

ВЛИЯНИЕ ТЕРАПИИ КЛОПИДОГРЕЛЕМ НА ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ ОСТРОМ КОРОНАРНОМ СИНДРОМЕ

Рахимова Р.А., Аляви Б.А., Кенжаев М.Л., Давлатова Л.Ш.

Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи, Ташкент

Резюме

Работа предпринята с целью исследования состояния клеточного звена гемостаза при остром коронарном синдроме, а также сравнительной оценки влияния различных вариантов антиагрегантной терапии (клопидогрель, аспирин и их комбинация) на показатели агрегационной активности тромбоцитов и эритроцитов. В исследование включено 98 больных острым коронарным синдромом. Больные были разделены на группы в зависимости от применяемого антиагрегантного препарата. Оценивали агрегационную активность тромбоцитов, морфофункциональное состояние эритроцитов в динамике: в момент поступления в клинику, на 3–4, на 6–7 сутки. Высокая эффективность антиагрегантной терапии выявлена в группе, получавшей антиагреганты в комбинации. В данной группе больных было достигнуто наибольшее угнетение показателей агрегации тромбоцитов, а также улучшение морфологии эритроцитов (преобладание дискоцитов и обратимо-деформированных форм эритроцитов) уже к третьим суткам исследования с возрастанием эффекта к седьмым суткам. Достоверным эффектом в отношении изучаемых показателей обладали все три варианта антиагрегантной терапии, но лучший эффект был отмечен при применении клопидогреля в качестве единственного антиагреганта, и особенно — в комбинации с аспирином.

Таким образом, показаны преимущества комбинированной терапии (клопидогрель и аспирин) в отношении показателей клеточного звена гемостаза, что, вероятно, связано с более полным блокированием агрегации за счет различных точек приложения данных препаратов.

Ключевые слова: острый коронарный синдром, агрегация тромбоцитов, антиагрегантная терапия, структурно-функциональное состояние эритроцитов, клопидогрель.

В основе острых коронарных синдромов лежит единый патофизиологический процесс, заключающийся в разрыве или эрозии атеросклеротической бляшки с различной степенью тромбообразования в месте развившегося дефекта и дистальной окклюзией пораженного коронарного сосуда [1]. К макро- и микротромбообразованию приводят механизмы, стимулирующие агрегационную активность тромбоцитов и эритроцитов — наличие ускоренного, турбулентного тока крови в суженном атеросклеротической бляшкой участке сосуда, что способствует повреждению эндотелия с развитием эндотелиальной дисфункции и «обнажению» коллагена, одного из главных факторов агрегации и адгезии тромбоцитов. Тромбоциты вступают в контакт с субэндотелиальным слоем, в частности с главным стимулятором адгезии — коллагеном, образуют отростки с образованием тромбоцитарных конгломератов (агрегация) и приклеиваются (адгезия) на этих участках, образуя белый тромб [2,3,4]. После прикрепления тромбоцитов к поверхности поврежденного эндотелия происходит их склеивание друг с другом, то есть процесс агрегации тромбоцитов.

Стимулом к агрегации являются многочисленные агонисты, циркулирующие в кровотоке, содержащиеся в атеросклеротической бляшке, субэндотелии, выделяющиеся из тромбоцитов при адгезии и агрегации — тромбин, тромбоксан A_2 , фактор активации тромбоцитов, серотонин, АДФ, норадреналин [5,6]. Помимо тромбоцитов АДФ содержится в эритроци-

тах, которые и являются основным его источником. АДФ освобождается из эритроцитов при их разрушении в турбулентных потоках, возникающих в суженных атеросклеротическими бляшками артериях. Эти процессы вызывают вторую волну агрегации. [7]. Применение в таких случаях препаратов, целенаправленно подавляющих избыточную активность тромбоцитов, приводит к уменьшению вероятности тромбоза артерий [8]. В прогностическом аспекте весьма важным является максимально раннее начало антитромбоцитарной терапии, что позволит остановить тромбогенный каскад.

