

# COX inhibiitorite nimesuliidi, paratsetamooli ja metamisooli toime aspiriiniresistentsete koronaarhaigete trombotsüütidele enne ja pärast aortokoronaarset šunteerimist

Vilja Mardla<sup>1</sup>, Indrek Rätsep<sup>2</sup>,  
Gennadi Kobzar<sup>1</sup>, Nigulas Samel<sup>1</sup> –  
<sup>1</sup>TTÜ keemiaminstituut, <sup>2</sup>Põhja-Eesti  
Regionaalhaigla

**Võtmesõnad:** trombotsüütide agregatsioon, aspiriiniresistentsus, koronaarhaigus, COX inhibiitorid

**Koronaarhaigetel on täheldatud trombotsüütide suurenenud aktiveeritust. Paljudel juhtudel ei ole trombotsüütide agregatsiooni pärssivad ravimid, kaasa arvatud COX inhibiitor aspiriin, piisavalt efektiivsed trombitikke pidurdamisel. Töö eesmärgiks oli uurida COX inhibiitorite nimesuliidi, paratsetamooli ja metamisooli toimet aspiriiniresistentsete koronaarhaigete trombotsüütidel *in vitro*. Kuna aspiriiniresistentsus esineb patsientidel enamasti pärast aortokoronaarset šunteerimist, hinnati COX inhibiitorite efektiivsust enne ja pärast operatsiooni. Uuringust selgus, et COX-2 inhibiitor nimesuliid oli veidi tõhusam pärast aortokoronaarset šunteerimist, mitteselektiivsete COX inhibiitorite metamisooli ja paratsetamooli toime ei erinenud oluliselt enne ja pärast operatsiooni. Uuringu tulemused näitavad, et koronaarhaigete trombotsüütide aktiveeritus suureneb operatsiooni järel hoolimata aspiriini tarbimisest ja erinevalt aspiriinist pärssivad teised COX inhibiitorid trombotsüütide agregatsiooni.**

Aspiriin on praegu koronaarhaigetel kõige laialdasemalt kasutatav trombotsüütide agregatsiooni pärssiv ravim. Aspiriin inhibeerib tugevamini tsüklooksügenaas-1 (COX-1) kui tsüklooksügenaas-2 (COX-2) ensüümi. Normaalselt esineb tervete inimeste trombotsüütides ainult COX-1 ensüüm. COX-1 inhibeerimine aspiriini poolt on pöördumatu protsess (1). Väikestes annustes vähendab aspiriin trombotsüütides selektiivselt tromboksaan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>) tootmist, mõjutamata oluliselt prostatsükliini (PGI<sub>2</sub>) biosünteesi veresoontes (2). Teised mittesteroidsed põletikuvastased ravimid (MSPVAd) inhibeerivad osaliselt selektiivsusega nii COX-1-st sõltuvat TxA<sub>2</sub> kui COX-2-st sõltuvat PGI<sub>2</sub>. Paljudel juhtudel pole aspiriin piisavalt tõhus trombitikke pidurdaja. Aspiriiniresistentsus võib olla põhjustatud COX-2 indutseerimisest koronaarhaigete trombotsüütides. COX-2 isovormi on tsütokeemiliste meetoditega leitud trombotsüütides pärast aortokoronaarse šunteerimise operatsiooni (3). Lisaks sellele on näidatud, et nendel haigetel esineb uutes tekkinud trombotsüütides väike protsent COX-2 (4). Aortokoronaarse šunteerimise läbinud patsientidel on samal ajal uute trombotsüütide tekkega täheldatud aspiriiniresistentsuse esinemist (5, 6).

Aspiriiniresistentsust võivad põhjustada mitteküllaldane COX-1 pärssimine ja geneetiline polümorfism (7). Aspiriin inhibeerib nõrgalt trombotsüütide aktivatsiooni COX-1 alternatiivsete radade kaudu, kus aktivaatoritena toimivad trombiin, kollageen, von Willebrandi faktor ja

katehoolamiinid (8, 6). Aspiriini toime kadumine võib olla tingitud ka operatsioonijärgsetest trombotsüütide ülekannetest, kuna nendes trombotsüütides pole COX-1 ensüüm inhibeeritud. Lisaks nimetatutele võivad potentsiaalseteks aspiriiniresistentsuse põhjustajateks olla ravimi väike annus, ravimite vastastikune mõju, trombotsüütidest sõltumatu tromboksaani produktsioon ja ateroskleroosist tingitud suurenenud nihkepinge veresoontes (9, 8).

