

Сравнително проучване на инхибираната тромбоцитна агрегация при клинична употреба на Acetysal Cardio (Actavis) и Aspirin Protect (Bayer)

Проф. Ива Паскалева¹, г-р Добринка Динева¹, доц. Борислав Георгиев², г-р Вера Байчева², проф. Нина Гочева²

¹Отделение по лабораторна диагностика, Национална кардиологична болница

²Клиника по кардиология, Национална кардиологична болница

Антитромбоцитните медикаменти имат доказана роля в лечението на острите и хроничните стадии на атеротромботичните заболявания, като остър коронарен синдром (ОКС), исхемичен мозъчен инсулт (ИМИ), периферни артериални заболявания (ПАБ), аорто-коронарен байпас¹. Артериалните тромбози се образуват в условията на увеличен *shear stress* в стенозираните съдове – една от причините за активиране на тромбоцитите. Този процес е свързан с образуване на различни агонисти като тромбоксан А2, аденозиндифосфат (АДФ), тромбин, които потенцират тромбоцитната агрегация². Тромбоксан А2 активира тромбоцитите, свързвайки се чрез мембранен G-белтък за TP (тромбоксан/простаноид) рецептор, в резултат на което се постига необратима тромбоцитна агрегация. Пациенти с атеросклеротични лезии имат изходно увеличена склонност към тромбоцитна активация, която съответства на по-високи нива на ескреция на уринарен тромбоксанов метаболит.

Арахидоновата киселина се освобождава от мембранните фосфолипиди в отговор на тромбоцитни агонисти и бързо се метаболизира от

простагландин (PG) H2 синтетазата, известна още като циклооксигеназа (COX). Тромбоцитната COX превръща арахидоновата киселина в PGH2, който метаболизира до нестабилен, биологично активен TXA2 (фиг. 1). Различни стимули (колаген, АДФ, тромбин) индуцират синтеза на TXA2 и освобождаването му от тромбоцитите. Инхибитори на COX потискат тромбоцитната агрегация в присъствие на арахидоновата киселина.

Механизмът на действие на ацетилсалициловата киселина (ASA) е свързан със свойството ѝ трайно да инактивира COX-1 и COX-2, като дифундира в COX-канала и ацетилира сериновия остатък – Ser529 при COX-1 и Ser516 при COX-2³. Инхибирането на COX-1-зависимата тромбоцитна функция може да бъде постигнато с ниски дози ASA, приемани веднъж дневно (фиг. 1). Обратно, инхибирането на COX-2-зависимите патофизиологични процеси (хипералгезия и възпаление) изисква големи дози аспирин. COX-2-медираната PGI2 синтеза до голяма степен не е чувствителна на инхибиране от стандартните антитромбоцитни дози ASA.

Цел на настоящото проучване бе да сравним степента на инхибиране на тромбоцитната агрегация при хронично лечение с Acetysal Cardio 100 mg (Actavis), Aspirin Protect 100 mg (Bayer) и Acetysal Cardio 75 mg (Actavis) при болни със стабилна хронична коронарна болест.

Материал и методи

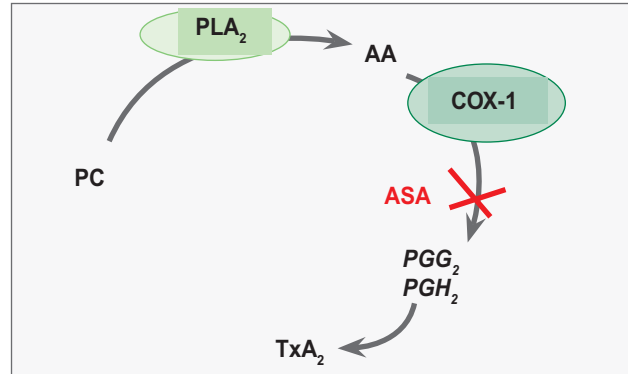
В изследването са включени 30 болни с доказана коронарна артериална болест, които са били на двойна антиагрегантна терапия – клопидогрел 75 mg и ASA. Пациентите са проследявани след 3-месечно лечение с последователно кръстосване на Aspirin Protect 100 mg, Acetysal Cardio 100 mg и Acetysal Cardio 75 mg. В проучването не са включени пациенти след остър инфаркт на миокарда. Измерването на тромбоцитната агрегация е извършено най-малко един месец след перкутанна коронарна интервенция (ПКИ). Провеждането на наблюдението беше одобрено от Комисия по етика към НКБ.

