



Activité de l'aspirine à dose ultra faible sur l'interaction plaquette-paroi vasculaire

Travaux réalisés par l'équipe du Pr Doutremepuich
Faculté de Pharmacie, Bordeaux



Effet de l'aspirine

L'aspirine (ASA) bloque irréversiblement la cyclo-oxygénase :

Elle est utilisée :

- A forte dose (1g) comme anti-inflammatoires et anti-pyrétiques
- A faible dose (50 mg) comme antiagrégant plaquettaire

Quelle est son action à dose ultra faible (5 CH) ?



Étude de l'effet de l'ASA à dose ultra faible *in vivo* chez le volontaire sain

Doutremepuich et coll. Thromb Res 1987 a et b

Doutremepuich et coll. Ann Pharm Fr 1988

Doutremepuich et coll. Haemostasis 1990

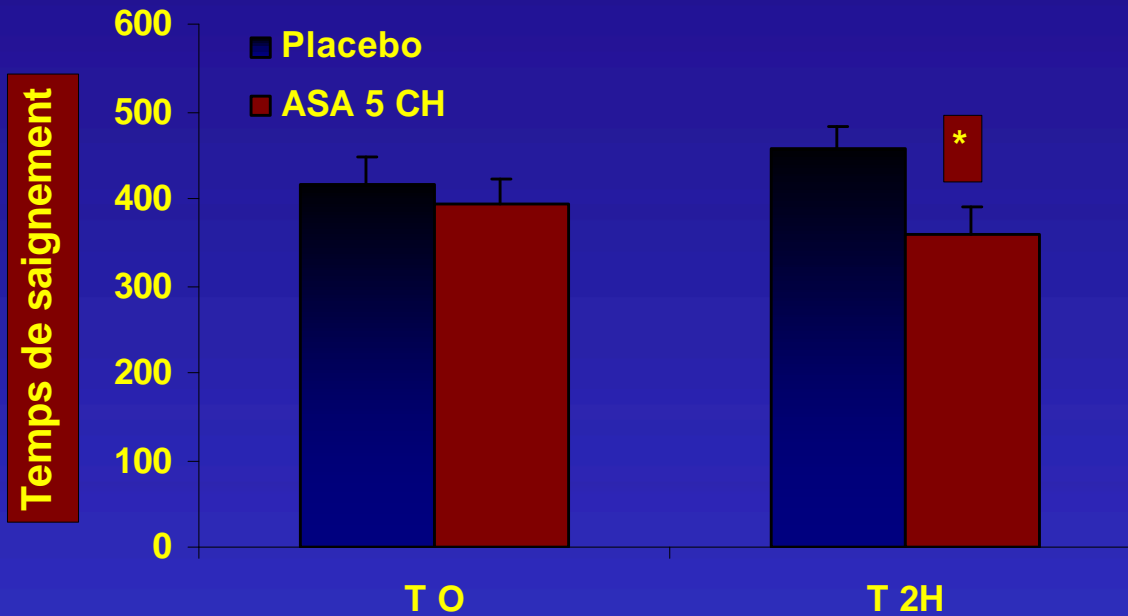


Méthodes

- Étude randomisée, en double aveugle
- 20 volontaires sains
- Administration d'Aspirine 5 CH par voie sublinguale ou placebo à TO
- Prélèvement sanguin TO + 2 :
 - test de coagulation,
 - test d'agrégation plaquettaire,
 - mesure du temps de saignement.



Résultats



Réduction du temps de saignement par l'aspirine 5 CH 2 h après administration



Conclusion

L'aspirine, à dose ultra faible, modifie l'agrégation plaquettaire.

Quels sont les mécanismes responsables de cette action ?



Étude de l'ASA à ultra faible dose sur les fonctions vasculaires *in vitro*

Lalanne et coll. Thrombosis Research 1990



Méthodes

Incubation 10 min à 37°C

Plasma riche
en plaquettes

Groupe Contrôle

Sérum Physiologique



100 µl



Groupe Vaisseau

Sérum physiologique
+
Fragment Vasculaire



100 µl



**Groupe
Vaisseau + ASA**

Sérum physiologique
+
Fragment Vasculaire
+
ASA 5 CH



100 µl



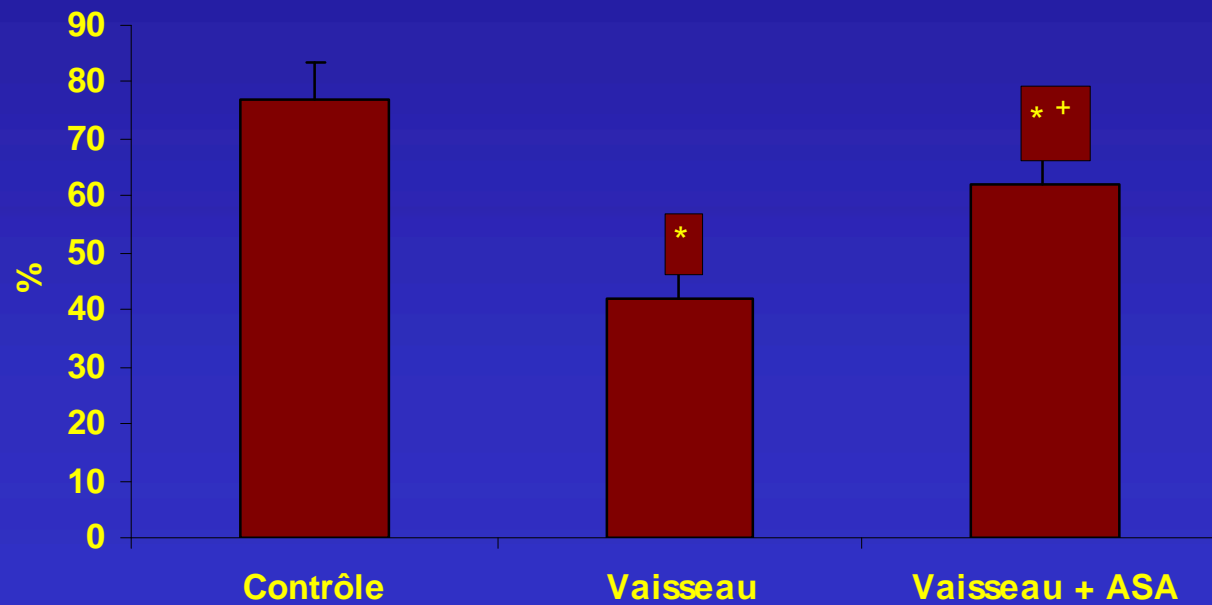
Tests d'agrégation
plaquettaire



Résultats

Diminution de l'agrégation plaquettaire en présence d'un fragment de vaisseau.

Effet inhibé après incubation avec l'aspirine 5 CH.





Conclusion

Les vaisseaux libèrent des substances *in vitro* qui modifient l'agrégation plaquettaire

L'aspirine 5 CH module la sécrétion de ces substances pour diminuer le temps de saignement.



Étude de différentes doses d'aspirine dans un modèle de thrombose induit par laser chez le rat

Vesvers et coll. Haemostasis 1993

Doutremepuich et coll. Thromb Res 1994

Doutremepuich et coll. Semin Thromb Hemost 1996



Méthodes

Nouveau modèle d'étude de l'agrégation plaquettaire *in vivo*.

Formation d'une thrombose grâce à un faisceau laser qui détruit quelques cellules de l'intima d'une artériole.

Enregistrement vidéo automatique :

- du nombre de tirs laser nécessaires,
- de la surface et la durée du thrombus,
- de la durée d'embolisation et du nombre d'emboles.