Стандартом терапии ОКС признан аспирин, который ингибирует циклооксигеназу -1 и блокирует образование тромбоксана A_2 — одного из основных индукторов агрегации, а также мощного вазоконстриктора, высвобождающегося из тромбоцитов при их активации. В последние годы активно обсуждается проблема резистентности к терапии АСК, под которой понимают неспособность АСК у некоторых больных в должной мере подавлять функцию тромбоцитов, снижать синтез тромбоксана A_2 и/или удлинять время кровотечения. Распространенность резистентности к терапии АСК, по данным различных исследований, составляет от 10 до 45 % [9]. На сегодняшний день в качестве антитромбоцитарной терапии все более широко применяется класс блокаторов рецепторов АДФ — одного из наиболее мощных активаторов тромбоцитов. Этот эффект достигается и при применении клопидогреля, селективно и необратимо

связывающегося с тромбоцитарными рецепторами АДФ [10]. В результате рецепторы блокируются, устраниваются стимулированные АДФ угнетение аденилатциклазы, уменьшение содержания циклического аденозинмонофосфата, усиление экспрессии гликопротеиновых рецепторов IIb/IIIa и агрегация тромбоцитов [11].

Цель исследования – изучение функционального состояния тромбоцитов и эритроцитов у больных ОКС, а также исследование влияния различных вариантов антиагрегантного воздействия – аспирин, клопидогрель и оба препарата в комбинации – на показатели агрегации тромбоцитов и эритроцитов в динамике.

Материал и методы

В исследование вошли 98 больных ОКС, поступивших в отделение кардиологической реанимации Республиканского научного центра экстренной медицинской помощи. Всем больным проводилось исследование агрегационной активности тромбоцитов и структурно-функционального состояния эритроцитов. Исследование проводилось трехкратно: в момент поступления, на 3–4 сутки, и на 6–8 сутки. Средний возраст больных составил 59.4 ± 12.1 лет. Из 98 больных мужчин – 67 (68,3%), женщин – 31 (31,7%). В зависимости от получаемой антиагрегантной терапии больные были разделены на три основные группы: 1^ю группу составили 28 больных, которые получали клопидогрель в нагрузочной дозе 300 мг с переходом на поддерживающую – 75 мг/сут на фоне стандартной терапии бета – блокаторами, ингибиторами АПФ, нитратами и гепарином; 2^ю группу составили 40 больных, получавших клопидогрель и аспирин; 3-я группа – 30 больных, получавших аспирин на фоне стандартной терапии. Контрольную группу составили 18 здоровых добровольцев (9 мужчин и 9 женщин) без признаков патологии сердечно-сосудистой системы.

Для изучения агрегации тромбоцитов взятие крови осуществляли в утренние часы, натощак, непосредственно в пробирку с силиконовым покрытием, с 3,8% цитратом натрия в соотношении 9:1; АДФ – индуцированную агрегацию тромбоцитов оценивали на анализаторе агрегации тромбоцитов АТ-02 по методу Борна. Для индукции агрегации использовали АДФ в разведении 0,1 (пороговая концентрация) и 0,5 (оптимальная концентрация) ммоль/л.

Структурно-функциональное состояние эритроцитов оценивалось с использованием световой микроскопии методом ЭМТК (экспресс методика «толстой» капли), разработанным в патологической лаборатории Республиканского специализированного центра хирургии им. акад. В. В. Вахидова для изучения дискретных структур (патент РУз № МКИ 6А 61 В 10/00) – регистрировалось процентное соотно-

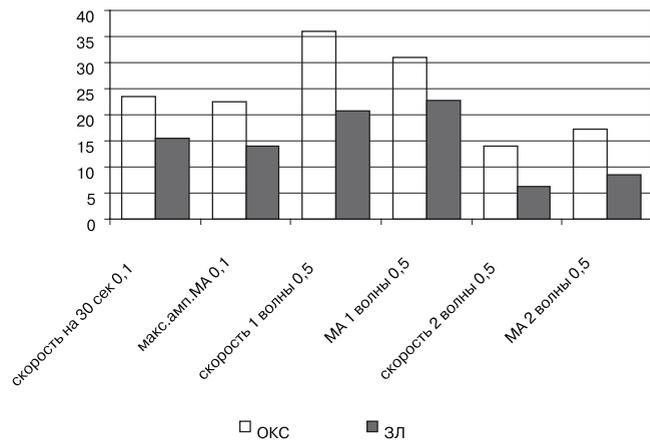


Рис. 1. Агрегационная активность тромбоцитов у больных ОКС и здоровых лиц (в баллах).

