

Голухова Е. З., Григорян М. В., Рябинина М. Н., Булаева Н. И.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева»
Минздрава России, Москва

ДЕТЕРМИНАНТЫ ВЫСОКОЙ РЕАКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ НА ФОНЕ ДВУХКОМПОНЕНТНОЙ АНТИАГРЕГАНТНОЙ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА ПЕРЕД ПЛАНОВЫМ ЧРЕСКОЖНЫМ КОРОНАРНЫМ ВМЕШАТЕЛЬСТВОМ

Ключевые слова: реактивность тромбоцитов, агрегация тромбоцитов, провоспалительные маркеры, полиморфизм CYP2C19, коронарное стентирование, ишемическая болезнь сердца, VerifyNow.

Ссылка для цитирования: Голухова Е. З., Григорян М. В., Рябинина М. Н., Булаева Н. И. Детерминанты высокой реактивности тромбоцитов на фоне двухкомпонентной антиагрегантной терапии у больных ишемической болезнью сердца перед плановым чрескожным коронарным вмешательством. Кардиология. 2018;58(4):5–14.

РЕЗЮМЕ

Цель исследования. Выявить различные клинические, лабораторные и генетические факторы, определяющие высокую реактивность тромбоцитов (ВРТ) на фоне двухкомпонентной антиагрегантной терапии (ДААТ). **Материалы и методы.** В исследование были включены 94 больных со стабильной формой ишемической болезни сердца – ИБС (средний возраст $59 \pm 9,67$ года). Всем пациентам выполнено чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ) с имплантацией стентов с лекарственным покрытием на фоне ДААТ ацетилсалициловой кислотой и клопидогрелом. Функция тромбоцитов оценивалась с помощью световой агрегатометрии с 5 мкмоль/л АДФ, а также с помощью нового автоматизированного метода VerifyNow до проведения ЧКВ. Всем пациентам проведено генотипирование по CYP2C19. ВРТ определялась у пациентов с АДФ-индуцированной агрегацией 50% и более, а также при PRU 208 и более по данным метода VerifyNow. В ходе исследования также определялись такие воспалительные маркеры, как высокочувствительный С-реактивный белок (вч-СРБ), Р-селектин, интерлейкин-6, CD40 лиганд, ингибитор активатора плазминогена-1 и активность фактора Виллебранда. **Результаты.** Частота ВРТ, по данным АДФ-индуцированной агрегатометрии, составила 16%, а по данным метода VerifyNow – 24,5%. С помощью однофакторного регрессионного анализа выявлены следующие лабораторные факторы, определяющие ВРТ по данным АДФ-индуцированной агрегатометрии: индекс массы тела ($p=0,02$), уровень общего холестерина ($p=0,01$) и липопротеинов низкой плотности (ЛНП; $p=0,0004$). Среди воспалительных факторов влиянием обладали уровень вч-СРБ ($p=0,01$), растворимого Р-селектина ($p=0,009$) и активность фактора Виллебранда ($p=0,04$). Носительство аллеля CYP2C19*2 также являлось фактором, определяющим ВРТ на фоне ДААТ ($p=0,006$). После этого с помощью многофакторного регрессионного анализа были выявлены независимые факторы: индекс массы тела ($p=0,03$) и уровень растворимого Р-селектина ($p=0,03$). **Выводы.** Высокий индекс массы тела, носительство аллеля CYP2C19*2, уровень общего холестерина, ЛНП, вч-СРБ и растворимого Р-селектина достоверно ассоциируются с ВРТ по данным световой агрегатометрии. Независимыми факторами, определяющими ВРТ, являются индекс массы тела и растворимый Р-селектин.

Golukhova E. Z., Grigoryan M. V., Ryabinina M. N., Bulaeva N. I.

A. N. Bakoulev Scientific Center for Cardiovascular Surgery, Moscow, Russia

HIGH ON-TREATMENT PLATELET REACTIVITY DETERMINANTS ON DUAL ANTIPLATELET THERAPY IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE BEFORE ELECTIVE PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION

Keywords: platelet reactivity; platelet aggregation; proinflammatory markers; CYP2C19 polymorphism; coronary stenting; coronary heart disease; VerifyNow.

For citation: Golukhova E. Z., Grigoryan M. V., Ryabinina M. N., Bulaeva N. I. High On-Treatment Platelet Reactivity Determinants on Dual Antiplatelet Therapy in Patients With Ischemic Heart Disease Before Elective Percutaneous Coronary Intervention. Kardiologiia. 2018;58(4):5–14.

SUMMARY

Objective: to determine impact of different laboratory and genetic factors on high on-treatment platelet reactivity (HOPR) during dual antiplatelet therapy (DAPT). **Methods.** We included in this study 94 patients with stable ischemic heart disease (mean age 59 ± 9.67 years). All patients underwent elective PCI with implantation of drug eluting stents at the background of dual antiplatelet

therapy (DAPT) with aspirin and clopidogrel. Platelet reactivity was assessed using light transmission aggregometry with 5 $\mu\text{mol/L}$ ADP (LTA SADP) and VerifyNow assay before PCI. All patients underwent genotyping to detect CYP2C19 polymorphism. In 74 patients at baseline examination we determined levels of high-sensitivity C-reactive protein (hsCPR), soluble platelet-selectin (sP-selectin), soluble CD40-ligand (sCD40L), interleukin-6 (IL-6), plasminogen activator inhibitor (PAI-1) and activity of von Willebrand factor. *Results.* Incidence of HOPR according to LTA-SADP was 16% and VerifyNow – 24.5%. Univariate regression analysis showed that the following factors were significantly associated with HPR determined by LTA-SADP: body mass index (BMI) ($p=0.02$), levels of total cholesterol (CH) ($p=0.01$), low density lipoprotein CH ($p=0.004$), and sP-selectin ($p=0.009$), activity of von Willebrand factor ($p=0.04$). Carriage of CYP2C19*2 allele was also associated with HOPR ($p=0.006$). According to multivariate regression analysis body mass index and level of sP-selectin were independent predictors of HOPR during DAPT. *Conclusions.* HOPR determined by LTA was significantly associated with high BMI, levels of total and LDL CH, carriage of CYP2C19*2 allele, levels of hsCRP and sP-selectin. Independent factors significantly related to HOPR were BMI and sP-selectin level.