Aspiriini kasutamist piiravad ka selle ravimi ebasoodsad kõrvaltoimed seedetraktile. Selektiivsed COX-2 inhibiitorid on efektiivsed põletikuvastased ained, millel on võrreldes aspiriiniga seedetraktile nõrgemad kõrvaltoimed (10). Nimesuliid inhibeerib tõhusamalt COX-2 ensüümi kui 4-atseetamidofenool (parasetamool). *In vitro* on COX-2/COX1 inhibitoorne suhe nimesuliidil ja parasetamoolil vastavalt 0,053 ja 0,625 (11). Mitteselektiivne COX inhibiitor metamisool (dipüroon ehk analgiin) inhibeerib rohkem COX-1 ensüümi (12). Et aspiriin vaatluse all olevate patsientide trombotsüütidele ei toimi, siis uuriti neil *in vitro* teiste COX inhibiitorite nimesuliidi, parasetamooli ja metamisooli toimet trombotsüütide agregatsioonile enne ja pärast aortokoronaarset šunteerimist. Selliseid COX inhibiitorite efektiivsuse võrdlusi pole aspiriiniresistentsetel patsientidel varem tehtud.

## MATERJALID JA MEETODID

### 1. PATSIENDID

Uuringus osalesid koronaarhaiged, kes vajasisid aortokoronaarset šunteerimist Põhja-Eesti Regionaalhaiglas. Haigeid opereeriti, kasutades aortokoronaarset šunteerimist töötaval südamel. Koronaarhaigetel oli vähemalt üks peamine koronaararter rohkem kui 75% ulatuses ahenenud, ahenemine tuvastati koronaarangiograafia meetodiga. Patsientide kliinilised andmed on esitatud tabelis 1. Uuringuks oli olemas Tallinna meditsiiniuuringute eetikakomitee luba ja patsientide nõusolek. Patsiendid ei

tarvitanud aspiriini ega teisi põletikuvastaseid aineid vähemalt 7 päeva enne šunteerimist. Pärast operatsiooni võtsid kõik patsiendid 150 mg aspiriini (Hjertemagnyl, Nycomed Sefa) päevas. 1 g parasetamooli manustati intravenoosse lahusena operatsioonipäeva õhtul. Esimesel operatsioonijärgsel päeval manustati uuritavatele ketoprofeeni (100 mg i/v).

Veenivereproovid võeti uuritud patsientidelt hommikul vahetult enne aortokoronaarse šunteerimise operatsiooni ja 3. päeval pärast operatsiooni ning toimetati kohe Tallinna Tehnikaülikooli (TTÜ) keemiainstituudi laboratooriumi. Käesolevas uuringus uuriti vaid aspiriiniresistentseid koronaarhaigeid. Need patsiendid, kellel aspiriin toimis, jäeti uuringust välja. Aspiriiniresistentseteks nimetati patsiente, kellel esines trombotsüütide adenosüindifosfaadist (ADP) indutseeritud agregatsiooni sekundaarne laine; see tähendab, et aspiriin ei inhibeerinud täielikult trombotsüütide COX-1 ensüümi. Trombotsüütide agregatsiooni primaarne laine on põhjustatud ADP retseptorite aktivatsioonist ning sekundaarne laine trombotsüütide graanulite sisu ja TxA<sub>2</sub> vabanemisest. Aspiriinitundlikel patsientidel kaob aspiriini juuresolekul sekundaarne trombotsüütide agregatsiooni suurenemine, sest aspiriin pärsib TxA<sub>2</sub> teket. Aspiriiniresistentsete patsientide trombotsüütidel hinnati nimesuliidi, parasetamooli ja metamisooli efektiivsust enne ja 3. päeval pärast operatsiooni *in vitro*.