шение эритроцитов дискоидной формы и деформированных клеток с учетом обратимо деформированных и необратимо деформированных форм (программа «Экспресс диагностика форм эритроцитов», патент № ED-5–05). Для проведения морфометрических исследований с помощью световой микроскопии образцы крови в количестве 0,5 мл фиксировали в 1,5–2 мл 2,5% раствора глутарового альдегида. Также по балльной системе в поле зрения светового микроскопа оценивалась способность эритроцитов образовывать агрегаты – их величину и разветвленность. Сумма баллов, полученная при анализе микрофотографий по критериям системы, представляет собой показатель агрегации эритроцитов.

Полученные в результате исследования данные были внесены в сводные таблицы и обработаны с использованием редактора Microsoft Excel для Windows-2000. Определялись средние арифметические величины и стандартное отклонение. Достоверность различия межгрупповых показателей рассчитывалась для параметрических величин с использованием парного, непарного и двухвыборочного критериев Стьюдента для 2-х групп сравнения и ANOVA для 3-х и более групп.

Результаты

Исходно у больных ОКС наблюдались достоверно большие скорость и амплитуда всех исследуемых процессов агрегации – и обратимой (индуцированной пороговой концентрацией АДФ), и необратимой (I волна индуцированной оптимальной концентрацией АДФ), а также II волны агрегации, характеризующей секреторную функцию тромбоцитов (индуцированной собственной АДФ тромбоцитов) (рис.1). Время достижения максимального коэффициента светопропускания при всех трех исследуемых процессах агрегации было достоверно ускорено. Также у 43 больных ОКС (44%) была обнаружена II волна агрегации при использовании пороговой концентрации АДФ, что

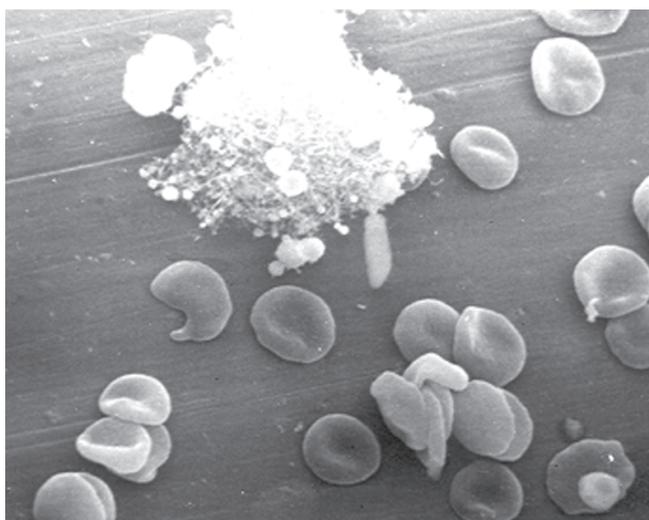


Рис. 2. Доминирование патологических форм эритроцитов у пациентов с ОКС. СЭМ X 4000.

свидетельствует о повышенной функциональной активности клеток и готовности к секреции гранул АДФ при воздействии меньших, чем физиологические, стимулов с развитием необратимой агрегации. В группе здоровых лиц II волна агрегации при использовании пороговой концентрации АДФ не была выявлена.