Проблема вариабельности ответа на двойную антиагрегантную терапию (ДААТ) сохраняет свою актуальность, несмотря на большое количество исследований, посвященных этой проблеме. По данным различных источников, частота высокой реактивности тромбоцитов (ВРТ) на фоне приема клопидогрела составляет около 30% [1]. Осложнения в ходе проведения чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) имеют место у значительного числа пациентов [2, 3]. Отчасти объяснением может служить наличие у пациента недостаточно ответа на ДААТ. У пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) и ВРТ риск развития тяжелых кардиальных осложнений («больших кардиальных событий») после ЧКВ, в том числе тромбоза стента, увеличивается в 2–3 раза, а общая смертность – в 1,5 раза [1, 4, 5]. Более 10 лет назад были представлены неоспоримые доказательства наличия индивидуальной вариабельности ответа на прием клопидогрела, а также выявлены некоторые клинические и генетические факторы, определяющие метаболизм препарата [6–8]. Позднее L. Bonello и соавт. продемонстрировали индивидуальную вариабельность ответа на прием нагрузочной дозы клопидогрела по данным различных лабораторных методов [9]. В 2014 г. был опубликован Консенсус экспертов с участием Рабочей группы по тромбозам Европейского общества кардиологов, в котором были представлены стандартизированные лабораторные методы оценки функции тромбоцитов на фоне ДААТ и референсные значения для каждого из методов [10].

Тем не менее пока не получено прямых доказательств прогностического влияния ВРТ на исход после ЧКВ [11–13]. В связи с этим вопрос о необходимости лабораторного контроля реактивности тромбоцитов остается открытым, а наиболее распространенным методом оценки реактивности тромбоцитов на фоне ДААТ на территории Российской Федерации является нестандартизированная световая оптическая агрегатометрия.

Клопидогрел и прасугрел являются пролекарствами ингибиторов рецептора P2Y₁₂, которым требуется преобразование в активные метаболиты через систему цитохрома P450 (CYP). Определенные аллели CYP2C19

(*2, *3–*8) связаны с подавлением ферментативной функции и снижением конверсии клопидогрела/prasugrela в активный метаболит. Напротив, аллель CYP2C19*17 ассоциируется с увеличением транскрипции CYP2C19, что приводит к умеренному усилению антиагрегантного эффекта. Аллели CYP2C19 наследуются как аутосомно-доминантный признак и фенотипически проявляются различной скоростью метаболизма. В связи с этим выделяют несколько типов метаболизаторов: ультрабыстрые (*1/*17, *17/*17), экстенсивные (*1/*1), промежуточные (*1/*2, *1/*3) и медленные (*2/*2, *2/*3, *3/*3) [14, 15].

Цель исследования: определение генетических, клинических и лабораторных факторов, определяющих высокую реактивность тромбоцитов на фоне ДААТ, у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) перед плановым стентированием коронарных артерий.

Материалы и методы

В настоящее проспективное исследование были включены 94 пациента со стабильным течением ИБС, которые были госпитализированы в Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева для проведения ЧКВ с имплантацией стентов с лекарственным покрытием. Критерием включения в данное исследование являлось наличие стресс-индуцированной ишемии, подтвержденное различными инвазивными и неинвазивными методами. В исследование не включали пациентов с непереносимостью клопидогрела и ацетилсалициловой кислоты (АСК), ОКС, обширными травмами и хирургическими вмешательствами в течение 1 мес до включения, уровнем гемоглобина <100 г/л, содержанием тромбоцитов $(<100$ и $>450) \times 10^9/\text{л}$, гематокритом $<30\%$, уровнем в сыворотке крови креатинина $>2,0$ мг/мл или проведением гемодиализа, сопутствующими воспалительными и онкологическими заболеваниями.

До проведения ЧКВ пациентам, которые не получали ДААТ (АСК 75–100 мг и клопидогрел 75 мг) до госпитализации, назначалась нагрузочная доза клопидогрела 600 мг и 300 мг АСК не менее чем за 24 ч до забора венозной крови и ЧКВ. В день операции производился забор венозной крови для проведения следующих тестов:

1. Определение остаточной реактивности тромбоцитов по данным:

- световой оптической агрегатометрии с 5 мкмоль/л АДФ с определением максимальной степени агрегации. Высокая реактивность тромбоцитов устанавливалась при агрегации с 5 мкмоль/л АДФ (АГР 5АДФ) $\geq 50\%$;
- автоматизированного метода VerifyNow с наборами P2Y12 и Aspirin, в ходе которого оценивался антиагрегантный ответ на прием клопидогрела (PRU – единицы реакции P2Y12-рецепторов) и АСК (ARU – единицы реакции на АСК), соответственно. Высокая реактивность тромбоцитов устанавливалась при ARU ≥ 550 и PRU ≥ 208 согласно рекомендациям фирмы-производителя;

2. Определение уровня следующих провоспалительных биомаркеров:

- высокочувствительного С-реактивного белка (вч-СРБ) с помощью иммунохимической системы IMAGE;
- растворимого Р-селектина с помощью иммуноферментного набора для количественного определения человеческого sP-селектина в плазме;
- растворимого CD40 лиганда (sCD40L) с помощью иммуноферментного набора для количественного определения человеческого sCD40L в плазме;
- высокочувствительного интерлейкина-6 (вч-ИЛ-6) с помощью иммуноферментного набора для количественного определения ИЛ-6 человека в плазме;
- ингибитора активатора плазминогена-1 (PAI-1) в плазме с использованием иммуноферментного набора TECHNOZYME PAI-1-antigen-ELISA);
- активности фактора Виллебранда в плазме с помощью иммуноферментного набора HemosIL von Willebrand Factor с усиленными латексными частицами методом иммунотурбидиметрии;

3. Генотипирование для выявления полиморфизма CYP2C19 по аллелю *2 выполняли с помощью наборов SNP-экспресс-РВ на приборе iCycler IQ5. Результаты генотипирования получены после выписки пациентов и не влияли на режим дозирования АСК и клопидогрела.