### 2. TROMBOTSÜÜTIDE ERALDAMINE

Trombotsüütiderikas plasma (PRP) saadi tsitraadiga veenivere toatemperatuuril tsentrifuugimisel (10 min 160 x g). Trombotsüüte loendati Swelab'i rakuanalüsaatoriga ja nende arv viidi proovis kuni 250 x 10<sup>9</sup> rakuni liitri kohta.

### 3. TROMBOTSÜÜTIDE AGREGATSIOONI

#### MÄÄRAMISE OPTILINE MEETOD

Trombotsüütide agregatsiooni mõõdeti fotomeetriliselt Chrono-log'i agregomeet-

riga. Agregatsiooni ulatust hinnati PRPs valguse läbitavuse mõõtmise alusel, s.t maksimaalse agregatsiooni puhul moodustasid trombotsüüdid suuri agregate ja vereplasma muutus läbipaistvaks. Agregatsiooni küvett sisaldas 0,25 ml PRPd,

mida hoiti 37 °C juures ja segati teflonkatttega segaja abil. Agregatsiooni indutseeriti ADPga, mis lisati trombotsüütide sellises kontsentratsioonis, mille puhul ADP kutsus esile nende submaksimaalse agregatsiooni. Uuringus kasutatud ADP kontsent-

**Tabel 1.** Uuringus osalenud koronaarhaigete kliinilised andmed

Patsiendi number	Vanus	Sugu M/N	Veregrupp	Infarktide arv	Angiograafia skoor (%)	INR	PLT x 10 <sup>9</sup> /l
1	50	M	AB	1	260	0,99	234
2	71	N	A	–	290	0,93	355
3	63	M	A	1	215	1,12	250
4	67	M	A	1	240	1,42	247
5	68	M	A	–	255	1,3	156
6	56	M	AB	1	225	1,09	203
7	74	N	O	1	215	1,01	285
8	57	M	A	1	270	1,01	193
9	50	M	B	–	190	0,88	188
10	67	N	O	–	230	1,02	231
11	74	M	O	1	250	0,92	279
12	60	M	O	1	225	0,92	265
13	53	M	O	1	280	1,04	258
14	65	M	A	1	220	1,24	214
15	74	M	O	1	250	1,02	279
16	60	M	O	1	225	0,92	265
17	53	M	O	1	280	1,04	258
18	45	M	O	–	255	0,99	399
19	65	M	A	1	220	1,24	214
20	63	N	A	1	190	1,1	260
21	64	M	A	1	250	1,1	262
22	75	M	O	–	215	1,01	274
23	50	M	AB	1	234	1,17	234
24	63	M	A	1	215	1,12	355
25	67	M	A	1	240	1,42	247
26	68	M	A	–	255	1,3	156
27	74	N	O	1	285	1,01	285
28	57	M	A	1	270	1,01	193
29	50	M	B	–	190	0,88	188
30	74	M	O	1	250	1,02	279
31	60	M	O	1	225	0,92	265
32	45	M	O	–	220	0,99	399
33	50	M	AB	1	234	1,17	234
34	72	M	O	1	230	0,99	250
35	71	N	A	–	290	0,93	355
36	63	M	A	1	215	1,12	230
37	51	M	A	–	235	1,14	250
38	62	M	A	–	190	1,13	128
39	67	M	A	1	240	1,42	247
40	69	N	AB	–	225	1,3	227
	62 ± 1,4	33 M 7 N	15 O 18 A 2 B 5 AB	27	237 ± 4,3	1,1 ± 0,02	252 ± 9,4

Andmed on esitatud aritmeetilise keskmise ± standardveaga (SEM) või absoluutarvuna.

PLT – trombotsüütide arv.

INR – patsiendi plasma ja normaalse vereplasma protrombiiniaegade suhtarv, mis on korrigeeritud kasutatava tromboplastiini tundlikkuse rahvusvahelise indeksiga.

