks after drug administration discontinuation.

### ***Bleeding***

Should a major bleeding complication occur during study drug administration, study drug will immediately be discontinued. Packed red blood cells should be transfused as clinically indicated. Transfusion of platelets may also be considered, especially in the presence of thrombocytopenia.

## ***3.4 DETERMINATION OF PLATELET ACTIVATION AND AGGREGATION***

### ***3.4.1 Immunological determination of platelet activation (Figure 1)***

Two different monoclonal antibodies will be used to determine platelet activation. Anti-CD41 monoclonal antibodies (Medicorp, Montreal, Quebec, Canada) will be used to detect the GPIIb/IIIa receptor in its activated and resting state. Anti-CD62P monoclonal antibodies (Medicorp, Montreal, Quebec, Canada) will be used to detect the  $\alpha$ -granule membrane glycoprotein P-selectin (GMP-140), that is exclusively expressed on activated platelets<sup>12</sup>.

To perform cytometric analysis, 1,6 ml of blood will be drawn from a peripheral vein in a polypropylene syringe containing 0,4 ml of citrate phosphate dextrose acid adenine. Immediately after blood collection, citrated blood will be centrifuged at 50g for 10 minutes to obtain platelet-rich plasma. Then, 5  $\mu$ l of this platelet-rich plasma will be added to 45  $\mu$ l of modified Tyrode's buffer containing saturating concentrations of anti-CD41 and anti-CD62P Fluorescein IsoThioCyanate-conjugated antibodies. Nonspecific membrane immunofluorescence will be determined by use of an irrelevant isotype-matched FITC-conjugated IgG. Samples will be incubated in the dark for 15 minutes at room temperature without agitation. Immunolabeled samples will be fixed by adding 1 ml of 0,2% paraformaldehyde in phosphate buffer saline at pH 7,4. The samples will be stored at 4°C for less than 24 hours until flow cytometric analysis is done.

A Facscan (Becton Dickinson, Mountain View, CA, USA) flow cytometer will be used for the cytometric analysis. A minimum of 5000 platelets will be recorded for analysis and samples will be analysed at the flow rate of 200 events (platelets) per second. Antibody binding of anti-CD62P will be measured as the percent of platelets positive for this epitope after subtracting nonspecific fluorescence. In contrast, anti-CD41 antibody binding will be determined as the relative change in fluorescence intensity per platelet. Activated platelets will express both FITC-conjugated antibodies (anti-CD41 and anti-CD62P) and will show a higher fluorescence intensity than resting platelets (anti-CD41 binding only). The percentage of activated platelets will be expressed by the ratio of anti-CD62P presenting platelets on anti-CD41 expression.

### 3.4.2 Platelet aggregation determination

Platelet aggregation will be measured using a four channel Aggregometer (PAP 4, Biodata, Hatboro, PA, USA). Blood samples for platelet aggregability assessment may be collected via separate venipuncture or via heparin lock. For each measurement, two 4,5 ml blood samples will be collected in ambient 5 ml vacutainer tubes containing 0,5 ml of 3,8% sodium citrate. Each tube must be completely filled. Platelet aggregability will be assessed in an optical aggregometer with adenosine 5'-diphosphate (ADP) 2  $\mu$ M as the inducing agent. The extent of platelet aggregation will be expressed as a percent.

## 4. STATISTICAL ANALYSIS

### 4.1 Primary end points

The primary end points of the study are to compare the percentage of activated platelets between the two treatment groups as indicated by anti-CD62P binding and to compare the percentage of platelet aggregation induced by ADP. This will be achieved by comparing the curves of percentage of activation and aggregation in function of time.

### 4.2 Secondary end points

For those patients who will undergo PTCA and stent placement, additional comparisons will be made between the percentage of activation and aggregation before and after the procedure.

The occurrence of these events will be assessed in each groups:

- Cardiac clinical events (including death form cardiac events, myocardial infarction, revascularisation or acute/subacute thrombosis of stented vessels)
- Major bleeding events
- Neutropenia
- Other side effects (including gastrointestinal side effects, cutaneous reactions and abnormal liver function tests)

### 4.3 Analysis

The calculated sample size for this study is 18 patients in each group to give an 80% power to detect a 15% difference in platelet aggregation between the two groups with a 95% confidence interval.