Всем пациентам после имплантации стентов с лекарственным покрытием назначали поддерживающие дозы ДААТ (АСК 100 мг/сут и клопидогрел 75 мг/сут) длительностью не менее 12 мес. После выписки из стационара пациенты находились под наблюдением (визиты и/или связь по телефону через 1, 3, 6 и 12 мес). Период наблюдения за пациентами составил $28,2 \pm 15,5$ мес.

Все расчеты проведены с использованием программ Microsoft Excel 2007, Statistica 8.0 и SPSS Statistics 17.0. Номинальные переменные представлены в виде долей, количественные – в виде медиан, а также минимальных и максимальных значений. При сравнении групп исполь-

зовали непараметрические методы (тест Манна–Уитни для количественных признаков и тест Фишера для номинальных переменных). Для выявления факторов риска развития ишемических осложнений после ЧКВ выполнены однофакторные, затем многофакторные регрессионные анализы (логистическая регрессия). Количественные признаки оценивали на прогностическую значимость также на основании ROC-кривых. Для всех факторов, показавших прогностическую значимость при анализе с помощью ROC-кривых, выполнялся выбор пороговых значений. Выбор пороговых значений количественных факторов основывался на задаче о необходимости максимальной чувствительности и специфичности факторов. Для каждого полученного порогового значения рассчитаны чувствительность и специфичность. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

Основная исходная характеристика, а также результаты лабораторно-инструментальных обследований пациентов до ЧКВ представлены в табл. 1.

Частота выявления ВРТ по данным различных лабораторных исследований

В исследуемой выборке пациентов ВРТ на фоне приема АСК и клопидогрела определялась с помощью световой оптической агрегатометрии с 5 мкмоль/л АДФ (АГР 5АДФ) при значениях 50% и более, а также с помощью метода VerifyNow с наборами P2Y12 и Aspirin при PRU 208 и более. По данным АДФ-индуцированной агрегатометрии, ВРТ имели 15 (16%) пациентов, в то время как по данным VerifyNow – 23 (24,5%) (см. рисунок 1).

Частота неблагоприятных кардиальных исходов у пациентов с ВРТ составила 66,7% против 33,3%

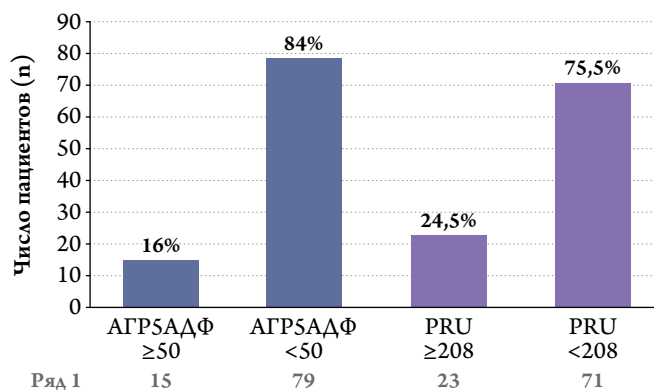


Рис. 1. Распределение пациентов по частоте выявления ВРТ на фоне ДААТ по данным различных лабораторных исследований.

АГР 5АДФ – световая оптическая агрегатометрия с 5 мкмоль/л АДФ; ВРТ – высокая реактивность тромбоцитов; ДААТ – двухкомпонентная антиагрегантная терапия.

Таблица 1. Общая клиническая характеристика пациентов (n=94)

Параметр	N/Медиана*	Частота или Max – Min*
Пол		
• мужской	81	86,2%
• женский	13	13,8%
Возраст, годы	59	35–76
ИМТ, кг/м²	28,7	20,0–41,1
Курение	56	59,6%
Сахарный диабет 2-го типа	19	20,2%
Артериальная гипертензия	86	91,5%
Гиперлипидемия	59	62,8%
ОИМ в анамнезе	51	54,3%
ЧКВ в анамнезе	30	31,9%
Функциональный класс стенокардии		
II	21	22,3%
III	72	76,6%
IV	1	1,1%
Медикаментозная терапия до ЧКВ		
АСК	93	98,9%
клопидогрел	62	66%
статины	42	44,7%
ингибиторы протонной помпы	16	17%
блокаторы кальциевых каналов	18	19,1%
Данные эхокардиографии		
ФВ ЛЖ, %	62	32–76
КСР, мм	3,3	2,3–5,2
КДР, мм	5,2	3,4–6,6
КСО, мл	44	27–170
КДО, мл	130	75–255
ТМЖП, мм	12	8–16
ТЗСЛЖ, мм	11	8–16
Наличие гипокинезии	26	27,7%
Гематологические и биохимические параметры		
Гемоглобин, г/л	142	116–176
Гематокрит, %	43	30–51,7
Число тромбоцитов, 10 ⁹ /л	235	126–400
Мочевина, ммоль/л	5,7	2,6–18,5
Креатинин, мкмоль/л	90	59–141
Общий холестерин, ммоль/л	4,89	2,06–9,56
ЛНП, ммоль/л	2,87	0,94–7,31
ЛВП, ммоль/л	0,87	0,51–1,66
Триглицериды, ммоль/л	1,28	0,37–15
Глюкоза, ммоль/л	5,4	3,8–14,5
Методы оценки реактивности тромбоцитов		
Агрегация с 5 ммоль/л АДФ, %	38,4	7,0–65,0
ARU	390	250–591
PRU	159	25–336
% ингибирования P2Y ₁₂	41	0–98
Провоспалительные маркеры		
вч-СРБ, мг/дл	1,53	0,16–17,7
sP-селектин, нг/мл	56,14	20,54–120,41
sCD40L, нг/л	0,67	0,06–10,73
вч-ИЛ-6, пг/мл	1,28	0,16–9,76
РАI-1, нг/мл	51,18	3,93–124,00
Фактор Виллебранда (антиген), %	88,7	46,7–189,1