Mesure de la fonction plaquettaire et du temps de saignement



Méthodes

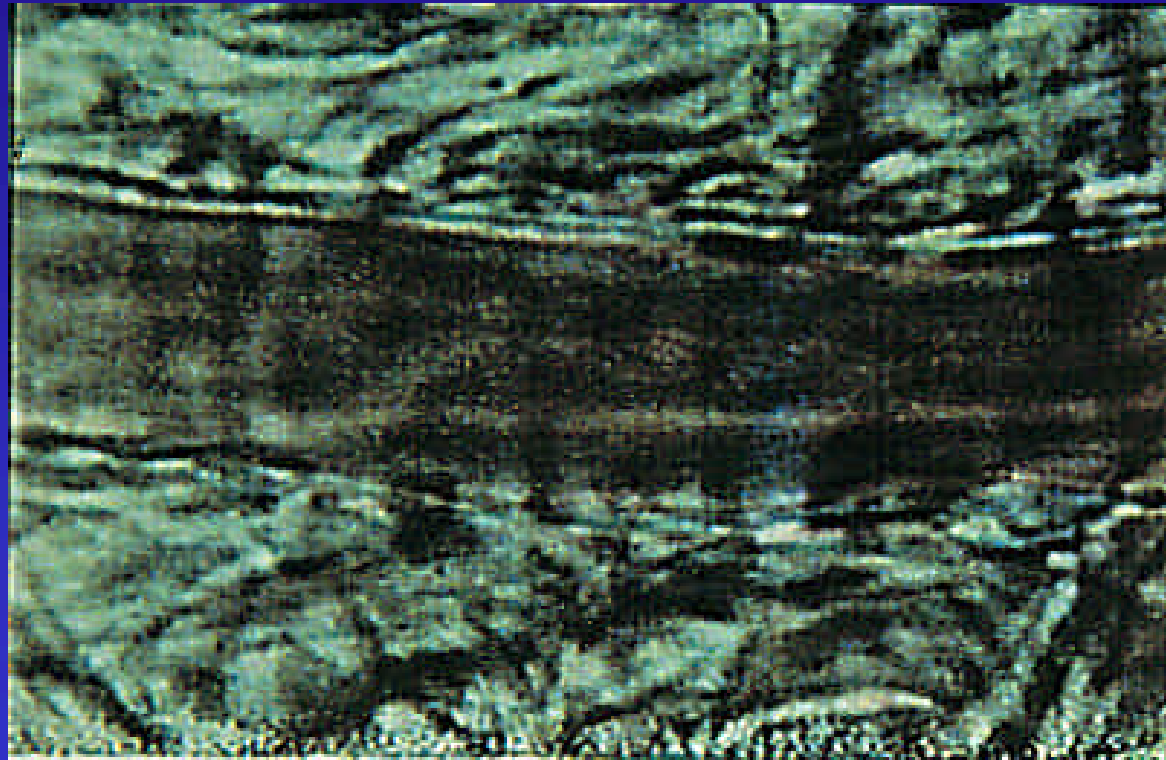
- Effet de l'aspirine administrée avant la thrombose
- Administration d'aspirine à différentes concentrations (100 mg/kg à 30 CH soit 10^{-60} mg/kg),
- Groupes contrôles
 1. Traité au sérum physiologique,
 2. Traité au salicylate (100 mg/kg)



Résultats :

images du thrombus obtenu

Artériole mésentérique avant la lésion





Résultats : images du thrombus obtenu

Le même vaisseau pendant l'application du laser

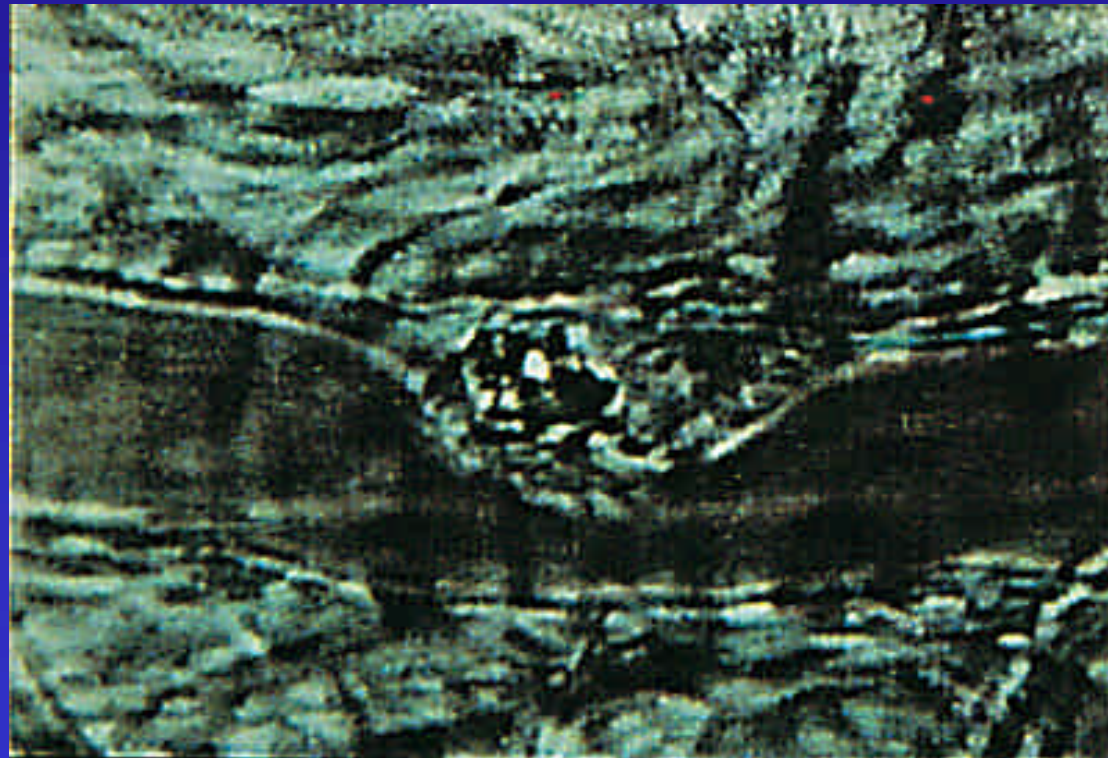




Résultats : images du thrombus obtenu

Le même vaisseau 3 secondes après

Formation
d'un
thrombus au
lieu de la
blessure par
le laser.