The study will report continuous variables as mean value  $\pm$  standard deviation and test differences by an unpaired *t* test, repeated measures ANOVA and  $\chi^2$  test where appropriate. A

two-tailed  $p$  value  $< 0.05$  will be considered statistically significant.

**REFERENCES**

1. Serruys PW, De jaegere P, Kiemeneij F, et al. A comparison of balloon expandable stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1994;331:489-95
2. Fischman DL, Leon MB, Baim DS, et al. A randomized comparison of coronary stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. *N Engl J Med* 1994;331:496-501
3. Holmes DR jr, Garratt KN. Changing anticoagulation regimens for intracoronary stenting. *J Myocardial Ischemia* 1995;7:162-165
4. Neumann FJ, Gawaz M et al. Antiplatelet effect of ticlopidine after coronary stenting. *J Am Coll Cardiol* 1997;29:1515-19
5. Colombo A, Hall P, Nakamura S, et al. Intracoronary stenting without anticoagulation accomplished with intravascular ultrasound guidance. *Circulation* 1995;91:1676-1688
6. Schomig A, Neumann FJ, Kastrati A, Schulen H et al. A randomized comparison of antiplatelet and anticoagulant therapy after the placement of coronary-artery stents. *N Engl J Med* 1996 ;334 :1084-9.
7. Goods CM, Mathur A et al. Intracoronary stenting using slotted tubular stents without intravascular ultrasound and anticoagulation. *Catheterization & Cardiovascular Diagnosis* 1996 ;39 :341-345
8. Albiero R, Hall P, Itoh A, Nakamura S, Colombo A et al. Results of a consecutive series of patients receiving only antiplatelet therapy after optimized stent implantation. *Circulation* 1997 ;95 :1145-1156
9. Khurana S, Westley S, Mattson JC et al. Is it possible to expedite the antiplatelet effect of ticlopidine ? *Transcatheter Cardiovascular Therapeutics* 1996 ;8(1) :65 Abstract
10. Personal communication
11. Hass WK, Easton JD, Adams HP Jr, et al. A randomized trial comparing ticlopidine hydrochloride with aspirin for the prevention of stroke in high-risk patients. *N eng J Med* 1989 ;321 :501-7.
12. Gawaz M, Neumann FJ, Ott I et al. Changes in membrane glycoproteins of circulating platelets after coronary stent implantation. *Heart* 1996;76:166-172.

## **Annexe 2**

### **Formulaire de consentement**

**FORMULAIRE D'INFORMATION ET DE CONSENTEMENT POUR  
PARTICIPATION À UN PROTOCOLE DE RECHERCHE**

NOM DU SUJET : \_\_\_\_\_

TITRE DU PROTOCOLE : Évaluation de l'effet de doses supérieures de ticlopidine sur l'activation et l'agrégation plaquettaire chez les patients avec syndrome coronarien aigu.

RESPONSABLES DE LA RECHERCHE : Chantal Pharand, Pharm.D.  
Donald Palisaitis, M.D.  
[REDACTED]

COLLABORATEUR : Patrick Bélanger, B.pharm  
[REDACTED]

SITE : Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal  
5400 boul. Gouin ouest  
Montréal, Québec

Votre médecin a déterminé que vous êtes à risque de faire un infarctus du myocarde (crise cardiaque), ou que vous en avez déjà fait un. Dans le traitement de ce type de condition, on procède souvent à une coronarographie avec dilatation à l'aide d'un ballonnet, et la mise en place d'une endoprothèse coronaire est parfois nécessaire.

Une endoprothèse coronaire ou « stent » est un petit tube métallique visant à augmenter le diamètre de l'artère coronaire pour ainsi permettre une meilleure circulation sanguine au niveau du cœur. Certains médicaments doivent être administrés lors de la pose d'un stent pour diminuer les risques de thrombus (caillot) pendant la procédure et dans les jours suivants. L'un de ces médicaments est l'aspirine et l'autre est la ticlopidine. Plusieurs études ont déjà démontré l'efficacité de la ticlopidine lors de l'implantation d'une endoprothèse pour diminuer les risques de thrombose (caillot sanguin dans l'artère).