* – номинальные переменные представлены в виде долей, количественные переменные – в виде медиан, а также минимальных и максимальных значений. Здесь и в табл. 2, 3: ИМТ – индекс массы тела; ОИМ – острый инфаркт миокарда; ЧКВ – чрескожное коронарное вмешательство; АСК – ацетилсалициловая кислота; ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка; КСР – конечный систолический размер; КДР – конечный диастолический размер; КСО – конечный систолический объем; КДО – конечный диастолический объем; ТМЖП – толщина межжелудочковой перегородки; ТЗСЛЖ – толщина задней стенки левого желудочка; ЛНП – липопротеины низкой плотности; ЛВП – липопротеины высокой плотности; АДФ – аденозиндифосфат; ARU – Aspirin Reaction Units – единицы реакции на АСК; PRU – P2Y₁₂ Reaction Units – единицы реакции рецепторов P2Y₁₂; вч-СРБ – высокочувствительный С-реактивный белок; sCD40L – растворимый лиганд CD40; sP-селектин – растворимый Р-селектин; вч-ИЛ-6 – высокочувствительный интерлейкин-6; РАI-1 – ингибитор активатора плазминогена-1.

Таблица 2. Сравнительная характеристика пациентов с нормальной реактивностью тромбоцитов и ВРТ

Параметр	АГР 5АДФ <50% (n=79; 84%)	АГР 5АДФ ≥50% (n=15; 16%)	p	ОР	95% ДИ	p
Возраст, годы	59 (35–76)	58 (41–75)	0,45	0,979	От 0,925 до 1,037	0,47
ИМТ, кг/м ²	28,3 (20,0–38,0)	30,7 (23,0–41,1)	0,09	1,001	От 1,000 до 1,003	0,02*
Пол						
• мужской	10 (12,7%)	12 (80%)	0,61	1,7	От 0,407 до 7,095	0,47
• женский	69 (87,3%)	3 (20%)				
Статус курения						
• да	46 (58,2%)	10 (66,7%)	0,54	0,697	От 0,218 до 2,230	0,54
• нет	33 (41,8%)	5 (33,3%)				
Сахарный диабет						
• да	15 (19%)	5 (33,3%)	0,21	0,431	От 0,127 до 1,458	0,18
• нет	64 (81%)	10 (66,7%)				
Артериальная гипертензия						
• да	72 (91,1%)	14 (93,3%)	0,78	0,735	От 0,084 до 6,448	0,78
• нет	7 (8,9%)	1 (6,7%)				
Применение статинов						
• да	42 (53,2%)	5 (33,3%)	0,15	1,762	От 0,552 до 5,626	0,34
• нет	37 (46,8%)	10 (66,7%)				
ФВ ЛЖ, %	62 (45–76)	63 (32–69)	0,99	0,962	От 0,892 до 1,037	0,32
Гемоглобин, г/л	142 (117–176)	146 (116–166)	0,59	1,011	От 0,968 до 1,056	0,62
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	231 (126–390)	263 (186–400)	0,13	1,007	От 0,998 до 1,016	0,1
Гематокрит, %	42,9 (30,0–51,7)	43,5 (31,0–50,0)	0,17	1,008	От 0,992 до 1,023	0,34
Общий холестерин, ммоль/л	4,7 (2,1–8,3)	5,7 (3,6–9,6)	0,007*	1,006	От 1,001 до 1,011	0,01*
Триглицериды, ммоль/л	1,24 (0,37–15,0)	1,48 (0,82–2,32)	0,35	1,000	От 0,995 до 1,004	0,85
ЛНП, ммоль/л	2,73 (0,94–4,99)	3,81 (1,91–7,31)	0,001*	1,012	От 1,004 до 1,020	0,004*
Носительство CYP2C19*2						
• да	18 (22,8%)	9 (60,0%)	0,0035*	0,197	От 0,062 до 0,627	0,006*
• нет	61 (79,7%)	6 (40,0%)				
вч-СРБ, мг/л	0,92 (0,16–7,04)	3,49 (0,67–17,7)	0,0039*	1,003	От 1,001 до 1,006	0,01*
sP-селектин, нг/мл	55,4 (20,5–120,4)	79,8 (49,8–111,3)	0,003*	1,000	От 1,000 до 1,001	0,009*
sCD40 лиганд, нг/мл	0,67 (0,06–10,73)	0,69 (0,07–2,17)	0,84	0,999	От 0,994 до 1,003	0,53
вч-ИЛ-6, пг/мл	1,13 (0,16–9,76)	1,79 (0,32–7,92)	0,33	1,000	От 1,000 до 1,000	0,99
РАI-1, нг/мл	37,68 (8,83–103,9)	53,14 (3,93–124,0)	0,53	1,000	От 1,000 до 1,000	0,99
Активность фактора Виллебранда, %	82,1 (46,7–187,4)	153,1 (53,4–189,1)	0,052	1,003	От 1,001 до 1,006	0,04*

Здесь и в табл. 3 номинальные переменные представлены в виде долей, количественные переменные – в виде медианы (минимум – максимум). * – статистически значимые различия. АГР 5АДФ – агрегация тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ; CYP2C19 – фермент из семейства цитохрома P450; *2 – аллель гена CYP2C19; вч-ИЛ-6 – высокочувствительный интерлейкин-6; ОР – отношение рисков; ДИ – доверительный интервал.

(p=0,20) и 37,5% (p=0,22) по данным световой агрегатометрии и метода VerifyNow соответственно. Достоверные различия в частоте событий после ЧКВ были установлены в группах с ВРТ и нормальной реактивностью тромбоцитов, по данным двух методов (66,7% против 16,4%; p=0,0039).