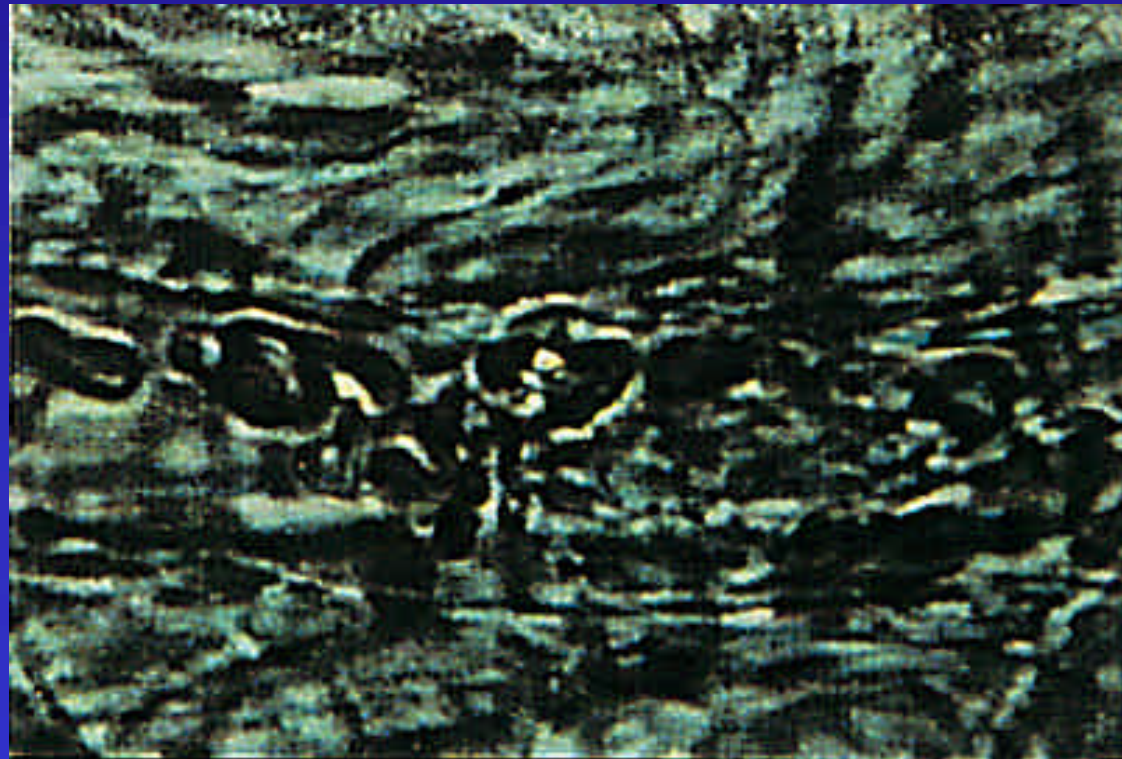


Résultats : images du thrombus obtenu

Le même vaisseau 30 secondes après

Le thrombus
occupe presque
toute la lumière
artériolaire.

Émission
d'embolies.

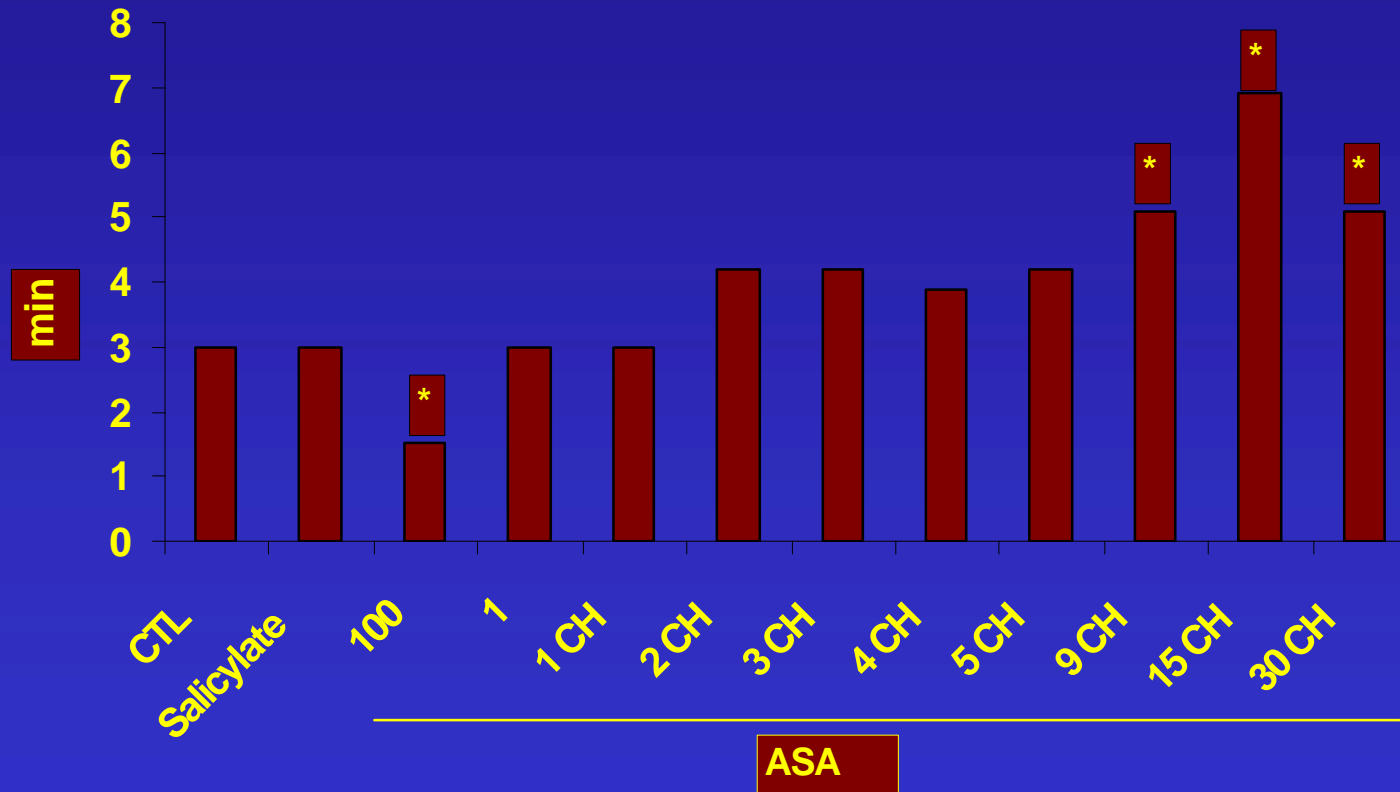




Résultats :

Effets des différentes concentrations d'aspirine

Durée de la thrombose :

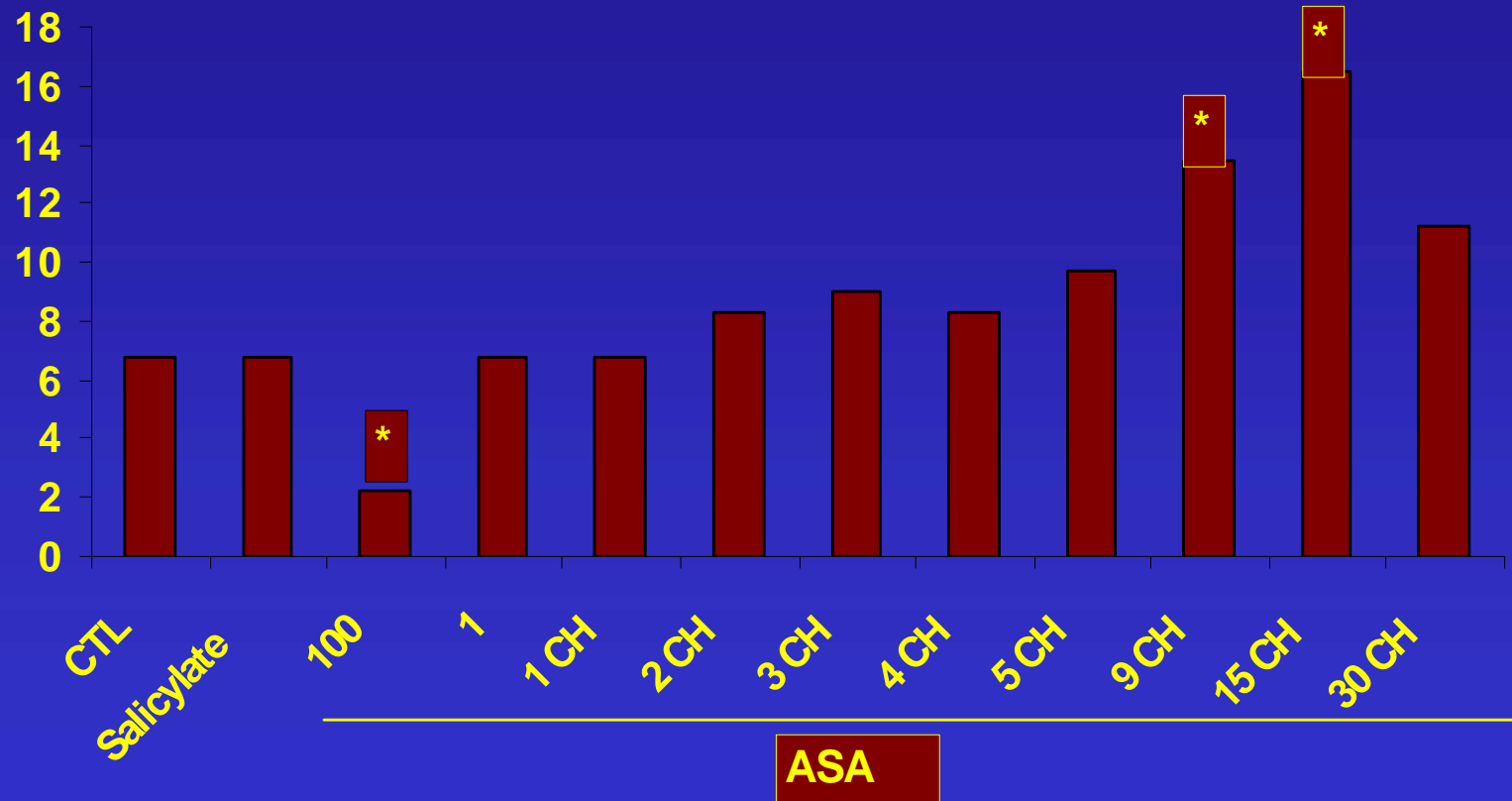




Résultats :