Angiograafia skoor – kolme peamise koronaararteri ahenemise ulatus (%-des).

ratsioon varieerus 2 kuni 10  $\mu\text{M}$  erinevates PRP-proovides. Submaksimaalse agregatsiooni amplituud võeti tulemuste väljendamisel 100 protsendiks ning trombotsüütide agregatsiooni inhibitsioon määrati, inkubeerides PRPd paratsetamooli, nimesuliidi ja metamisooliga 1 min enne ADP lisamist. Eelkatsetega leiti COX inhibiitorite efektiivsed kontsentratsioonid, mida kasutati edaspidi uuringu käigus. Metamisooli efektiivsed kontsentratsioonid olid 0,8–4 mM, paratsetamoolil 0,4–4 mM ja nimesuliidil 0,02–0,08 mM. Tulemused esitati aritmeetilise keskmise ja standardvea (SEM) või standardhällbega (SD). Statistilised erinevused uuringurühmade vahel leiti t-testi, hii-ruut-testi või variatsioonanalüüsiga (ANOVA), võrreldud Newman-Keulsi meetodiga.

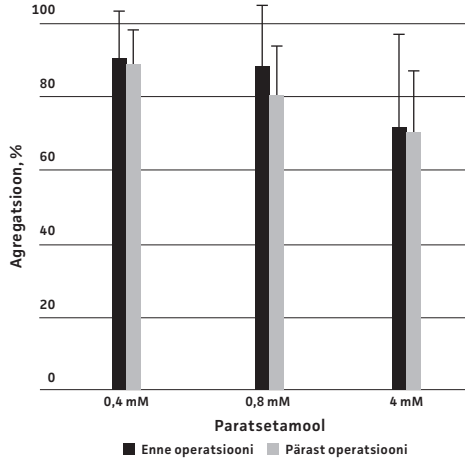
**4. KASUTATUD REAGENDID**

Reagensid ADP, dipüroon (metamisool) ja 4-atsetamidofenool (paratsetamool) on pärit firmalt Sigma Chemical CO (St. Louis, MO, USA). Nimesuliid on pärit firmalt Cayman Chemical CO (USA). ADP, paratsetamool ja dipüroon olid lahustatud 0,9% NaCl lahuses, nimesuliid etanoolis. Ühendite lahjendused tehti 0,9% NaCl lahuses. Lahuste kontrollid tehti iga eksperimendi korral ning need lahused ei mõjutanud trombotsüütide agregatsiooni.

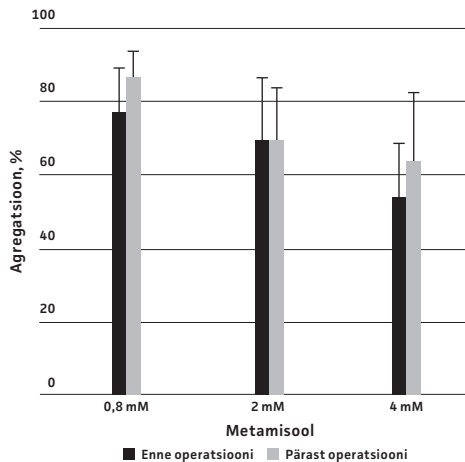
**TULEMUSED**

Töös uuriti COX inhibiitorite paratsetamooli (vt tabel 1; patsiendid 1–14), metamisooli (vt tabel 1; patsiendid 15–22) ja nimesuliidi (vt tabel 1; patsiendid 23–32) toimet aspiriiniresistentsete koronaarhaigete trombotsüütidele *in vitro* enne ja pärast aortokoronaarset šunteerimist.