Сравнительная характеристика пациентов с нормальной и высокой реактивностью тромбоцитов и факторы, определяющие высокую ВРТ по данным световой агрегатометрии

В связи с тем что данные световой агрегатометрии обладают большей вариабельностью, меньшей специфичностью к определенным рецепторам, а также

демонстрируют общую агрегационную способность тромбоцитов по сравнению с методом VerifyNow, нами выполнен ряд регрессионных анализов для выявления факторов, влияющих на значения АДФ-индуцированной агрегации ≥50%. Первым этапом выполнен сравнительный анализ результатов, полученных у пациентов с нормальной реактивностью тромбоцитов и ВРТ (табл. 2). В дальнейшем проведен однофакторный регрессионный анализ, в который было включено более 35 клинико-демографических и лабораторно-инструментальных параметров и выявлены факторы, достоверно ассоциированные с ВРТ: индекс массы тела (отношение рисков – ОР 1,001 при 95% доверительном интервале – ДИ от 1,000 до 1,003; p=0,02), уровень общего

холестерина (ОР 1,006 при 95% ДИ от 1,001 до 1,011; $p=0,01$), ЛНП (ОР 1,012 при 95% ДИ от 1,004 до 1,020; $p=0,004$), носительство аллеля CYP2C19*2 (ОР 0,197 при 95% ДИ от 0,062 до 0,627; $p=0,006$), уровень вч-СРБ (ОР 1,003 при 95% ДИ от 1,001 до 1,006; $p=0,01$), sP-селектин (ОР 1,000 при 95% ДИ от 1,000 до 1,001; $p=0,009$) и активность фактора Виллебранда (ОР 1,003 при 95% ДИ от 1,001 до 1,006; $p=0,04$). При этом возраст, статус курения, сопутствующий сахарный диабет, артериальная гипертензия, уровни остальных маркеров воспалительного ответа (sCD40L, вч-ИЛ-6, PAI-1) и другие параметры не оказывали достоверного влияния на ВРТ.

У пациентов с нормальной реактивностью тромбоцитов носительство «дикого» аллеля (CYP2C19*1/*1) выявлено в 61 (77,2%) случае, а гетеро- и гомозиготное носительство аллеля CYP2C19*2 – в остальных 18 (22,8%). Частота носительства аллеля CYP2C19*2 в группе ВРТ составляла 40%, что достоверно выше, чем в группе нормальной реактивности тромбоцитов (40% против 20,3%; $p=0,0035$). Необходимо отметить, что все 3 пациента с гомозиготным носительством входили в группу ВРТ. Как отмечалось ранее, носительство аллеля со сниженной функцией является одним из факторов ВРТ по данным световой агрегатометрии.

С целью определения «критических значений» количественных показателей, оказывавших достоверное влияние на остаточную реактивность тромбоцитов, а также дополнительного подтверждения их определяющей роли в развитии ВРТ, был выполнен анализ с построением характеристических кривых (ROC-кривые). Так как в настоящее время отсутствуют общепринятые пороговые значения для данных показателей относительно их влияния на реактивность тромбоцитов, в качестве «критических» мы рассмотрели значения с максимальной чувствительностью и специфичностью. По результатам ROC-анализа были определены статистически значимые критические значения для 4 показателей: уровень общего холестерина, ЛНП, вч-СРБ и sP-селектин (табл. 3).

После получения данных однофакторного регрессионного анализа, в котором были выявлены факторы, влияющие на ВРТ (индекс массы тела, уровень общего холестерина, уровень ЛНП, носительство CYP2C19*2, исходный уровень вч-СРБ, sP-селектин, активность фактора Виллебранда), мы провели многофакторный регрессионный анализ для выявления независимых предикторов ВРТ. Независимыми факторами, определяющими ВРТ, по данным АДФ-индуцированной агрегации, стали индекс массы тела (ОР 1,003 при 95% ДИ от 1,000 до 1,006; $p=0,03$) и уровень sP-селектин (ОР 1,001 при 95% ДИ от 1,000 до 1,001; $p=0,03$).

Обсуждение

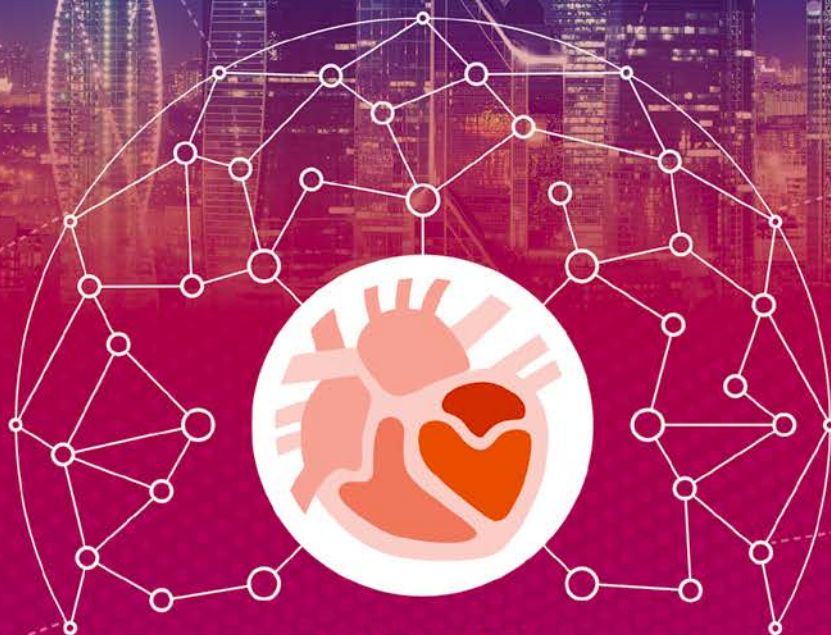
Одним из наиболее сильных независимых предикторов ишемических осложнений после ЧКВ является ВРТ на фоне ДААТ [16–18]. Однако остается открытым вопрос: является ли ВРТ лишь маркером или это модифицируемый фактор риска, так как до сих пор ни одно рандомизированное клиническое исследование не показало преимущества персонализированного подбора антиагрегантной терапии. Улучшение клинических исходов при персонализированном назначении ДААТ продемонстрировано в небольших рандомизированных [19] и нерандомизированных исследованиях [20], а также в недавних мета-анализах [5, 17], в которых показано достоверное снижение риска развития как тромботических осложнений, так и кровотечений.