Дизайн на проучването

Aspirin Protect 100 mg/g – един месец	Acetysal Cardio 100 mg/g – един месец	Acetysal Cardio 75 mg/g – един месец
ASPI мест на 30-ти ген	ASPI мест на 30-ти ген	ASPI мест на 30-ти ген

Измерването на тромбоцитната агрегация е извършено чрез импедансна агрегометрия на апарат Mutiplate (Roche). Ефектът на циклооксигеназното инхибиране от ASA се определяше с ASPI-мест с активатор арахидонова киселина. Кръвта беше събирана във вакуумтейнери от 3.0 ml с антикоаулант (25 µg/ml, Repludan, Hirudin, Dupabute) и престояваше 30 min по протокола на изследването преди да бъде определена функцията на тромбоцитите. След автоматично разреждане на пробите 1:2 с 0.9% NaCl в индивидуални тест кювети и автоматично миксиране (800/min) при 37°C за 3 min се добавяше арахидонова киселина (крайна концентрация 0.5 mM). При блокиране на тромбоцитната циклооксигеназа формирането на TxA₂ е инхибирано – наблюдава се слаба тромбоцитна агрегация. Тестът не е чувствителен към ADP-рецепторни антагонисти⁵.

Тромбоцитната агрегация се определя чрез промяната в импеданса между двойката измерващи електроди в тест кюветата (за 6 min) и се отчита като „агрегационни единици“



Фиг. 1. ASA – механизъм на действие (по Lawrence F. Brass and Timothy J. Stalker, Mechanisms of platelets activation, Platelet Immunology, 2008, Cambridge University Press)

(aggregation units, AU) за минута (AU*min) или площ под кривата на агрегация (AUC). Резултатите са представени като условни единици: 1 U=AU*min/10 или като AU*мин. Като „добър“ терапевтичен отговор се приемаха стойности на теста под 80-ти перцентил (ASPI-мест <20 U).

Невъзпроизводимостта между отделните гнезда на апарата е оценена чрез анализ на пет различни проби от здрави доброволци на петте канала на агрегометъра и за ASPI теста беше 4.88% при допустима за метода <12%. Невъзпроизводимостта във времето е оценена чрез анализ на пет проби с двойни определяния от здрави доброволци на 30-та, 60-та и 120-та минута от взимането. Полученият общ вариационен коефициент за ASPI теста е 5.82% при допустим <12%⁷.

Системата MULTIPLATE притежава въграден електронен контрол, с който се контролира функционирането на електронната част на апарата – детекция, температурен контрол, контрол на процеса на миксиране с бъркалката. Той се извършва рутинно в началото на всеки ген при стартирането. Данните от електронния контрол се записват автоматично, съхраняват се и могат да бъдат отпечатани. Това представлява въграден качествен контрол, осигуряващ надеждност на резултатите.

Статистическите анализи са извършени посредством софтуерен продукт SPSS 16.

Резултати

Използвайки бързия и стандартизиран Mutiplate агрегометър, първоначално извършихме определяне на референтните граници на ASPI теста, съобразно препоръките на Guideline 2008, документ H 58-A на CLSI.

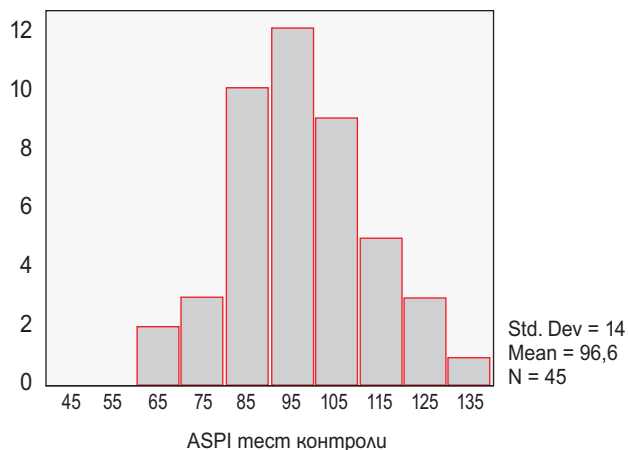
Подбраната контролна група включва 45 здрави доброволци, от които 22 мъже и 23 жени, на средна възраст 43 ± 25 години, в интервал от 18 до 68 години. Контролната група се състоеше от здрав персонал и амбулаторни пациенти за профилактични изследвания. Те не бяха приемали медикаменти и храни, повлияващи функцията на тромбоцитите в последните 14 дни преди тестването. Здравите доброволци показаха много добра агрегация като стойностите – медиана 94 U (940 AUC), референтни граници 70–122 U (5–95° перс). Разпределението на единичните стойности е посочено на фиг. 2.