Paratsetamool ja metamisool olid tõhusad nii enne kui ka 3. päeval pärast operatsiooni, kuid nende toime ei erinenud oluliselt enne ja pärast operatsiooni (vt joonis 1 ja 2). Sarnaselt eespool mainitud ainetega inhibeeris ADPst indutseeritud trombotsüütide

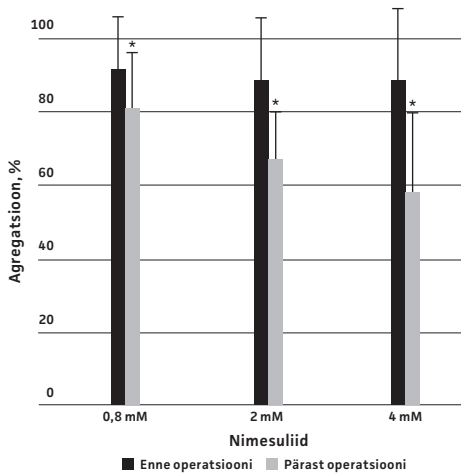


**Joonis 1.** Trombotsüütide ADPst indutseeritud agregatsiooni inhibeerimine paratsetamooliga 14 patsiendi PRPs enne aortokoronaarset šunteerimist ja 3. päeval pärast operatsiooni. Andmed on esitatud aritmeetilise keskmise ja standardhällbega (SD). Statistilised erinevused paariseksperimentide jaoks on arvatud t-testiga.



**Joonis 2.** Trombotsüütide ADPst indutseeritud agregatsiooni inhibeerimine metamisooliga 8 patsiendi PRPs enne aortokoronaarset šunteerimist ja 3. päeval pärast operatsiooni. Andmed on esitatud aritmeetilise keskmise ja standardhällbega (SD). Statistilised erinevused paariseksperimentide jaoks on arvatud t-testiga.

agregatsiooni aspiriiniresistentsetel patsientidel ka COX-2 inhibiitor nimesuliid. Nimesuliid toimis nii enne operatsiooni kui ka 3. päeval pärast operatsiooni (vt joonis 3). Ta toime oli isegi veidi tugevam 3. päeval



**Joonis 3.** Trombotsüütide ADPst indutseeritud agregatsiooni inhibeerimine nimesuliidiga 10 patsiendi PRPs enne aortokoronaarset šunteerimist ja 3. päeval pärast operatsiooni. Andmed on esitatud aritmeetilise keskmise ja standardhälbega (SD). Statistilised erinevused paariseksperimentide jaoks on arvutatud t-testiga, \*  $p < 0,05$ .

pärast operatsiooni. Uuritud COX inhibiitoritest oli nimesuliid kõige efektiivsem trombotsüütide agregatsiooni inhibiitor (vt joonis 1, 2, 3). COX inhibiitorite järgi rühmadesse jaotatud patsientide kliinilisi näitajaid (vanus, skoor, INR, trombotsüütide arv) (vt tabel 1) analüüsiti statistiliselt variatsioonanalüüsiga (ANOVA). Seejärel võrreldi rühmi Newman-Keulsi meetodiga ning leiti, et need kliinilised näitajad gruppides statistiliselt ei erine ( $p > 0,1$ ). Samuti ei erine nendes rühmades ka infarktide arv ( $p > 0,1$ ; hii-ruut-test).

Trombotsüütide tundlikkus aspiriini suhtes vähenes pärast aortokoronaarset šunteerimist. Koronaarhaigetel (vt tabel 1)

**Tabel 2.** ADPst indutseeritud trombotsüütide agregatsiooni  $EC_{50}$  väärtused koronaarhaigete PRPs enne ja 3. päeval pärast aortokoronaarset šunteerimist

	Enne operatsiooni	3. päeval pärast operatsiooni
$EC_{50}$ , $\mu M$	$0,82 \pm 0,19$ (8)	$0,37 \pm 0,07$ (8)

$EC_{50}$  on ADP kontsentratsioon, mis põhjustab 50% trombotsüütide agregatsiooni. Andmed on esitatud 8 patsiendi PRP kohta aritmeetilise keskmise ja standardveaga. Statistilised erinevused paariseksperimentide jaoks on arvutatud t-testiga.  $P < 0,05$ .

esines aspiriini tarbimisest hoolimata ADPst indutseeritud sekundaarne agregatsioonilaine. See ei pruugi olla seotud mitte ainult COX-2 ensüümi indutseerimisega, vaid ka trombotsüütide suurenenud tundlikkusega ADP suhtes. Trombotsüütide tundlikkus antiagregantide suhtes võib sõltuda trombotsüütide aktiveerituse tasemest. Seetõttu võrreldi ADP toimet trombotsüütidele enne ja pärast šunteerimist (vt tabel 1; patsiendid 33–40). ADP  $EC_{50}$  väärtused olid enne operatsiooni tunduvalt suuremad kui 3. päeval pärast operatsiooni (vt tabel 2).