Существует множество методик по оценке реактивности тромбоцитов: от менее специфичных, таких как световая трансмиссионная агрегатометрия, до высокоспецифичных, таких как оценка степени фосфорилирования фосфопротеина, стимулированного вазодилататором (VASP-тест), VerifyNow и др. В 2014 г. опубликован согласительный документ рабочей группы Европейского общества кардиологов по тромбозам, в котором были представлены методики, результаты применения которых можно использовать в качестве предикторов клинических исходов после ЧКВ у большого числа пациентов – VASP, Multiplate, VerifyNow и световая агрегатометрия

Таблица 3. Критические значения количественных факторов с достоверным влиянием на высокую остаточную реактивность тромбоцитов по данным однофакторного регрессионного анализа

Показатель	Критическое значение	AUC	95% ДИ	p	Se, %	Sp, %
ИМТ, кг/м ²	30	0,636	От 0,459 до 0,812	0,09	60	67
Общий холестерин, ммоль/л	5,41	0,721	От 0,582 до 0,860	0,007*	73	72
ЛНП, ммоль/л	3,25	0,783	От 0,644 до 0,922	0,001*	85	70
вч-СРБ, мг/л	1,04	0,768	От 0,631 до 0,905	0,004*	92	54
sP-селектин, нг/мл	76,93	0,800	От 0,668 до 0,933	0,002*	55	94
Активность фактора Виллебранда, %	79,5	0,584	От 0,365 до 0,803	0,48	71	56

AUC – area under curve – площадь под кривой; Se – чувствительность, Sp – специфичность.



КОНГРЕСС
**СЕРДЕЧНАЯ
НЕДОСТАТОЧНОСТЬ
2018**



МОСКВА 14-15.12.2018

МВЦ «Крокус Конгресс Холл». Москва, метро «Мякинино».

[10]. Однако лишь у 3 из этих методов имеется стандартизированная методология с установленными критическими значениями (по данным VerifyNow – 208 PRU [21, 22], Multiplate – 46 U [23] и VASP – 50% [24]), а наиболее дешевый и доступный метод световой агрегатометрии не стандартизирован, и его результаты демонстрируют наибольшую вариабельность ответа на прием ДААТ. К сожалению, световая агрегатометрия остается единственным широкодоступным методом, применяемым в России, и лишь в некоторых крупных центрах стали входить в практику более специфичные методы. В связи с этим большинство крупных центров, проводящих ЧКВ, отказываются от использования данного метода для определения эффективности ДААТ и прогноза.

В проведенном нами исследовании реактивность тромбоцитов на фоне ДААТ оценивалась с помощью классической световой агрегатометрии с 5 мкмоль/л АДФ и нового автоматизированного метода VerifyNow. В исследуемой популяции частота остаточной ВРТ на фоне приема АСК и клопидогрела составила 16%, по данным АДФ-индуцированной агрегации (значение АГР 5АДФ $\geq 50\%$), и 24,5%, по данным метода VerifyNow (PRU ≥ 208). Следует отметить, что такое различие по частоте выявления ВРТ может быть связано с различиями в методологии используемых нами лабораторных тестов. Как известно, при постановке теста VerifyNow используется цельная кровь, в то время как при световой агрегатометрии забранная кровь центрифугируется на низких оборотах для получения плазмы, богатой тромбоцитами, поэтому существует вероятность оседания крупных агрегатов еще до добавления индуктора и получения заниженного значения максимальной агрегации. По результатам регрессионного анализа и при построении ROC-кривых мы установили следующие факторы, определяющие ВРТ: избыточная масса тела; уровень общего холестерина $\geq 5,4$ ммоль/л; уровень ЛНП $\geq 3,25$ ммоль/л; носительство аллеля CYP2C19*2; уровень вч-СРБ $\geq 1,04$ мг/л; уровень sP-селектина $\geq 76,93$ нг/мл.

Независимое достоверное влияние оказывали индекс массы тела и уровень sP-селектина. Напротив, результаты исследования Т. Geisler и соавт. [25] имели расхождения по выявленным клиническим факторам. В данной работе изучалось влияние различных факторов на остаточную агрегацию тромбоцитов после приема 600 мг нагрузочной дозы клопидогрела у 1092 больных ИБС с клиническими проявлениями после стентирования коронарных артерий, как со стабильным течением, так и с ОКС. В результате многофакторного регрессионного анализа авторы определили следующие факторы: ОКС, сниженная функция левого желудочка, сахарный диабет, почечная недостаточность (креатинин $>1,5$ мг/дл) и возраст старше 65 лет. В течение 30-дневного периода наблю-

дения частота «больших кардиальных событий» была достоверно выше у пациентов со значениями остаточной реактивности тромбоцитов, соответствующими верхней квартили. В результате была разработана простая в использовании шкала PREDICT для оценки резидуальной реактивности тромбоцитов после приема нагрузочной дозы клопидогрела. Кроме того, было показано улучшение исходов в сроки до 30 дней при стратификации пациентов по группам риска и усилении антиагрегантной терапии в группе высокого риска. С большей вероятностью можно констатировать, что данное расхождение в выявленных клинических факторах связано с включением пациентов с исходно тяжелым клиническим статусом (ОКС, почечная недостаточность, снижение глобальной систолической функции левого желудочка).

Полученные нами данные в большей степени сопоставимы с результатами исследования, проведенного Р. Fontana и соавт. [26], в котором в качестве предикторов плохого ответа на ДААТ выделены сахарный диабет (ОР 1,89 при 95% ДИ от 1,06 до 3,39), избыточная масса тела (>86 кг против <77 кг; ОР 4,74 при 95% ДИ от 2,49 до 9,73), низкие дозы АСК (75–81 мг против ≥ 160 мг; ОР 0,12 при 95% ДИ от 0,09 до 0,93) и повышенный уровень СРБ ($>1,6$ мг/дл против $<0,6$ мг/дл; ОР 3,66 при 95% ДИ от 1,74 до 8,72).