Исследование морфологических особенностей эритроцитов показало, что у здоровых лиц в основном встречались дискоциты, изредка встречались стоматоциты и эхиноциты. У больных ОКС выявлено существенное изменение формы эритроцитов. При этом доминировали патологические формы — такие, как эхиноциты и стоматоциты, наблюдалось появление необратимodeформированных форм (рис.2). Доля дискоцитов оказалась значительно снижена. Стоматоциты и эхиноциты формировали характерные скопления с прядями фибрина. Эти скопления с присоединяющимися тромбоцитами могут служить микроэмболами, способными обтурировать просвет сосуда. Исходно у больных ОКС обнаруживалось преобладание деформированных форм эритроцитов — как обратимodeформированных, так и необратимodeформированных. Кроме того, подавляющее большинство клеток было в составе агрегатов.

Агрегационная активность эритроцитов, оцениваемая по характеру агрегатов при световой микроскопии, у больных ОКС была значительно выше, чем в группе здоровых лиц.

На 3 и 6–7 сутки было проведено контрольное исследование агрегационной активности тромбоцитов. Было выявлено достоверное снижение скорости и максимальной амплитуды волны агрегации при добавлении пороговых концентраций АДФ (обратимая агрегация) на 3 сутки терапии с дальнейшим усилением эффекта на 6–7 сутки. При этом абсолютные значения скорости и амплитуды волны агрегации на 3

сутки не отличались между группами, а на 6–7 сутки скорость волны обратимой агрегации в группе аспирина оказалась достоверно выше, чем в группе клопидогреля ($p < 0,05$), в то время как параметры в группе клопидогреля и комбинированной терапии и аспирина и комбинированной терапии достоверно не отличались. Относительная динамика скорости нарастания коэффициента светопрозрачности была сопоставимой в группах больных, получавших клопидогрель и комбинированную терапию в течение всего периода наблюдения, в то время как в группе аспирина динамика была достоверно ниже. Относительное снижение максимальной амплитуды волны обратимой агрегации в группе аспирина было достоверно ниже, чем в группе больных, получавших комбинированную терапию, в то время как группы аспирина и клопидогреля, а также клопидогреля и комбинированной терапии между собой достоверно не отличались. Время достижения максимальной амплитуды волны обратимой агрегации достоверно увеличивалось во всех группах терапии в течение всего периода наблюдения, при этом абсолютные значения времени были сопоставимы в группах аспирина и клопидогреля и клопидогреля и комбинированной терапии как при втором, так и при третьем повторном исследовании, в то время как в группе аспирина время достижения максимальной волны и на 3 и на 6–7 сутки было достоверно меньше, чем в группе комбинированной терапии ($p < 0,05$ — достоверность различия абсолютных значений времени достижения максимальной амплитуды волны обратимой агрегации в группах аспирина и комбинированной терапии для обоих исследований). Относительная динамика времени также была достоверно ниже в группе аспирина по сравнению с группой комбинированной терапии при обоих контрольных исследованиях ($p < 0,01$), в то время как динамика в остальных группах достоверно не отличалась.

При добавлении оптимальных концентраций индуктора скорость и амплитуда как первой, так и второй волны агрегации, достоверно снижались во всех группах терапии в течение всего периода наблюдения, отражая снижение необратимой агрегации тромбоцитов и гиперсекреции гранул. Время достижения пика обеих волн агрегации увеличивалось. При этом абсолютные значения скорости первой волны необратимой агрегации в группе клопидогреля оказались достоверно ниже, чем в группах аспирина и комбинированной терапии ($p < 0,05$ — клопидогрель — комбинированная терапия и $p < 0,01$ — клопидогрель — аспирин) при обоих контрольных исследованиях. Абсолютные значения скорости первой волны необратимой агрегации в группах аспирина и комбинированной терапии были сопоставимы. Абсолютные значения всех остальных параметров необратимой агрегации (максимальная амплитуда I и II волн и время ее достижения, скорость II

волны) на всех этапах исследования были сопоставимы во всех 3-х группах сравнения. Анализ относительной динамики параметров необратимой агрегации показал, что динамика максимальной амплитуды I волны коэффициента светопропускания была сопоставимой во всех группах терапии в течение всего периода наблюдения. Скорость I волны снижалась более выражено в группе комбинированной терапии по сравнению с группой аспирина ($p < 0,001$ при обоих контрольных исследованиях), и клопидогреля ($p < 0,05$ при обоих исследованиях). Динамика скорости II волны, ее максимальной амплитуды и времени достижения пика обеих волн необратимой агрегации были сопоставимы в группах клопидогреля и комбинированной терапии, в то время как в группе аспирина динамика указанных параметров была достоверно ниже.