Tulemused näitavad, et koronaarhaigete trombotsüütide aktiveeritus suurenes operatsiooni järel ja teised COX inhibiitorid erinevalt aspiriinist inhibeerisid trombotsüütide agregatsiooni. Kõige efektiivsemaks uuritud COX inhibiitoritest osutus COX-2 inhibiitor nimesuliid.

**ARUTELU**

COX ensüümi indutseeritav vorm COX-2 avaldub seoses põletikuliste protsessidega. Koronaarhaigete trombotsüüdid toodavad põletikumediaatoreid ning nende trombotsüütides võib rolli mängida lisaks COX-1 ensüümile ka COX-2 ensüüm. Selektiivsete COX-2 inhibiitoritega ravimisel surutakse alla põletikulisi protsesse. Kahjuks aga selektiivsed COX-2 inhibiitorid pidurdavad  $PGI_2$  tootmist veresoone endoteelirakkude poolt, mis on seotud tromboosi tekkega (13). Seetõttu ei pruugi COX-2 inhibiitori nimesuliidi kasutamine anda soovitud kliinilist tulemust.

Lisaks operatsioonijärgsele trombotsüütide suurenenud tundlikkusele ADP suhtes (vt tabel 2) on koronaarhaigetel peamised koronaararterid tugeva ateroskleroosi (vt tabel 1; angiograafia skoor) tõttu kahjustatud. Koronaarateroskleroos on põletikuline protsess, millega kaasneb põletikumarkerite, kaasa arvatud trombotsüüte aktiveeriva faktori (PAF) tõus veres (14). PAFi indutseeritud trombotsüütide agregatsioon on COX-1 inhibiitori aspiriini poolt

ainult nõrgalt inhibeeritav. On näidatud, et koronaarhaigete veres on lisaks PAFile suurenenud ka ADP ja adhesiivsete valkude tase (15). Nende faktorite kõrge tase veres võib põhjustada aspiriiniresistent-sust ja trombotsüütide hüperreaktiivsust. Hiljuti leiti, et ka vere kõrge glükoosita-se võib põhjustada aspiriiniresistent-sust (16). Šunteerimise järel esineb veres kümne päeva jooksul kõrge glükoosita-se, mis pidurdab aspiriini inhibeerivat toimet trombotsüütide agregatsioonile.

Aspiriini inhibeerib COX-1 ensüümi, kuid aspiriini trombotsüüte inhibeeriv efektiivsus pole seotud ainult prostaglandiinide sünteesi blokaadiga. Kuna on näidatud, et aspiriini inhibeerib adhesiivsete valkude GPIIb/IIIa, P-selektiini, vitronektiini, CD63, CD107a retseptorite ekspressiooni inimese trombotsüütides, võib arvata, et aspiriini antiagregatiivsed omadused on mitmetegurilised (17). Käesolevas töös näidati, et trombotsüütide reaktiivsus suureneb pärast operatsiooni (vt tabel 2) hoolimata aspiriini tarbimisest. Üheks oluliseks trombotsüütide hüperreaktiivsuse markeriks on ka trombotsüütide spontaanne agregatsioon. Meie varasematest uuringutest selgus, et koronaarhaigetel esineb trombotsüütide spontaanne agregatsioon (18). Selles töös võrreldi ka spontaanset agregatsiooni enne šunteerimist ning 3. ja 5. päeval pärast operatsiooni. 3. päeval oli ta tunduvalt kõrgem kui enne operatsiooni ning püsis kõrgena ka 5. päeval. Aspiriini tarbimine operatsiooni järel ja *in vitro* aspiriini lisamine ei pidurdanud trombotsüütide spontaanset agregatsiooni. Samas aga toimusid *in vitro* koronaarhaigete trombotsüütidesse efektiivselt mitmed antiagregatiivsed prostaglandiinid (19).