Effets des différentes concentrations d'aspirine

Nombre d'embolies :

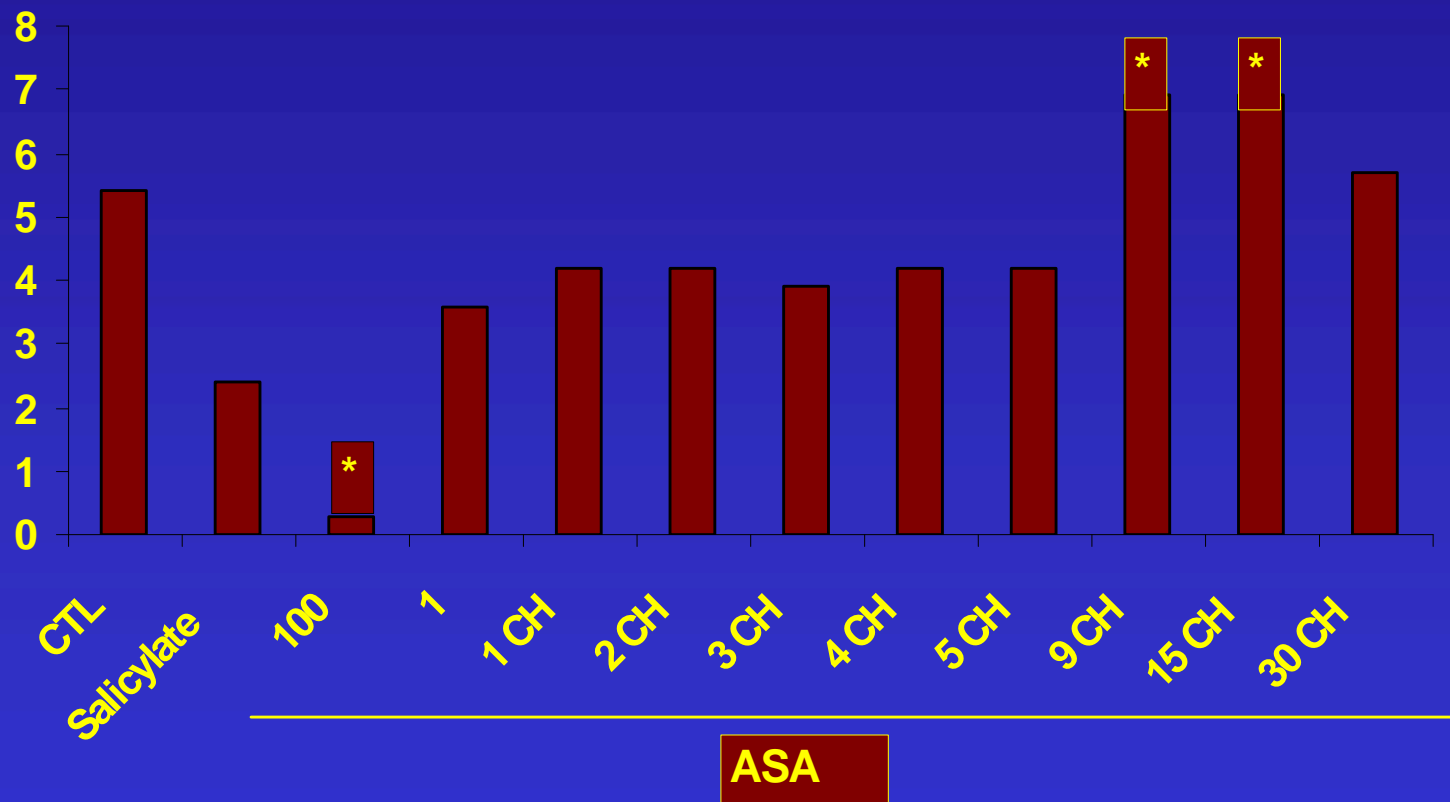




Résultats :

Effets des différentes concentrations d'aspirine

Amplitude de l'agrégation plaquettaire :





Conclusion

L'aspirine 100 mg/kg présente bien une action anti-agrégante et anti-thrombotique.

Aux très faibles doses (9, 15, 30 CH avec un maximum en 15 CH), elle est pro-agrégante, pro-thrombotique.



Action thrombo-embolique de l'aspirine plusieurs jours après son administration

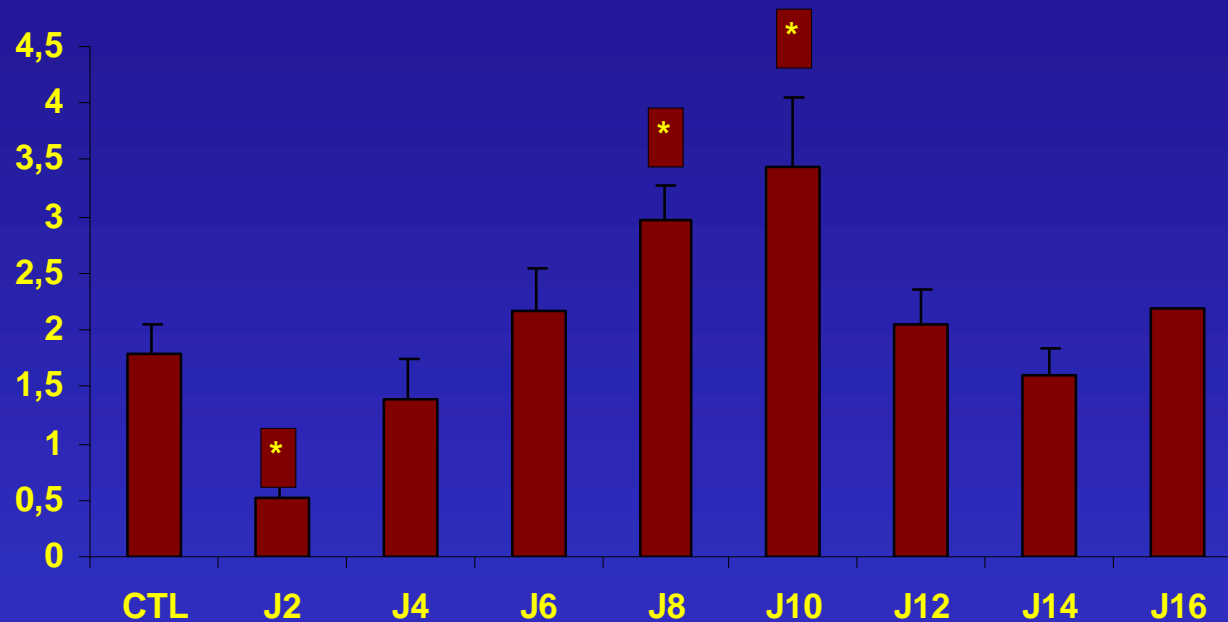
Aguejouv et coll. Thrombosis Research 1998

Étude de la thrombose pendant 16 jours suivant une
administration unique d'aspirine 100 mg/kg chez le rat