Исследование формы эритроцитов выявило к концу 6–7 суток наблюдения в группе аспирина достоверное увеличение количества дискоцитов, что свидетельствует о нормализации структурно-функционального состояния мембран эритроцитов. При этом эритроциты формировали скопления в виде микроэмболов. В группе клопидогреля наблюдался достоверно более выраженный положительный эффект на морфологию эритроцитов – доля дискоцитов была больше, чем в группе аспирина, стомациты встречались редко. При этом скоплений в виде микроэмболов обнаружено не было, отложения фибрина не выявлялись. Комплексное применение обоих антиагрегантов привело к более достоверному положительному эффекту на морфологический пул эритроцитов периферической крови с преобладанием дискоцитов и эритроцитов с одним гребнем. Пряди фибрина и скопления эритроцитов не обнаруживались.

В процессе терапии во всех группах больных был обнаружен достоверный положительный эффект на соотношение нормальных и патологических форм клеток. Количество неагрегированных эритроцитов значительно увеличилось. При этом эффект клопидогреля на исследуемые параметры был достоверно выше, чем в группе аспирина. Динамическое наблюдение показало, что все применяемые схемы антиагрегантной терапии способствуют достоверному снижению агрегационной активности эритроцитов уже к 3-м суткам терапии с усилением эффекта при дальнейшем применении препаратов. Эффект клопидогреля в виде монотерапии и в составе комбинированной терапии был достоверно выше, чем у аспирина, что проявилось достоверно более низкими значениями агрегационной активности эритроцитов уже на 3 сутки терапии в группах клопидогреля и комбинированной терапии по сравнению с группой аспирина. Относительная динамика балльной оценки на 3 сутки также была достоверно выше в группах клопидогреля

и комбинированной терапии по сравнению с группой аспирина. К 6–7 суткам наблюдения тенденция большего эффекта клопидогреля по сравнению с аспирином сохранялась как в отношении абсолютной балльной оценки, так и относительной динамики. Однако выявлена достоверно большая динамика показателя в группе сочетанной терапии по сравнению с группой клопидогреля. Абсолютные значения балльной оценки также достоверно отличались между группами с максимальным снижением в группе комбинированной терапии, меньшим – в группе клопидогреля, и минимальным, но также с высокой достоверностью – в группе аспирина.

Обсуждение

Исследование показало, что исходно у больных ОКС наблюдались достоверно большие скорость и амплитуда всех исследуемых процессов агрегации – и обратимой (индуцированной пороговой концентрацией АДФ), и необратимой (I волна индуцированной оптимальной концентрацией АДФ), а также II волны агрегации, характеризующей секреторную функцию тромбоцитов (индуцированной собственной АДФ тромбоцитов). В свою очередь, проведенное исследование структурно-функционального состояния эритроцитов выявило, что у больных ОКС наблюдается нарушение свойств мембраны эритроцитов, что приводит к их деформации и увеличению агрегационной активности.

В ходе исследования подтверждена эффективность всех исследуемых схем антиагрегантной терапии в отношении снижения активности и скорости как обратимой, так и необратимой, и собственной агрегации уже к 3 суткам терапии с продолжением эффекта к 6–7 суткам. Применение клопидогреля более эффективно по сравнению с аспирином влияет на агрегационную активность тромбоцитов, а комплексная терапия обоими препаратами оказалась достоверно более эффективной по сравнению с применением аспирина и клопидогреля как самостоятельных схем. Частота встречаемости II волны агрегации при использовании пороговой концентрации индуктора достоверно снизилась во всех группах терапии, однако эффект был более значимым при применении клопидогреля в качестве моно- или в составе комбинированной терапии.