Мы также продемонстрировали достоверное влияние носительства аллеля CYP2C19*2 на высокую реактивность тромбоцитов, однако, по данным многофакторного регрессионного анализа, этот признак не оказывал независимое влияние. Необходимо отметить, что в исследуемой популяции у носителей аллеля CYP2C19 дикого типа (CYP2C19*1/*1) медианы значений АГР 5АДФ и PRU были достоверно ниже, чем у носителей аллеля CYP2C19*2 (значение АГР 5АДФ 38,0% против 44,0%; $p=0,0026$ и значение PRU 152 против 168; $p=0,043$, соответственно), что с большей вероятностью указывает на снижение фармакодинамического ответа на прием клопидогрела у пациентов с носительством аллелей CYP2C19*2. Сопоставимые результаты получены в ранее проведенных исследованиях [27, 28]. Достоверное снижение фармакодинамического ответа на прием клопидогрела у носителей аллелей CYP2C19 с утратой функции (*2) установлено в исследовании С. Varenhorst и соавт. [27] с помощью VASP-теста и метода VerifyNow P2Y12 ($p<0,05$) при генотипировании 47 пациентов с ИБС. В исследовании RECLOSE [28] были представлены результаты генотипирования и оценки функции тромбоцитов с помощью световой агрегатометрии у 772 пациентов. Достоверно более высокие значения АДФ-индуцированной агрегации выявлены у носителей полиморфизма CYP2C19*2 по сравнению с пациентами с нормальным генотипом (51% против 45%; $p<0,001$).

Резюмируя полученные данные, можно отметить, что пациенты с ВРТ на фоне приема ДААТ в большей степени подвержены развитию «больших кардиальных событий» после ЧКВ. Однако, как продемонстрировано в ранее опубликованной нами работе [30], данные световой агрегатометрии не обладают прогностической значимостью в развитии «больших кардиальных событий» у пациентов со стабильным течением ИБС после ЧКВ, в отличие от показателей более специфичного метода VerifyNow. Как видно из представленных нами данных и результатов других исследований, повышенные значения АДФ-индуцированной агрегации могут быть опосредованы различными клинико-лабораторными факторами, а предварительная подготовка образцов крови может привести к недооценке степени повышения агрегации по данным световой агрегатометрии. К сожалению, в клинической практике мы часто сталкиваемся с такими проблемами, как низкая приверженность пациентов к терапии и прием препаратов-дженериков, эффективность большей части которых не была изучена. В мае 2012 г. Управление по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) опубли-

ковало пресс-релиз, в котором перечислены дженерики препарата плавикс с доказанной эффективностью: 4 производителя клопидогрела 300 мг и 7 производителей клопидогрела 75 мг [31].

В повседневной практике при выборе ингибиторов рецепторов P2Y₁₂ в ходе ЧКВ мы ориентируемся на характеристику пациента и клиническое проявления заболевания: прасугрел и тикагрелор предпочтительны для пациентов с ОКС, в то время как клопидогрел – для пациентов при плановом ЧКВ. У пациентов с высоким риском неблагоприятных исходов использование лабораторного контроля при назначении ДААТ может помочь в выборе препаратов. Тем не менее результаты лабораторных методов должны быть интерпретированы с учетом клинических и ангиографических характеристик каждого пациента индивидуально. Основной причиной низкого уровня рекомендаций (класс IIb) является недостаток рандомизированных контролируемых исследований с адекватными выборками и результатами, демонстрирующими положительное влияние на исходы после ЧКВ при индивидуализированном назначении ДААТ в ходе ЧКВ.

Сведения об авторах:

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии им. А. Н. Бакулева» Минздрава России, Москва

Отделение неинвазивной аритмологии и хирургического лечения комбинированной патологии

Голухова Е. З. – д. м. н., акад. РАН, руков. отделения.

Григорян М. В. – к. м. н., кардиолог, н. с. отделения.

Рябинина М. Н. – к. м. н., кардиолог, н. с. отделения.

Булаева Н. И. – к. м. н., кардиолог, ст. н. с. отделения.

E-mail: m_grigoryan@mail.ru

Information about the author:

A. N. Bakoulev Scientific Center for Cardiovascular Surgery, Moscow, Russia

Marina V. Grigoryan – MD, PhD.

e-mail: m_grigoryan@mail.ru.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Breet N.J., Van Werkum J.W., Bouman H.J. et al. Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation. JAMA 2010;303:754–762.
2. Park K.W., Jeon K.H., Kang S.H. et al. Clinical outcomes of high on-treatment platelet reactivity in Koreans receiving elective percutaneous coronary intervention (from results of the CROSS VERIFY study). Am J Cardiol 2011;108:1556–1563.
3. Cuisset T., Frere C., Quilici J. et al. High post-treatment platelet reactivity is associated with a high incidence of myonecrosis after stenting for non-ST elevation acute coronary syndromes. Thromb Haemost 2007;97:282–287.
4. Parodi G., Marcucci R., Valenti R. et al. High residual platelet reactivity after clopidogrel loading and long-term cardiovascular events among patients with acute coronary syndromes undergoing PCI. JAMA 2011;306:1215–1223.
5. Aradi D., Kirtane A., Bonello L. et al. Bleeding and stent thrombosis on P2Y₁₂-inhibitors: collaborative analysis on the role of platelet reactivity for risk stratification after percutaneous coronary intervention. Eur Heart J 2015;36:1762–1771.
6. Gurbel P.A., Bliden K.P., Hiatt B.L. O'Connor C.M. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. Circulation 2003;107:908–2913. PMID: 12796140
7. Müller I., Besta F., Schulz C. et al. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. Thromb Haemost 2003;89:783–787. PMID: 12719773
8. Serebruany V.L., Steinhubl S.R., Berger P.B. et al. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. J Am Coll Cardiol 2005;45:246–251. PMID: 15653023