Et aspiriini on selektiivsem COX-1 suhtes, siis ei realiseeru ilmselt aspiriini väikeste

annuste mõju COX-2 pärssimise kaudu. Töös näidati, et COX-2 inhibiitor nimesuliid inhibeerib tõhusalt aspiriiniresistentsete patsientide trombotsüüte enne ja pärast aortokornaarse šunteerimise operatsiooni. Seega võib koronaarhaigetel trombotsüütides COX-2 ensüümil olla oluline osa tromboosi tekkel. Hiljuti leiti, et parasetamool toimib COX-2 ensüümile kaudselt, muutes heemse raua oksüdatsiooniastet. Juhul kui arahhidoonhappe tase rakus on madal, käitub parasetamool samuti selektiivse COX-2 inhibiitorina (20).

Samuti leiti, et ka mitteselektiivne COX inhibiitor metamisool inhibeerib aspiriiniresistentsete patsientide trombotsüütide agregatsiooni enne ja pärast šunteerimist ning trombotsüütide tundlikkus ADP suhtes suureneb pärast operatsiooni. COX-2 roll trombotsüütides on nähtavasti kompleksne ja koronaarhaigete trombotsüütides pole aspiriiniresistent-sust seotud ainult COX-2 ensüümi indutseerimisega.

Käesoleva uuringu tulemused näitavad, et aspiriinravi pole antud patsientide puhul trombotsüütide agregatsiooni inhibeerimiseks piisav. Trombotsüütide aktiveeritus suureneb pärast operatsiooni, samas COX inhibiitorid nimesuliid, parasetamool ja metamisool inhibeerivad efektiivselt aspiriiniresistentsete trombotsüütide agregatsiooni. Põhjalikumaid uuringuid vajaks nii aspiriini ja teiste MSPVade kombineeritud ravi kui ka aspiriiniresistent-sust põhjustavate tegurite toimemehhanismid.

#### TÄNUAVALDUS

Tööd on rahastanud Haridus- ja Teadusministeerium (sihtfinantseerimine nr 0140010s08).

Artikli autorid kinnitavad huvide konflikti puudumist seoses uuringu teostusega.

*vilja@chemnet.ee*

#### KIRJANDUS

- Marcus AJ, Broekman MJ, Pinsky DJ. COX inhibitors and thromboregulation. *N Engl J Med* 2002;347:1025–26.
- Catella-Lawson F, Crofford LJ. Cyclooxygenase inhibition and thrombogenesis. *J Am Med* 2001;110:28S–32S.
- Altman R, Luciarci HL, Muntaner J, et al. The antithrombotic profile of aspirin. Aspirin resistance or simply failure? *J Thromb* 2004;2:1.
- Rocca B, Secchiero P, Ciabattini G, et al. Cyclooxygenase-2 expression is induced during human megakaryopoiesis