### **1. BUT DE L'ÉTUDE**

L'objectif de cette étude est de comparer deux doses du même médicament pour déterminer si une dose plus élevée résulte en une diminution plus marquée de l'activation et de l'agrégation des plaquettes sanguines, réduisant ainsi les risques de thrombose. Nous comparerons donc des doses de ticlopidine de 500 mg par jour contre 1000 mg par jour.

## **2. PROTOCOLE DE L'ÉTUDE**

Si vous acceptez de participer à cette étude, vous recevrez l'un ou l'autre des traitements à l'étude, soit 1 comprimé de 250 mg de ticlopidine 2 fois par jour ou bien 2 comprimés 2 fois par jour. Le traitement que vous recevrez sera déterminé au hasard. Toutefois, vous recevrez nécessairement de l'aspirine (325 mg par jour) et tous les autres médicaments que vous prenez déjà seront maintenus. Vous avez donc une chance sur deux (50%) de recevoir l'un ou l'autre des traitements. Le traitement débutera dans les 48 heures suivant votre admission à l'unité de cardiologie. Si vous êtes dans le groupe recevant la ticlopidine à raison de 1 comprimé 2 fois par jour, vous prendrez ce médicament à cette dose pendant au moins 5 jours, jusqu'à ce qu'une décision soit prise à savoir si vous subirez l'intervention ou non. Si vous ne subissez aucune intervention, la ticlopidine sera cessée après 5 jours. Si vous êtes dans le groupe recevant 2 comprimés 2 fois par jour, vous prendrez cette dose pendant au moins 5 jours jusqu'à ce qu'une décision soit prise sur l'intervention, puis la dose sera ensuite diminuée à 1 comprimé deux fois par jour après l'intervention. Ici encore, la ticlopidine sera cessée après 5 jours si aucune intervention n'a été effectuée. Si une intervention fut effectuée, la ticlopidine sera continuée pendant 4 semaines à raison de 1 comprimé deux fois par jour pour les 2 groupes.

Environ une cuillerée à soupe de sang sera prélevée sur vous à chaque jour pendant au moins 5 jours pour vérifier l'état d'activation et d'agrégation de vos plaquettes sanguines. Nous devons donc prélever du sang juste avant de commencer le traitement puis à chaque matin pendant au moins 5 jours consécutifs. Si vous subissez une angioplastie, la dernière prise de sang sera effectuée le lendemain de la procédure.

## **3. EXPÉRIENCE ANTÉRIEURE AVEC LE MÉDICAMENT**

La ticlopidine est déjà utilisée depuis plusieurs années dans le traitement et la prévention d'accidents cérébro-vasculaire. Elle a été utilisée chez des milliers de personnes et son efficacité et sa sécurité ont été démontrées. La ticlopidine est utilisée depuis plusieurs années à travers le monde chez les patients recevant une endoprothèse coronarienne. Plusieurs études démontrent que l'association de l'aspirine et de la ticlopidine serait un traitement supérieur lors d'angioplastie percutanée transluminale coronaire suivie de la pose d'une endoprothèse.

## **4. INCONVÉNIENTS ET RISQUES**

Comme tous les médicaments, la ticlopidine risque de causer certains effets indésirables. Ces effets secondaires sont transitoires et surviennent surtout en début de traitement. Ces effets secondaires sont les suivants et sont énumérés par fréquence d'apparition: diarrhée, nausée, éruption cutanée, douleur gastro-intestinale, neutropénie (diminution des globules blancs), vomissement, flatulence, étourdissement. On recommande d'administrer la ticlopidine aux repas pour diminuer les troubles gastro-intestinaux. L'effet indésirable le plus craint parmi ceux-ci est la neutropénie. La neutropénie est une diminution du nombre de globules blancs du type neutrophile. Elle survient chez environ 2% des patients prenant de la ticlopidine et peut débuter dans les premiers jours de traitement. Cette diminution des globules blancs est réversible, c'est-à-dire que suite à l'arrêt du médicament, les globules blancs vont remonter à leur niveau initial.