В предишно проучване, включващо 445 пациенти, приемащи 100 mg ASA/дневно^{4, 6}, медианата на стойностите на ASPI теста бе 14 U, а средната стойност на ASA-индуцирана тромбоцитна агрегация при „добър терапевтичен отговор“ бе ASPI тест 12 U. Като разграничителна стойност за „недостатъчен терапевтичен отговор“ бяха определени стойности над 80-ти перцентил – ASPI тест ³ 20 U (200 AUC), отразени в табл. 1 и фиг. 3.

Сравняването на тромбоцитното инхибиране в групата от 30 болни (13 мъже и 17 жени) на възраст 63 ± 8 години се извършваше след преминаване от хронично лечение (минимум един месец) с Aspirin Protect 100 mg, превключване за един месец на Acetysal Cardio 100 mg и измерване в края на периода на ASPI теста (30-ти ден) и последващо превключване на Acetysal Cardio 75 mg (30-ти ден) и отново отчитане на тромбоцитното инхибиране чрез ASPI тест. Клиничната характеристика на пациентите е представена с табл. 2. Сравняването на средните стойности на ASPI тестовете не показва различия при

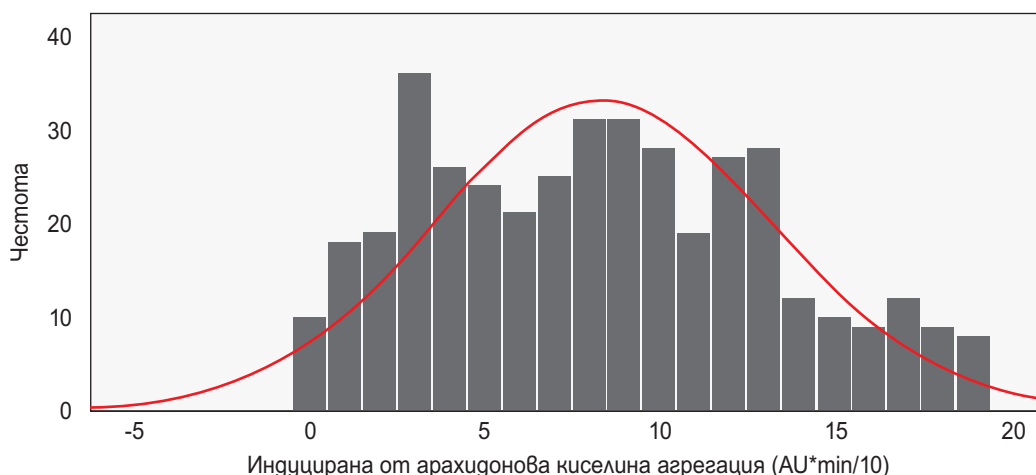
Показател	ASPI тест обща група	ASPI тест при добър отговор	ASPI тест при слаб отговор
Брой	445	356	89
Средна стойност (U)	16.42	12.13	37.85
Медиана (U)	14.00	12.00	29.00
Станд. отклонение (U)	13.14	4.94	19.11
Минимална стойност (U)	1	1	21
Минимална стойност (U)	101	20	101
80-ти перцентил (U)	20	17	53

Табл. 1. Стойности на ASPI тест при добър и слаб отговор



Фиг. 2. Хистограма на разпределение на стойностите от ASPI test в контролната група