- and characterizes newly formed platelets. *Proc Natl Sci USA* 2002;99:7634–39.
5. Golanski J, Chlopicki S, Golanski R, et al. Resistance to aspirin in patients after coronary artery bypass grafting is transient. Impact on the monitoring of aspirin antiplatelet therapy. *Therap Drug Monitoring* 2005;27:484–90.
  6. Badimon L, Vilahur G. Coronary atherothrombotic disease: progress in antiplatelet therapy. *Rev Esp Cardiol* 2008;61:501–13.
  7. Bhatt D. Aspirin resistance: more than just a laboratory curiosity. *Am Coll Cardiol* 2004;43:1127–29.
  8. Tran HA, Anand SS, Hankey GJ, et al. Aspirin resistance. *Thromb Res* 2007;120:337–46.
  9. Hankey MR, Eikelboom JW. Aspirin resistance. *Lancet* 2006;367:606–17.
  10. Linton MF, Facio S. Cyclooxygenase products and atherosclerosis. *Drug Discovery Today: Therap Strategies* 2008;5:25–36.
  11. Gaetano G, Donati MB, Cerletti C. Prevention of thrombosis and vascular inflammation: benefits and limitations of selective or combined COX-1, COX-2 and 5-LOX inhibitors. *Trends Pharmacol Sci* 2003;24:245–52.
  12. Graff J, Arabmowlagh M, Cheung R, et al. Effect of parecoxib and dipyronone on platelet aggregation in patients undergoing meniscectomy: a double-blind randomized, parallel-group study. *Clinic Therap* 2007;29:438–47.
  13. O'Brien JJ, Ray DM, Spinelli SL, et al. The platelet as a therapeutic target for treating vascular disease and the role of eicosanoid and synthetic PPAR $\gamma$  ligands. *Prostaglandins other Lipid Mediat* 2007;82:68–76.
  14. Montruccio G, Alloati G, Camussi G. Role of platelet-activating factor in cardiovascular pathophysiology. *Physiol Rev* 2000;80:1669–99.
  15. Ekmekci H, Ekmekci OB, Sonmez H, et al. Evaluation of fibronectin, vitronectin, and leptin levels in coronary artery disease: impact thrombosis and thrombolysis. *Clin Appl Thromb Haemost* 2005;11(1):63–70.
  16. Le Guyader A, Pacheco G, Seaver N, et al. Inhibition of platelet GPIIb-IIIa and P-selectin expression by aspirin is impaired by stress hyperglycemia. *J Diabetes and its Complications* 2009;23:67–70.
  17. Malinin AI, Atar D, Callahan KP, et al. Effect of a single dose aspirin on platelets in humans with multiple risk factors for coronary artery disease. *Eur J Pharm* 2003;462:139–43.
  18. Kobzar G, Mardla V, Rätsep I, et al. Platelet activity before and after coronary artery bypass grafting. *Platelets* 2006;17:289–91.
  19. Mardla V, Kobzar G. Inhibition of platelets with combination of natural agents. Synergistic effects of antiaggregants. Köln: Lambert Academic Publishing; 2009.
  20. Kam PCA, So A. COX-3 uncertainties and controversies. *Curr Anaest Critic Care* 2009;20:50–3.

## SUMMARY

### The effect of COX inhibitors nimesulide, paracetamol and metamizole before and after off-pump coronary artery bypass grafting in platelets of aspirin-resistant coronary artery disease patients.

**Key words:** platelet aggregation, aspirin-resistance, coronary artery disease, COX inhibitors

**AIM.** The main purpose of this study was to investigate the inhibitory effect of nimesulide, paracetamol and metamizole in platelets of aspirin-resistant patients with coronary artery disease before and after off-pump coronary artery bypass grafting (OPCABG).

**METHODS.** Patients suffering from coronary artery disease, who underwent OPCABG, were included in the study. Citrated venous blood was collected in the morning of the day before and at day 3 after OPCABG. Platelet-rich plasma (PRP) was obtained after the centrifugation of citrated blood at 160 x g for 10 min at room temperature. The inhibitory effect of paracetamol, nimesulide and metamizole was measured in the PRP of aspirin-resistant patients before and after OPCABG using the optical method with a Chronolog aggregometer. The EC<sub>50</sub> values

for ADP were tested before and at day 3 after OPCABG.

**RESULTS.** Nimesulide, paracetamol and metamizole inhibited platelet aggregation before and at day 3 after surgery in aspirin-resistant patients. Nimesulide was slightly effective after surgery, but metamizole and paracetamol showed similar activity before and after OPCABG. Platelet sensitivity to ADP was significantly higher after surgery. The EC<sub>50</sub> values for ADP were 0.82 ± 0.19 μM and 0.37 ± 0.07 μM before and at day 3 after OPCABG, respectively.

**CONCLUSION.** The results suggest that aspirin-resistance of coronary artery disease patients after OPCABG is related not only with involvement of COX-2 in platelets. Platelet activity increases after OPCABG irrespective of aspirin administration and other COX inhibitors, in contrast to aspirin, can inhibit platelet aggregation *in vitro*.

**ACKNOWLEDGEMENT.** This study was supported by grant 0140010s08 of the Estonian Ministry of Education and Research.