Votre médecin vérifiera fréquemment le nombre de neutrophiles dans votre sang pendant le traitement pour s'assurer que ceux-ci ne diminuent pas. Si l'un des effets indésirables ci-dessus se présentait, le traitement pourrait être cessé. Les prises de sang quotidiennes peuvent également vous occasionner des ecchymoses (bleus), une décoloration, une rougeur ou une légère enflure au point de piquûre.

#### **5. BIENFAITS RELIÉS À VOTRE PARTICIPATION À L'ÉTUDE**

Cette étude vise à évaluer l'effet d'une dose plus forte de ticlopidine sur la coagulation après l'implantation d'une endoprothèse coronaire. Il se peut qu'il n'y ait aucun avantage à administrer une dose supérieure à 500 mg par jour de ticlopidine après la pose d'une endoprothèse. Cependant, les données que nous aurons recueillies durant cette étude nous permettront de mieux choisir le traitement idéal pour les patients recevant une endoprothèse comme vous dans le futur.

#### **6. CARACTÈRE CONFIDENTIEL DE L'ÉTUDE**

À moins qu'il en soit légalement ordonné, seuls les investigateurs et la Direction Générale pour la Protection de la Santé auront accès aux documents confidentiels dans lesquels vous serez identifié. De plus, aucun renseignement permettant de vous identifier n'apparaîtra dans aucun rapport ou article scientifique issu de cette étude.

#### **7. INDEMNISATION EN CAS D'INCIDENT**

En acceptant de participer à cette étude, vous ne renoncez à aucun de vos droits ni ne libérez les chercheurs, les organismes, les entreprises ou les institutions impliqués de leur responsabilités légales et professionnelles.

#### **8. PERSONNES-RESSOURCES**

Il est entendu que l'investigateur ou son représentant a répondu à toutes vos questions. Si, au cours de cette étude, vous avez d'autres questions au sujet de cette recherche ou de vos droits en tant que participant, vous pouvez toujours communiquer avec Dr. Donald Palisaitis ou Dr. Chantal Pharand au (514)338-2200.

#### **9. PARTICIPATION VOLONTAIRE ET DROIT DE RETRAIT**

Il est entendu que votre participation à cette étude est volontaire. Il est également entendu que vous pouvez refuser d'y participer ou vous en retirer en tout temps sans pénalité ni préjudice quant aux soins médicaux que vous recevrez ultérieurement. Si vous mettez fin à votre participation, vous ne subirez aucun préjudice tant sur le plan de la qualité des soins que sur celui de votre participation à des études ultérieures. Par ailleurs, l'investigateur peut interrompre votre participation à l'étude sans tenir compte de votre consentement dans les situations suivantes : si vous avez besoin de médicaments additionnels, si vous ne respectez pas le protocole de l'étude, si vous subissez un préjudice attribuable au médicament à l'étude ou pour

des raisons administratives. Quel que soit le moment où vous interrompez votre participation, vous subirez les examens normalement prévus pour la fin de l'étude (analyses de sang) afin d'assurer votre propre sécurité.

### CONSENTEMENT

La nature de l'étude, les procédés à utiliser, les risques et les bénéfices que comporte ma participation à cette étude ainsi que le caractère confidentiel des informations qui seront recueillies au cours de l'étude m'ont été expliqués.

J'ai eu l'occasion de poser toutes les questions concernant les différents aspects de l'étude et de recevoir des réponses satisfaisantes.

Je, soussigné(e), accepte volontairement de participer à cette étude. Je peux me retirer en tout temps sans que cela ne nuise aux relations avec mon médecin et avec les autres intervenants, et ce, sans préjudices d'aucune sorte.

Je reconnais avoir reçu une copie signée de ce formulaire d'information et de consentement.

Nom du sujet (en lettres moulées)	Signature du sujet	Date
Nom du témoin (en lettres moulées)	Signature du témoin	Date
Nom du chercheur (en lettres moulées)	Signature du chercheur	Date