Résultats

Durée d'embolisation

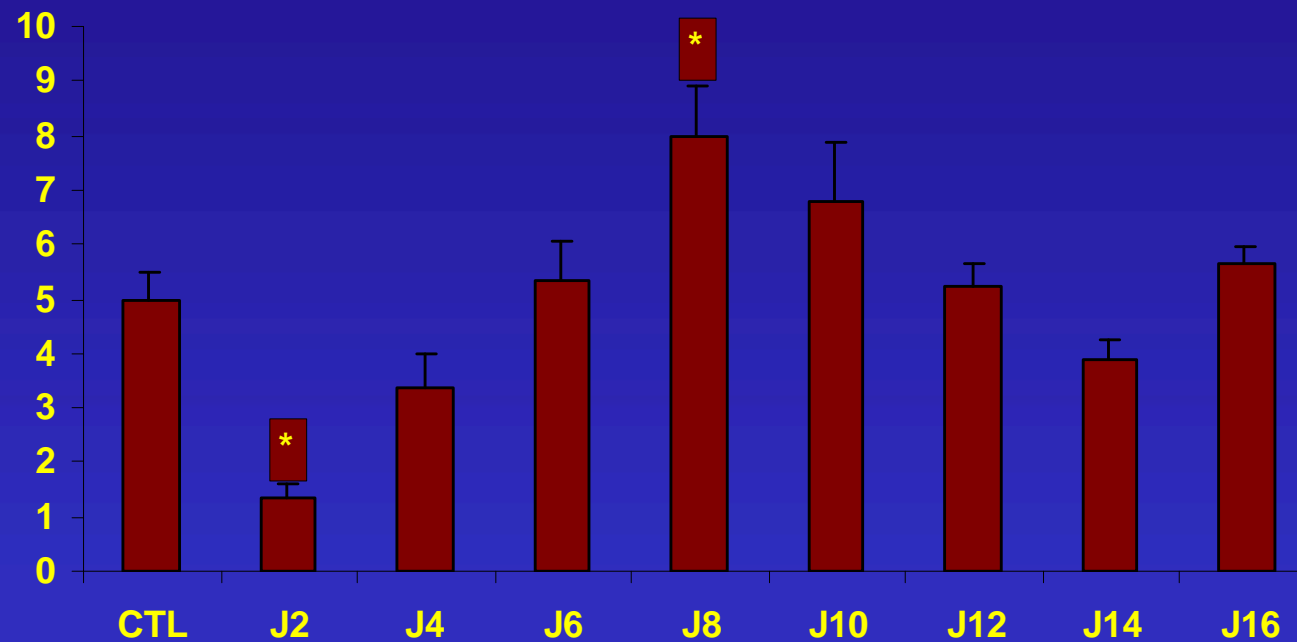


Diminution de la durée d'embolisation 2 jours après traitement par l'aspirine 100 mg/kg.
Augmentation 8 et 10 jours après.



Résultats

Nombre d'embolies



Diminution du nombre d'embolies 2 jours après traitement par l'aspirine 100 mg/kg.

Augmentation 8 jours après.



Conclusion

Plusieurs jours après son administration, l'aspirine 100 mg/kg a une action thrombogène.

Cet effet est semblable à celui de l'aspirine à dose ultra faible.



Neutralisation de l'effet de deux doses d'aspirine

Belougne-Malfatti et coll. Thrombosis Research 1998

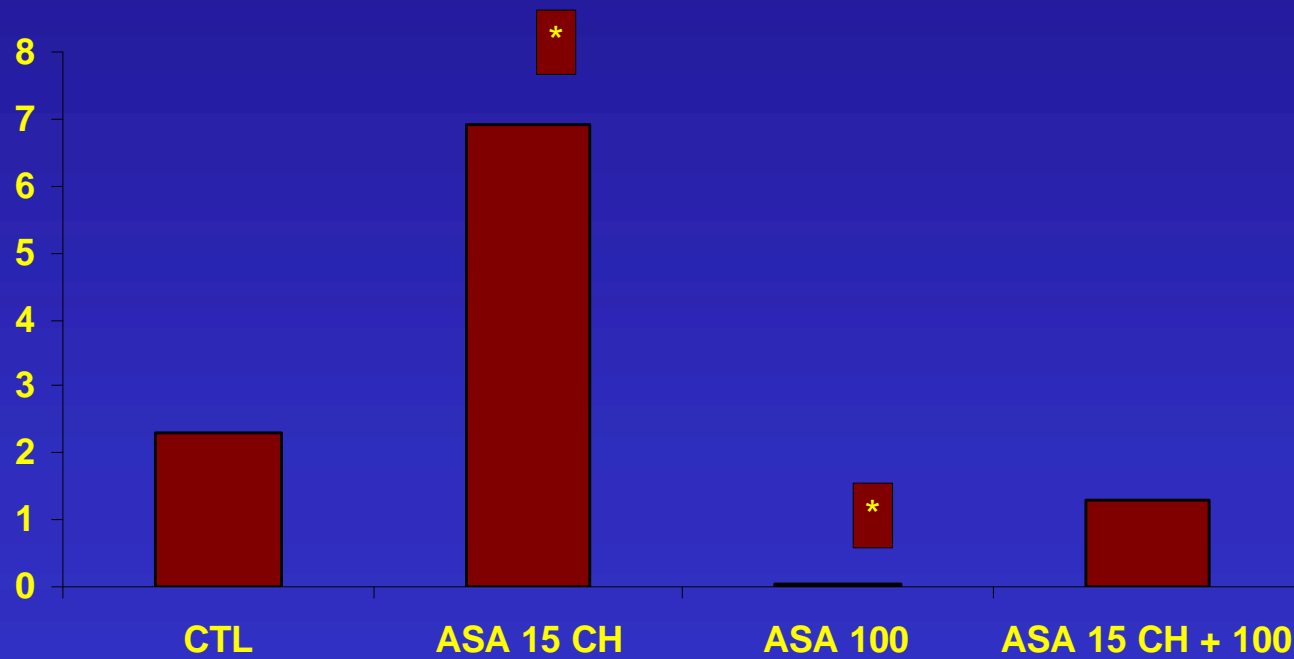
4 groupes testés :