В процессе динамического наблюдения установлено, что все применяемые схемы антиагрегантной терапии способствуют достоверному снижению агрегационной активности эритроцитов, уменьшению содержания патологических форм клеток в периферической крови. Выявлено, что хотя эффект всех применяемых препаратов был достоверным, применение клопидогреля имеет более значимый положительный эффект по сравнению с аспирином, а комбинированная терапия превы-

шает по эффективности применение обоих препаратов в качестве монотерапии.

Выводы

Добавление клопидогреля к стандартной терапии при лечении острого коронарного синдрома позволяет

добиться большего угнетения агрегационной активности тромбоцитов и эритроцитов по сравнению со стандартной терапией аспирином. При этом лучший эффект отмечается при комбинации клопидогреля и аспирина, чем при применении того или иного препарата в качестве единственного антиагрегантного агента.

Литература

1. Лечение острых коронарных синдромов. Острый коронарный синдром без стойкого подъема сегмента ST на ЭКГ. Рекомендации рабочей группы Европейского кардиологического общества. М., 2001.
2. Панченко Е.П. Антитромботическая терапия острых коронарных синдромов без подъема сегмента ST // Consilium Medicum. 2001. Т.3, № 10, 472–475;
3. Шалаев С.В. Антитромбоцитарные средства в лечении острых коронарных синдромов // Фарматека. 2003.312, 94–97;
4. Шилов А.М., Святлов И.С., Санодзе И.Д. Антиагреганты – современное состояние вопроса// РМЖ. 2003. Т11, № 9, 552–556;
5. Fuster V., Badimon L., Badimon J.J et al. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes // New. Engl. J. Med., 1992; 326: 242–50, 310–8.
6. Lefkowitz J, Plow EF, Topol EJ. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine// New. Engl. J. Med., 1995; 332: 1553–9.
7. Панченко Е.П., Добровольский А.Б. Тромбозы в кардиологии. Механизмы развития и возможности терапии. – М.: Спорт и культура, 1999. – 464 с.
8. Всероссийское научное общество кардиологов. Рекомендации по лечению острого коронарного синдрома без стойкого подъема сегмента ST на ЭКГ // Кардиология. 2004;44:4 (приложение).
9. Лечение острого коронарного синдрома без стойкого подъема сегмента ST на ЭКГ. Москва - 2006. Всероссийское научное общество кардиологов. Российские рекомендации.
10. Jarvis B., Simpson K. Clopidogrel: a review of its use in the prevention of atherothrombosis // Drugs. – 2000. – Vol. 60. – P. 347–377.
11. Kam P.C., Nethery C.M. The thienopyridine derivatives (platelet adenosine diphosphate receptor antagonists), pharmacology and clinical developments // Anaesthesia. – 2003. – Vol. 58. – P. 28–35.

Abstract

The study was aimed at investigating cell hemostasis parameters in acute coronary syndrome (ACS), and comparing the effects of various antiaggregant medications (clopidogrel, aspirin, or their combination) on platelet (PL) and red blood cell (RBC) aggregation activity. In total, 98 ACS patients were divided into groups, according to the antiaggregant therapy received. At Days 3–4 and 6–7, PL aggregation activity and RBC morphology and function were assessed. Antiaggregant therapy was highly effective among those receiving combined treatment, with minimal PL aggregation and maximal RBC morphology improvement (high prevalence of discocytes and reversibly deformed RBC) observed as early as Day 3 and further increasing by Day 7. All three variants of antiaggregant therapy were significantly effective, but Clopidogrel, especially in combination with aspirin, demonstrated the best effect.

Combined therapy (clopidogrel and aspirin) improved cell hemostasis parameters, which could be linked to better aggregation inhibition due to different therapeutic targets for these two agents.

Keywords: Acute coronary syndrome, platelet aggregation, antiaggregant therapy, red blood cell structure and function, clopidogrel.

Поступила 07/10-2008

© Коллектив авторов, 2008.

700115, г. Ташкент, ул. Фархадская, д. 2,

Республиканский научный центр экстренной медицинской помощи.

Рахимовой Р.А. e-mail: bahor_63@mail.ru