9. Bonello L., Tantry U.S., Marcucci R. et al. Working Group on High On-Treatment Platelet R. Consensus and future directions on the definition of high on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate. *J Am Coll Cardiol* 2010;56:919–933.
10. Aradi D., Storey R.F., Komócsi A. et al. Expert position paper on the role of platelet function testing in patients undergoing percutaneous coronary intervention, *Eur Heart J* 2013;35:209–215.
11. Price M.J., Berger P.B., Teirstein P.S. et al. Standard vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: the GRAVITAS randomized trial. *JAMA J Am Med Assoc* 2011;305:1097–1105. doi: 10.1001/jama.2011.290.
12. Collet J-P., Cuisset T., Rangé G., Cayla G. et al. Bedside monitoring to adjust antiplatelet therapy for coronary stenting. *N Engl J Med* 2012;367:2100–2109. doi: 10.1056/NEJMoa1209979. pmid:23121439.
13. Trenk D., Stone G.W., Gawaz M. et al. A randomized trial of prasugrel versus clopidogrel in patients with high platelet reactivity on clopidogrel after elective percutaneous coronary intervention with implantation of drug-eluting stents: results of the TRIGGER-PCI (Testing Platelet Reactivity In Patients Undergoing Elective Stent Placement on Clopidogrel to Guide Alternative Therapy With Prasugrel) study. *J Am Coll Cardiol* 2012;59:2159–2164. doi: 10.1016/j.jacc.2012.02.026. pmid:22520250
14. Gurbel P.A., Shuldiner A.R., Bliden K.P. et al. The relation between CYP2C19 genotype and phenotype in stented patients on maintenance dual antiplatelet therapy. *Am Heart J* 2011;161 (3):598–604.
15. Siller-Matula J.M., Trenk D., Schrör K. et al. Response variability to P2Y₁₂ receptor inhibitors: expectations and reality. *JACC: Cardiovascular Interventions* 2013;6 (11):1111–1128.
16. Tantry U.S., Bonello L., Aradi D. et al. Consensus and update on the definition of on-treatment platelet reactivity to ADP associated with ischemia and bleeding. *J Am Coll Cardiol* 2013;62:2261–2273.
17. Aradi D., Komócsi A., Vorobcsuk A. et al. Prognostic significance of high on- clopidogrel platelet reactivity after percutaneous coronary intervention: Systematic review and meta-analysis. *Am Heart J* 2010;160:543–551.
18. Stone G.W., Witzencbichler B., Weisz G. et al. Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): a prospective multicentre registry study. *Lancet* 2013;382:614–623.
19. Bode C. Therapy of acute myocardial infarction: COMMIT (Clopidogrel and Metoprolol Infarction Trial). *Internist (Berl)* 2006;47:764–766.
20. Siller-Matula J.M., Francesconi M., Dechant C. et al. Personalized antiplatelet treatment after percutaneous coronary intervention: the MADONNA study. *Int J Cardiol* 2013;167:2018–2023.
21. Price M.J., Angiolillo D.J., Teirstein P.S. et al. Platelet reactivity and cardiovascular outcomes after percutaneous coronary intervention: a time-dependent analysis of the Gauging Responsiveness with a VerifyNow P2Y₁₂ assay: Impact on Thrombosis and Safety (GRAVITAS) trial. *Circulation* 2011;124 (10):1132–1137.
22. Stone G.W. A large-scale, prospective, multicenter registry examining the relationship between platelet responsiveness and stent thrombosis after DES implantation. Results from the ADAPT-DES study. *J Am Coll Cardiol* 2011;58 (Suppl B): XII Abstract LBCT.
23. Sibbing D., Braun S., Jawansky S. et al. Assessment of ADP-induced platelet aggregation with light transmission aggregometry and multiple electrode platelet aggregometry before and after clopidogrel treatment. *Thromb Haemost* 2008;99:121–126.
24. Bonello L., Camoin-Jau L., Arques S. et al. Adjusted clopidogrel loading doses according to vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation index decrease rate of major adverse cardiovascular events in patients with clopidogrel resistance: a multicenter randomized prospective study. *J Am Coll Cardiol* 2008;51 (14):1404–1411.
25. Geisler T., Graß D., Bigalke B. et al. The Residual Platelet Aggregation after Deployment of Intracoronary Stent (PRE-DICT) score. *J Thromb Haemost* 2008;6:54–61.
26. Fontana P., Berdagué P., Castelli C. et al. Clinical predictors of dual aspirin and clopidogrel poor responsiveness in stable cardiovascular patients from the ADRIE study. *J Thromb Haemost* 2010;8 (12):2614–2623.
27. Varenhorst C., James S., Erlinge D. et al. Genetic variation of CYP2C19 affects both pharmacokinetic and pharmacodynamic responses to clopidogrel but not prasugrel in aspirin-treated patients with coronary artery disease. *Eur Heart J* 2009;30:744–752.
28. Giusti B., Gori A.M., Marcucci R. et al. Relation of cytochrome P450C19 loss-of-function polymorphism to occurrence of drug-eluting coronary stent thrombosis. *Am J Cardiol* 2009;103:806–811.
29. Ryabinina M.N. Optimization of disaggregant therapy after coronary artery stenting in patients with ischemic heart disease. PhD thesis. Moscow, 2014, pp. 108–112. Russian (Рябинина М.Н. Оптимизация дезагрегантной терапии после стентирования коронарных артерий у пациентов при ИБС. Дис. канд. мед. наук. Москва, 2014 г. С. 108–112.)
30. Golukhova E.Z., Grigoryan M.V., Ryabinina M.N., Bulaeva N.I. Clinical and laboratory predictors of adverse cardiac events in patients with coronary heart disease after planned percutaneous coronary intervention. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology* 2016;12 (5):528–535. Russian (Голухова Е.З., Григорян М.В., Рябинина М.Н., Булаева Н.И. Клинические и лабораторные предикторы неблагоприятных кардиальных событий у больных ишемической болезнью сердца после планового чрескожного коронарного вмешательства. Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии 2016;12 (5):528–535)
31. FDA approves generic versions of blood thinner Plavix. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm304489.htm>. Accessed March 16, 2015.

Поступила 15.06.17 (Received 15.06.17)