- Contrôle
- ASA 15 CH
- ASA 100 mg/kg
- ASA 15 CH + 100 mg/kg



Résultats

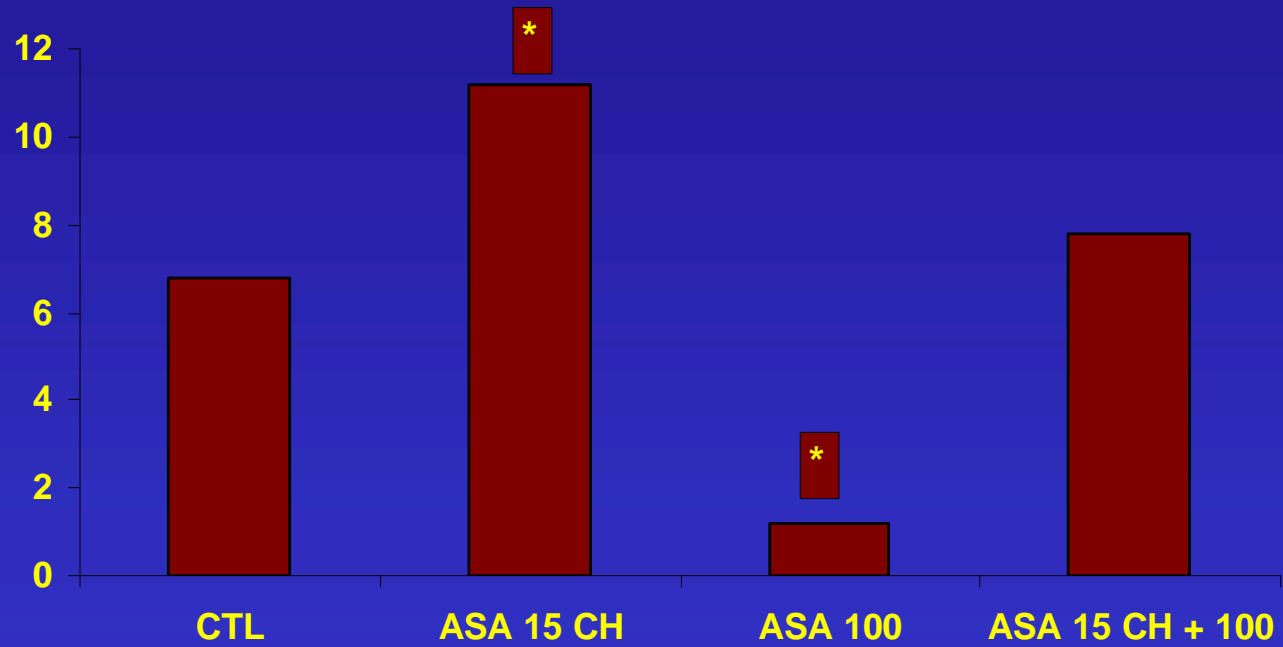
Amplitude de l'agrégation plaquettaire





Résultats

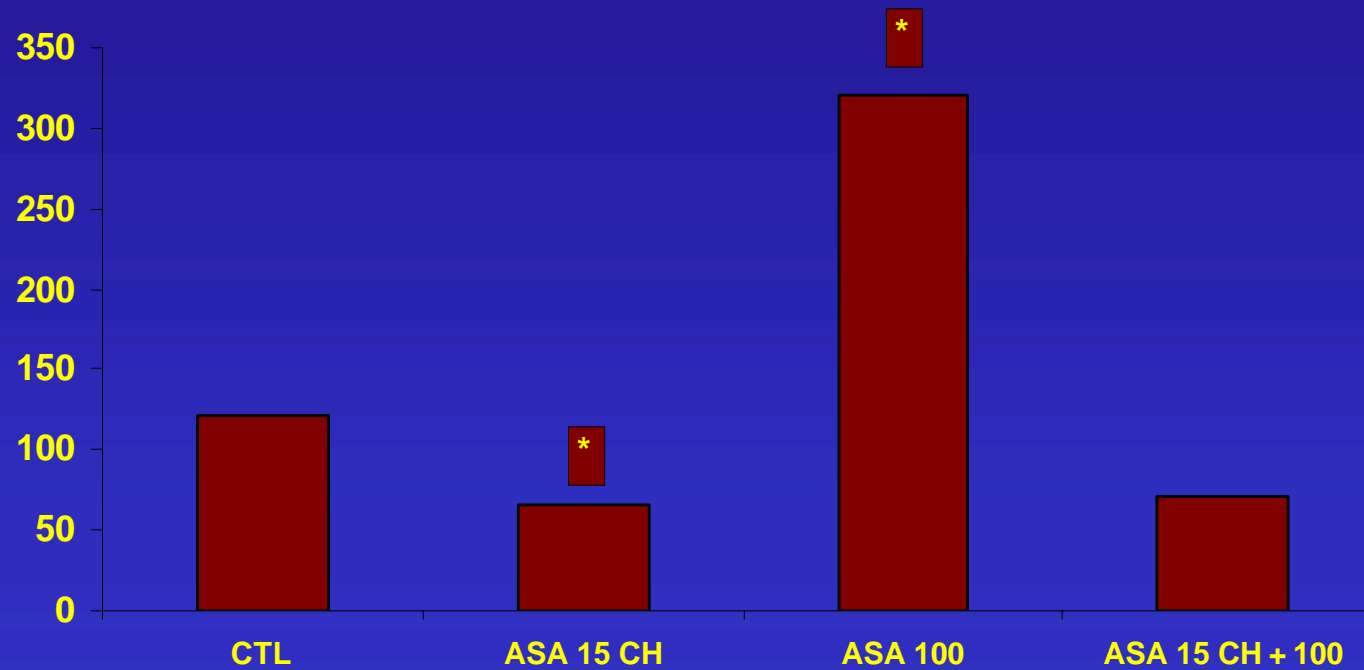
Nombre d'embolies





Résultats

Temps de saignement





Résultats

Concentration plasmatique en aspirine ($\mu\text{mol/l}$) :

ASA 15 CH : non détectée

ASA 100 : 0.23 +/- 0.05

ASA 15 CH + 100 : 0.28 +/- 0.1



Conclusion

L'aspirine 15 CH neutralise les effets anti-agrégant et anti-thrombotique de l'aspirine à 100 mg/kg.

D'autres études sont nécessaires pour déterminer si cette neutralisation peut réduire le risque hémorragique lié à la prise d'aspirine à dose pondérale.



l'ASA 15 CH et hypertension portale

L'intérêt de cette nouvelle étude chez l'animal réside dans l'application thérapeutique de l'ASA 15 CH à un phénomène physiopathologique: l'hypertension portale provoquée.

Platelet Aggregation in Portal Hypertension and Its Modification
by Ultra-Low Doses of Aspirin.

F. Eizayaga, O. Aguejoug, P. Belon, C. Doutremepuich.

Pathophysiol of Haemost Thromb 2005; 34:29-34.



L'hypertension portale induit:

- Des modifications de l'agrégation plaquettaire
- Un développement de la circulation collatérale
- Des hémorragies digestives

L'hypertension est provoquée chez l'animal par une ligature de la veine porte.

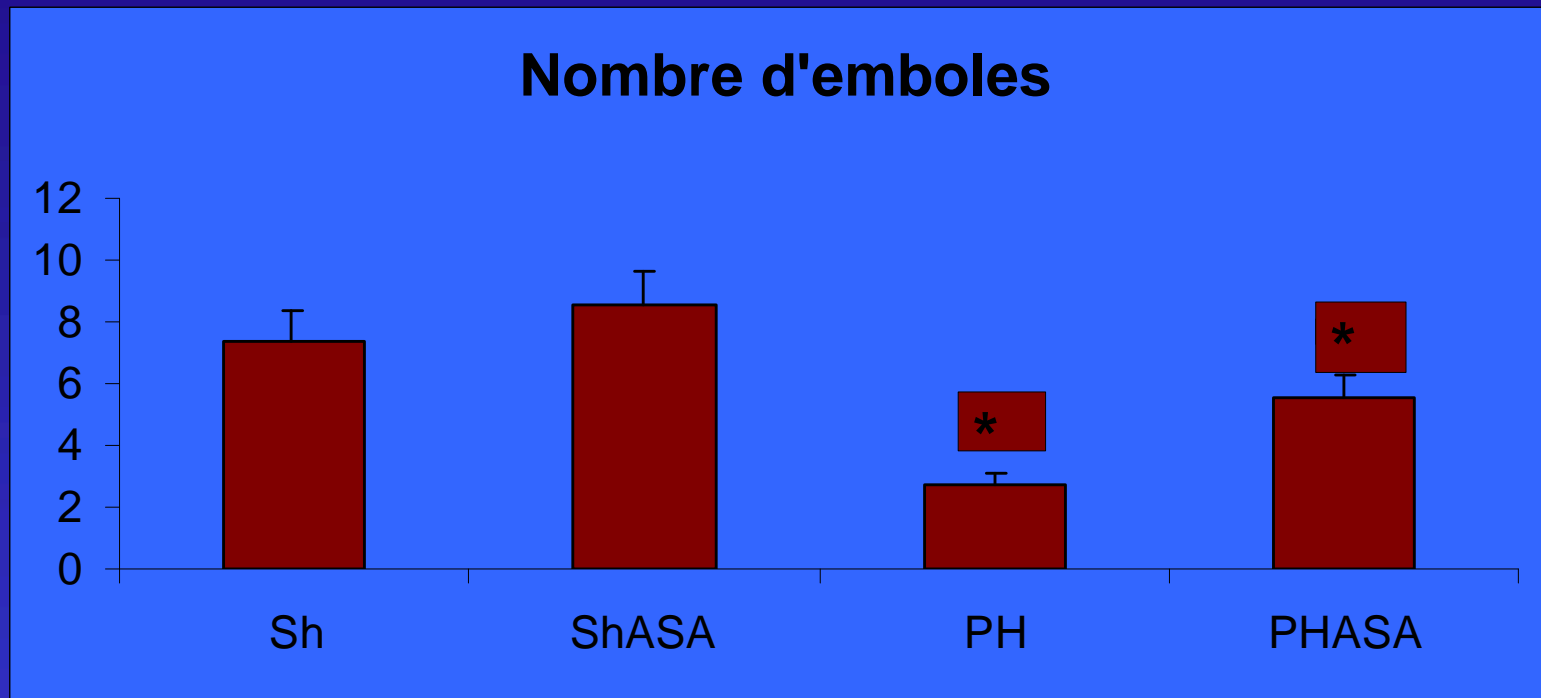
L'action de l'ASA 15 CH est évaluée par la mesure des paramètres d'agrégation plaquettaire et de thrombogénèse .