лечението с трите дозови режима, съответно ASPI тест 7.7 U (Aspirin Protect 100 mg), ASPI тест 7.5 U (Acetysal Cardio 100 mg) и ASPI тест 8.0 U (Acetysal Cardio 75 mg), представени в табл. 3 и като box-plot анализ, представен с разпределение между 5-ти и 95-ти перцентил (фиг. 4). Съпоставя



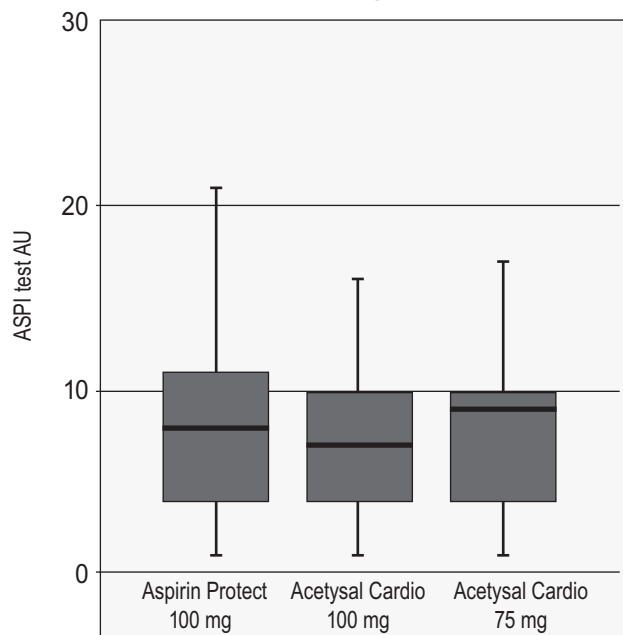
Фиг. 3. Хистограма на разпределение на ASPI теста при „добър терапевтичен отговор“. Потисната, индуцирана от арахидонова киселина агрегация, определена чрез ASPI тест

вимо е тромбоцитното инхибиране при трите дозови режима с това в групата с добър отговор (n=356), което съответства на адекватен аспиринов отговор (фиг. 5).

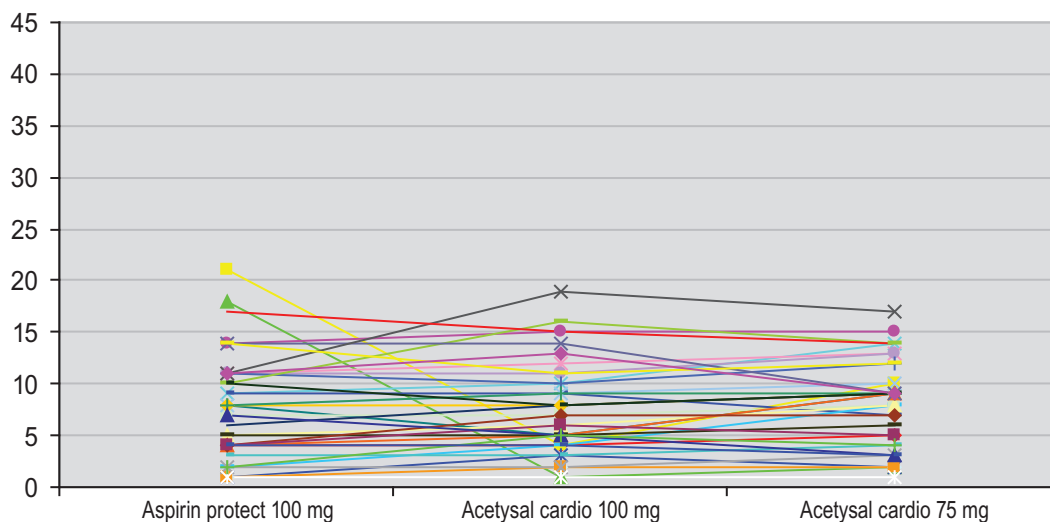
Пол	мъже	13
	жени	17
Възраст	години	63±8
ИБС	1-клонова	13
	2-клонова	14
	3-клонова	3
Брой тромбоцити	X 10 ⁹ L	278±75

Табл. 2. Клинични характеристики на проследената група от 30 пациенти

Индивидуалният отговор към различните терапевтични режими при един и същи пациент не показват разлики при проследяването (фиг. 6).