Cette étude est réalisée sur 4 groupes de rats:

- 1) Non ligaturé-placebo. (**Sh**)
- 2) Non ligaturé-ASA 15. (**ShASA**)
- 3) Ligaturé-placebo . (**PH**)
- 4) Ligaturé-ASA 15. (**PHASA**)



Résultats

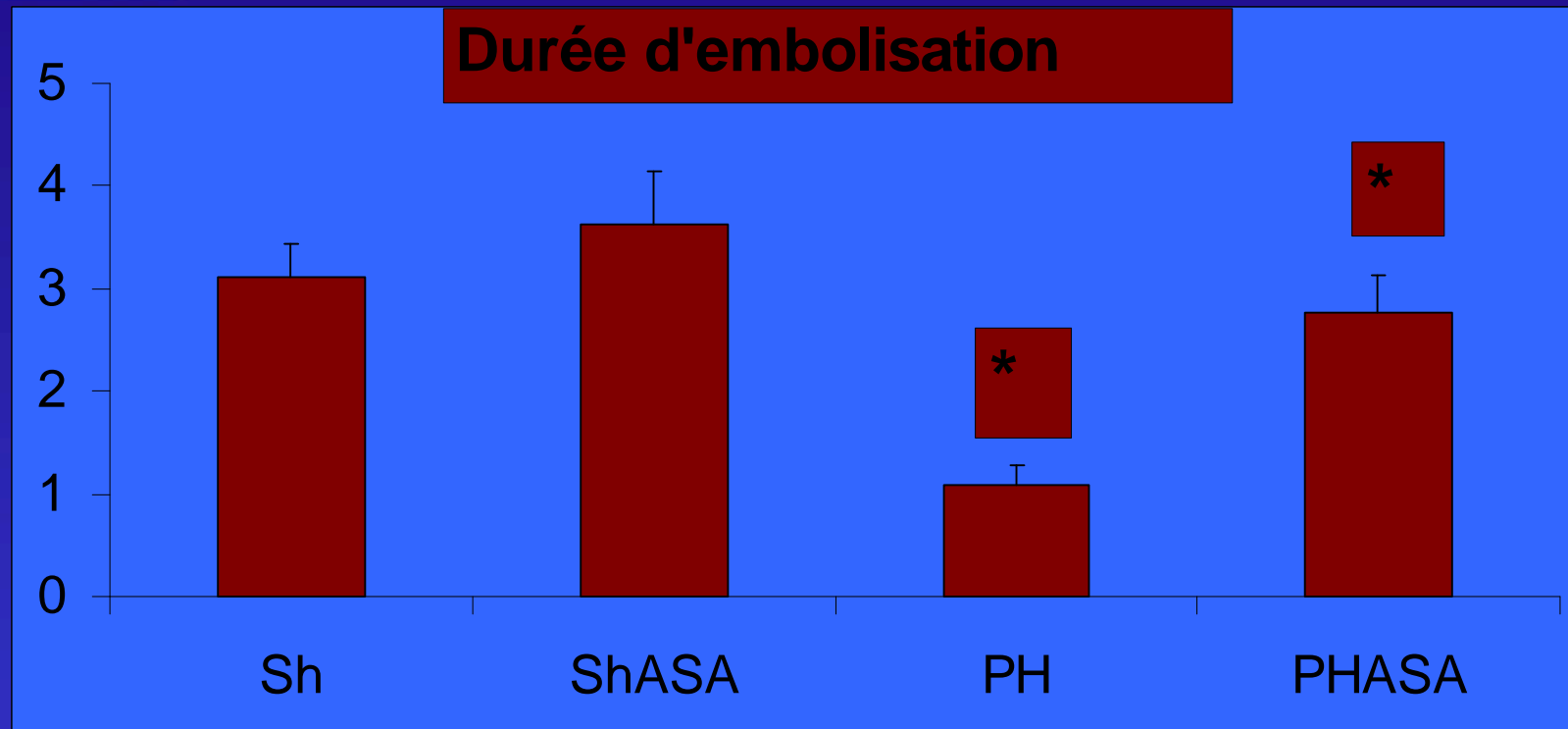


PH : * $p < 0.05$ vs. Sh

PHASA : * $p < 0.05$ vs. PH



Résultats

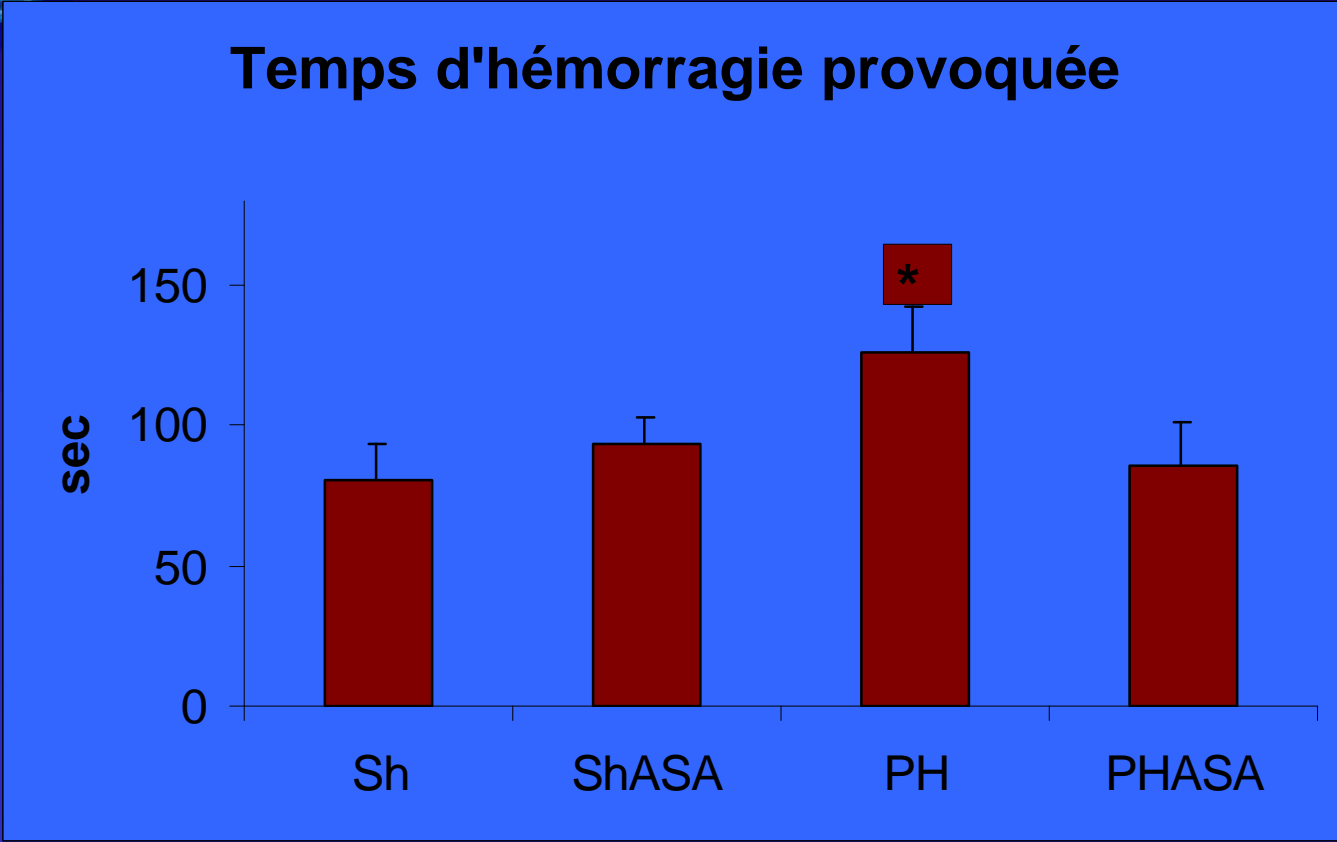


PH : * $p < 0.05$ vs. Sh

PHASA : * $p < 0.05$ vs. PH



Résultats



PH : *p<0.05 vs. Sh



Résultats

- On démontre ici pour la première fois que l'aspirine 15 CH est capable d'une activité thérapeutique sur un phénomène physiopathologique tel que l'hypertension portale.
- Il ne s'agit donc plus uniquement de l'observation d'un phénomène pharmacologique mais bien d'une action thérapeutique.



L 'effet de l 'action de deux inhibiteurs de la cyclo-oxygénase sur le mécanisme de l 'ASA 15 CH

- Même Protocole expérimental (12 groupes).
- Blocage de COX 1 et COX2 avec des inhibiteurs sélectifs. Le blocage sélectif nous permettra d'étudier le rôle de ces 2 COX dans l 'activité de l 'ASA 15 CH
 - SC-560: Blocage COX1
 - NS-398: Blocage COX2



- La COX 1 est présente au niveau de la Plaquette et stimule la production de la TxA2.
- La COX 2 est présente au niveau de la paroi vasculaire et stimule surtout la production de PGI 2.



Résultats

| Groupes | Nombre d'emboles | Durée d'embolisation (min) | THP (sec) |
|------------------|------------------|----------------------------|----------------|
| Plac-Plac | 4,43 ± 0,45 | 1,93 ± 0,24 | 146,2 ± 27,20 |
| Plac-ASA 15 CH | 8,25 ± 0,57 | 4,00 ± 0,37 | 158,1 ± 30,26 |
| SC-560-Plac | 2,20 ± 0,29 | 1,27 ± 0,27 | 166,3 ± 23,18 |
| SC-560-ASA15CH | 9,37 ± 1,64* | 4,26 ± 0,86* | 78,44 ± 12,85* |
| NS-398-Plac | 5,50 ± 0,09 | 2,50 ± 0,50 | 182,4 ± 46,90 |
| NS-398-ASA 15 CH | 7,43 ± 1,52 | 3,57 ± 0,68 | 96,55 ± 22,43 |

*p<0,05 vs contrôle



Conclusions

- L'action de l'ASA 15 CH est bloquée par l'inhibiteur de la COX2 (NS-398).
- Ceci suggère l'intervention de la voie de la cyclo-oxygénase 2 COX2 dans le mécanisme d'action de l'ASA 15 CH.
- L'activité pro-thrombotique de l'ASA 15 CH semble être due à l'inhibition de la COX2 qui induit la production endothéliale de la PGI2.



Bibliographie (1)

1. Doutremepuich C, de Seze O, Anne MC, Hariveau E, Quilichini R.

Platelet aggregation on whole blood after administration of ultra low dosage acetylsalicylic acid in healthy volunteers.

Thromb Res Suppl. 1987 Aug 1;47(3):373-7.

2. Doutremepuich C, Pailley D, Anne MC, de Seze O, Paccalin J, Quilichini R.

Template bleeding time after ingestion of ultra low dosages of acetyl salicylic acid in healthy subjects. Preliminary study.

Thromb Res Suppl. 1987 Nov 15;48(4):501-4.

3. Doutremepuich C, Paillet D, De Seze O, Anne MC, Paccalin J, Quilichini R.

Variation of bleeding time after administration of acetyl salicylic acid at different doses in the healthy volunteer

Ann Pharm Fr. 1988;46(1):35-9.

4. Doutremepuich C, de Seze O, Le Roy D, Lalanne MC, Anne MC.

Aspirin at very ultra low dosage in healthy volunteers: effects on bleeding time, platelet aggregation and coagulation.

Haemostasis. 1990;20(2):99-105.



Bibliographie (2)

5. Lalanne MC, Doutremepuich C, de Seze O, Belon P.

What is the effect of acetylsalicylic acid at ultra low dose on the interaction platelets/vessel wall?

Thromb Res Suppl. 1990 Nov 1;60(3):231-6.

6. Lalanne MC, de Seze O, Doutremepuich C, Belon P.

Could proteolytic enzyme modulate the interaction platelets/vessel wall in presence of ASA at ultra low doses?

Thromb Res Suppl. 1991 Aug 15;63(4):419-26.

7. Lalanne MC, Ramboer I, de Seze O, Doutremepuich C.

In vitro platelets/endothelial cells interactions in presence of acetylsalicylic acid at various dosages.

Thromb Res. 1992 Jan 1;65(1):33-43.

8. Vesvres MH, Doutremepuich F, Lalanne MC, Doutremepuich C.

Effects of aspirin on embolization in an arterial model of laser-induced thrombus formation.

Haemostasis. 1993;23(1):8-12.



Bibliographie (3)

9. Doutremepuich C, Aguejoug O, Pintigny D, Sertillanges MN, De Seze O.

Thrombogenic properties of ultra-low-dose of acetylsalicylic acid in a vessel model of laser-induced thrombus formation.

Thromb Res. 1994 Oct 15;76(2):225-9.

10. Doutremepuich C, Aguejoug O, Belon P.

Effects of ultra-low-dose aspirin on embolization in a model of laser-induced thrombus formation.

Semin Thromb Hemost. 1996;22 Suppl 1:67-70.

11. Aguejoug O, Belougne-Malfatti E, Doutremepuich F, Belon P, Doutremepuich C.

Thromboembolic complications several days after a single-dose administration of aspirin.

Thromb Res. 1998 Feb 1;89(3):123-7.

12. Belougne-Malfatti E, Aguejoug O, Doutremepuich F, Belon P, Doutremepuich C.

Combination of two doses of acetyl salicylic acid: experimental study of arterial thrombosis.

Thromb Res. 1998 Jun 1;90(5):215-21.



Bibliographie (4)

13. Aguejoug O, Malfatti E, Belon P, Doutremepuich C.

Effects of acetyl salicylic acid therapy on an experimental thrombosis induced by laser beam.

Thromb Res. 2000 Sep 15;99(6):595-602.

14. Aguejoug O, Malfatti E, Belon P, Doutremepuich C.

Time related neutralization of two doses acetyl salicylic acid.

Thromb Res. 2000 Nov 15;100(4):317-23.

15. F. Eizayaga, O. Aguejoug, P. Belon, C. Doutremepuich

Platelet Aggregation in Portal Hypertension and Its Modification by Ultra-Low Doses of Aspirin.

Pathophysiol of Haemost Thromb 2005; 34:29-34.

16. F. Eizayaga, O. Aguejoug, V. Desplat, P. Belon, C. Doutremepuich.

Modifications Produced by Indomethacin and L-NAME in the Effect of Ultralow-Dose Aspirin on Platelet Activity in Portal Hypertension.

Pathophysiol of Haemost Thromb sous-press.