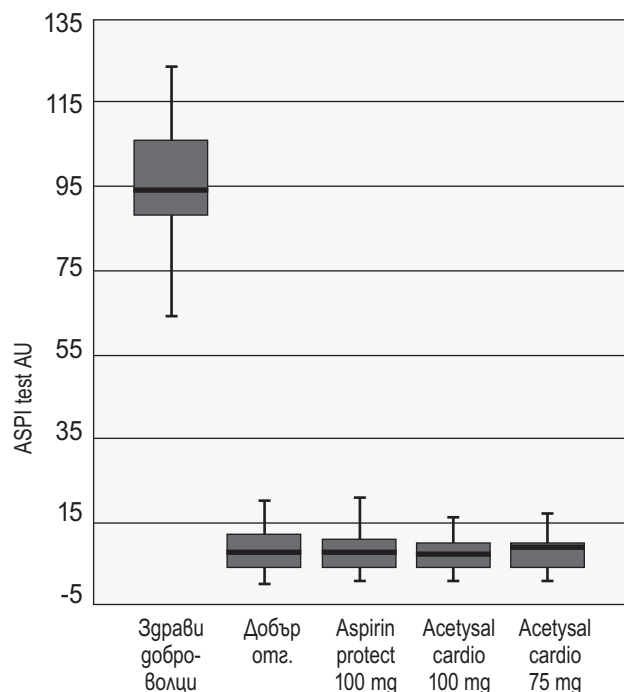
Фиг. 4. Box plot анализ на стойностите на ASPI теста при трите дозови режима



Фиг. 6. Индивидуалните стойности на ASPI теста за всеки отделен пациент по време на тримесечното наблюдение

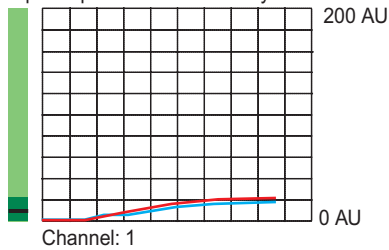
Показател	ASPI месм Aspirin Protect 100 mg/d	ASPI месм Acetysal Cardio 100 mg/d	ASPI месм Acetysal Cardio 75 mg/d
Брой	30	30	30
Средна стойност (U)	7.73	7.51	8.0
Станд. отклонение (U)	5.12	4.58	4.28
Минимална стойност (U)	1	1	1
Максимална стойност (U)	21	19	17
Статистическа значимост	n. s. (<0.776)		n. s. (<0.191)

Табл. 3. Стойности на ASPI теста при трите терапевтични режима



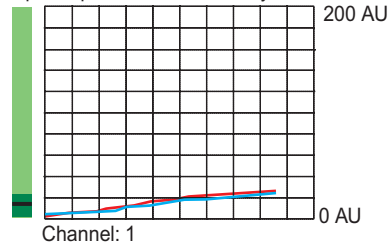
Фиг. 5. Box-plot анализ на стойностите на ASPI теста при здрави доброволци, група с „добър терапевтичен отговор“ при лечение с ASA 100 mg/d и сравняваните три терапевтични режима

Multiplate® platelet function analysis - V2.03.11



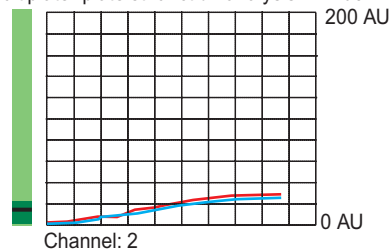
Patient ID: J.V.D. nar 22
476895
ASA 75mg
Test name: ASPI Test (TI blood), Inhib., V1
Start of test: 14. Dec. 2011, 09:34:34 (Measurement duration 6:00 мин.)
Area under the curve: 9 U (0-20)
Aggregation: RUO: 20.6 AU
Velocity: RUO: 3.6 AU/мин.
Dierence from mean: 11.702%
Correlation coecient: 0.995

Multiplate® platelet function analysis - V2.03.11



Patient ID: J.V N 22
517289
Test name: ASPI test (TI blood), Inhib., V1
Start of test: 14. Jun. 2012, 10:51:52 (Measurement duration 6:00 мин.)
Area under the curve: 10 U (0-20)
Aggregation: RUO: 22.1 AU
Velocity: RUO: 3.7 AU/мин.
Dierence from mean: 6.481%
Correlation coecient: 0.993

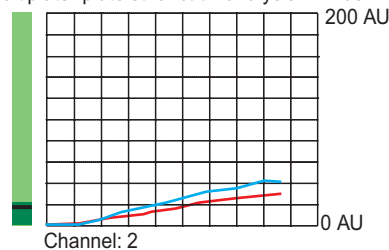
Multiplate® platelet function analysis - V2.03.11



Patient ID: J.D.V. 540071
N22
Test name: ASPI test (TI blood), Inhib., V1
Start of test: 16. Oct. 2012, 10:15:26 (Measurement duartion 6:00 мин.)
Area under the curve: 13 U (0-20)
Aggregation: RUO: 27.4 AU
Velocity: RUO: 3.9 AU/мин.
Dierence from mean: 5.660%
Correlation Coecient: 0.998

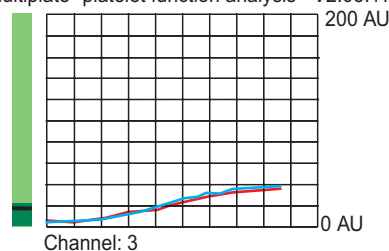
Фиг. 7. ASPI тестове при пациент на 10-месечно лечение с Acetysal Cardio 75 mg

Multiplate® platelet function analysis - V2.03.11



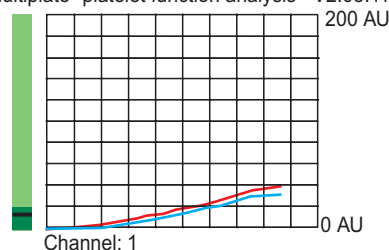
Patient ID: N.Z. nar 22
476903
Test name: ASPI test (TI blood), Inhib., V1
Start of test: 14. Dec. 2011, 09:45:00 (Measurement duration 6:00 мин.)
Area under the curve: 15 U (0-20)
Aggregation: RUO: 36.0 AU
Velocity: RUO: 4.4 AU/мин.
Dierence from mean: 18.239%
Correlation coecient: 0.998

Multiplate® platelet function analysis - V2.03.11



Patient ID: N.S. N 22
484916
Test name: ASPI test (TI blood), Inhib., V1
Start of test: 23. Jan. 2012, 10:48:12 (Measurement duration 6:00 мин.)
Area under the curve: 15 U (0-20)
Aggregation: RUO: 34.9 AU
Velocity: RUO: 4.9 AU/мин.
Dierence from mean: 2.970%
Correlation coecient: 0.998

Multiplate® platelet function analysis - V2.03.11



Patient ID: N.S. N22
498 022
Test name: ASPI test (TI blood), Inhib., V1
Start of test: 21. Mar. 2012, 10:28:41 (Measurement duration 6:00 мин.)
Area under the curve: 13 U (0-20)
Aggregation: RUO: 37.5 AU
Velocity: RUO: 4.9 AU/мин.
Dierence from mean: 12.727%
Correlation coecient: 0.997

Фиг. 8. Проследяване на ASPI тестове при 6-месечно лечение с Acetysal Cardio 75 mg

Проследяването на тромбоцитното инхибиране в продължение на една година с Acetysal Cardio 75 mg показва стабилно ниво на потискане на тромбоцитната агрегация, представено с фиг. 7 и 8.

Обсъждане

Счита се, че 30–60 mg ASA дневно инхибира синтеза на серумен тромбоксан A2 без да засяга простациклиновата синтеза, и напълно потиска тромбоцитната агрегация⁸. Препоръчително е да не се надхвърлят 325 mg дневно, като изглежда оптималната доза е 60–80 mg. Въз основа на рандомизирани проучвания, началната доза при пациенти със симптомите на ОКС трябва да бъде между 162 и 325 mg⁹. Приемайки дозово-свързания риск от кръвене, желателно е използването на ниски дози по време на хроничната фаза на лечение на ИБС – обичайно се предписва ентеросолвентна таблетка от 75 до 100 mg¹⁰. Проучването Swedish Angina Pectoris Aspirin Trial при 2035 пациенти със стабилна ангина пекторис без остър миокарден инфаркт показва, че ASA 75 mg намалява появата на миокарден инфаркт и внезапна смърт с 34% vs плацебо.

Страничните явления при употреба на ASA са най-често гастроинтестинални ерозии на лигавицата на стомаха, язви, хеморагии, анемии и намаляват при използване на ниски дози (75–162 mg/дн.). Мета-анализ, обединяващ 31 клинични проучвания, сравнява риска от хеморагии при ниска (<100 mg), умерена (100–200 mg) и висока (>200 mg) доза ASA. Ниските дози ASA са свързани с най-нисък риск, умерените дози водят до относително по-висока честота на хеморагични събития – особено

малки, гастроинтестинални, и общ брой кръвоизливи и инсулти¹¹.

Използването на ADP-инхибитори като клопидогрел, празугрел или тикагрелор с ASA в комбинирана двойна антитромбоцитна терапия (ДАТ) или прилагането на тройна антитромбоцитна терапия (антитромбоцитна и антикоагулантна) поставят необходимостта от избор на по-ниска доза ASA 75–81 mg/дн.¹².

Лабораторното мониториране на индивидуалния отговор към ASA е от полза при титриране на дозата му с цел минимизиране на риска от тромбоза или кръвене. Намерените от нас данни за сравнимо инхибиране на тромбоцитната агрегацията при употреба на 100 mg Aspirin Protect (ASPI месг 7.7 U) с тези на 100 mg Acetysal Cardio (ASPI месг 7.5 U) и Acetysal Cardio 75 mg (ASPI месг 8.0 U), подкрепят хипотезата, че ниски дози (Acetysal Cardio 75 mg) са желателни за използване по време на хроничната фаза на лечение на ИБС, поради съпоставима ефективност и по-нисък риск от хеморагични събития.

Изводи

Наличието на регистриран у нас Acetysal Cardio 75 mg (Actavis), постигнатото „желано“ прицелно инхибиране на тромбоцитната агрегация и гостъпната стойност на терапията би имало клинични ползи по време на хроничната фаза на лечение на атеротромбозните заболявания. Индивидуалният отговор към Aspirin Protect 100 mg и Acetysal Cardio 100 mg е напълно съпоставим, изменен чрез инхибираната тромбоцитна агрегация.

Книгопис

1. Angiolillo DJ, M. Ueno, Sh. Goto. Basic principles of platelet biology and clinical application. – *Circ J*, 2010, № 74, 597–607.
2. Maree AO, D. J. Fitzgerald. Variable Platelet Response to Aspirin and Clopidogrel in Atherothrombotic Disease. – *Circulation*, 2007, № 115, 2196–2207.
3. Catella-Lawson F, M. P. Reilly, S. C. Kapoor, A. J. Cucchiara, S. DeMarco, B. Tournier, S. N. Vyas, G. A. FitzGerald. Cyclooxygenase inhibitors and the antiplatelet effects of aspirin. – *N Engl J Med*, 2001, № 345, 1809–1817.
4. Паскалева И. Антитромбоцитни медикаменти. Класификация, механизми на действие, лабораторна оценка на терапевтичния отговор. – Във: Фармакотерапия в кардиологията. Изд. „Арбилис“, 2012, 15–41.
5. Паскалева И., Д. Динева, Н. Гочева. Оценка на антитромбоцитна терапия. – В: Профилактика, диагностика, терапия – актуални проблеми 2007. Гочева Н., Георгиев Б. (п/р). София: Изд. „Хавитус“, 2008, 99–106.
6. Динева Д., И. Паскалева, Н. Гочева, В. Байчева, Б. Георгиев. Тромбоцитен отговор при лечение с клопидогрел и аспирин при пациенти с имплантирани коронарни стентове, оценен чрез импедансна агрегометрия на апарат Multiplate. – *Българска кардиология*, 2011, № 2, 17–25.
7. Динева Д. Мониториране на тромбоцитна активност чрез импедансна агрегометрия при лечение с клопидогрел и/или с аспирин при високо рискови пациенти с коронарна артериална болест. Автореферат, 2013, 1–52.

Пълната библиографска справка е на разположение в издателството и може да бъде представена при поискване.