

На правах рукописи

РЯБИНИНА МАРИЯ НИКОЛАЕВНА

**Оптимизация дезагрегантной терапии после стентирования
коронарных артерий при ИБС**

14.01.05 – кардиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2014

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный Центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева».

Научный руководитель:

д.м.н., член-корреспондент РАН

Голухова Елена Зеликовна

Официальные оппоненты:

Агеев Фаиль Таипович - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства здравоохранения Российской Федерации, научно-диспансерный отдел, руководитель отделения;

Андреев Денис Анатольевич - доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Московский Государственный Медицинский Университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Университетская клиническая больница №1, кардиологическое отделение для больных с инфарктом миокарда, заведующий отделением;

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского».

Защита диссертации состоится «_19_» - декабря_ 2014 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 001.015.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» по адресу: 121552, Москва, Рублевское шоссе 135, конференц-зал No 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научный центр сердечно - сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» и на сайтах ФГБНУ «НЦССХ им А.Н. Бакулева» www.bakulev.ru и Высшей Аттестационной Комиссии (ВАК) <http://vak.ed.gov.ru>

Автореферат разослан «_17_» _ноября___ 2014 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

доктор медицинских наук

Газизова Динара Шавкатовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Тромбоцитарная активация и агрегация играют ключевую роль в развитии ишемических событий при остром коронарном синдроме и при проведении чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ) (Dietmar Trenk., 2013).

У части пациентов на фоне двойной антиагрегантной терапии повторно возникают ишемические события. Во многих клинических исследованиях продемонстрирована неоднородность реакции подавления активности тромбоцитов на применение двойной антиагрегантной терапии (Tantry U.S., Gurbel P.A., 2012).

Причины резистентности к аспирину и клопидогрелю гетерогенны и многокомпонентны: клинические (вес, возраст, снижение дозы или преждевременная отмена препарата, плохая всасываемость, влияние лекарственных средств, диабет) и клеточные (ускоренное образование пула тромбоцитов, снижение метаболической активности, нарушение регуляции P2Y₁₂ или P2Y₁ рецепторов, нарушение активации P2Y₁, недостаточное подавление катехолиндуцированной активации тромбоцитов). Несмотря на многочисленные исследования, клиническое значение генетического полиморфизма, как причины резистентности к антиагрегантной терапии, в настоящее время остаётся не достаточно изученным.

Неэффективность антиагрегантной терапии может быть не единственным механизмом ишемических событий на фоне дезагрегантной терапии, вот почему важно лабораторное подтверждение клинической резистентности. Клинические исследования показали, что титрование дозы клопидогреля на основе результатов функции тромбоцитов улучшает клинический исход у пациентов, перенесших ЧКВ (Bonello L, 2010).

Лабораторные исследования способны продемонстрировать индивидуальную реакцию тромбоцитов на клопидогрель и аспирин, а также генотипические особенности каждого конкретного пациента. Тем не менее, в современных клинических руководствах рекомендуется назначение стандартных доз антиагрегантной терапии всем пациентам, а лабораторная диагностика резистентности к антиагрегантам показана только пациентам высокого риска.

Цель исследования

Оценка эффективности антиагрегантной терапии у пациентов стабильной ИБС после стентирования коронарных артерий на основе анализа клинико-лабораторных показателей и данных генетического анализа.

Задачи исследования

1. Изучить функцию тромбоцитов у больных стабильной ИБС при проведении ангиопластики коронарных артерий.
2. Оценить вариабельность ответа тромбоцитарного гемостаза на антиагрегантную терапию с помощью различных лабораторных методик (световая агрегометрия с 5 мкмоль/л АДФ, VerifyNow, тромбоэластография с набором тест-пластинок «PlateletMapping»).
3. Оценить частоту факторов риска ишемических событий в изучаемой группе после ангиопластики коронарных сосудов.
4. Оценить прогностическое значение различных лабораторных показателей эффективности антиагрегантной терапии больных стабильной ИБС после проведения ангиопластики коронарных артерий.
5. Изучить вклад наследственных нарушений тромбоцитарного гемостаза в особенности полиморфизма CYP2C19*2 и CYP2C19*3 в развитии кардиальных осложнений после ангиопластики коронарных артерий.

Научная новизна

Впервые в настоящей работе представлены сравнительные результаты эффективности антиагрегантной терапии с использованием различных лабораторных методик (световая агрегометрия: спонтанная и с 5 мкмоль/л АДФ, VerifyNow, тромбоэластографии с картированием тромбоцитов «PlateletMapping») у пациентов стабильной ИБС при проведении ангиопластики в дооперационном, раннем и отдалённом послеоперационном периодах на фоне стандартных схем антиагрегантной терапии.

Впервые был предложен оригинальный дизайн исследования: проведено генетическое исследование полиморфизма гена CYP2C19 «вслепую», после окончания исследования и оценки прогноза.

Практическая значимость

По результатам нашей работы, лабораторное определение реактивности тромбоцитов является более достоверным методом оценки адекватности ответа на клопидогрель, чем генотипирование. Показано влияние лабораторных факторов на развитие «больших кардиальных событий». Тогда как изолированное определение носительства аллельного варианта CYP2C19*2 в качестве предиктора «больших кардиальных событий» без учета других клинико-лабораторных факторов не является обоснованным.

Пациентам стабильной ИБС перед выполнением чрескожных коронарных вмешательств может быть рекомендована оценка реактивности тромбоцитов с помощью световой агрегометрии, VerifyNow и тромбоэластографии (ТЭГ), особенно в группах высокого риска. При выявлении лабораторной резистентности к антиагрегантной терапии по данным световой агрегометрии, VerifyNow и ТЭГ, следующим этапом

рекомендуется проводить поиск причин резистентности, в первую очередь анализ генетического полиморфизма гена CYP2C19*2.

Положения, выносимые на защиту

- Больные стабильной ИБС, особенно в группах высокого риска (тромбозы в анамнезе, многососудистое поражение, сахарный диабет и др.) при проведении ангиопластики коронарных артерий на фоне стандартных доз антиагрегантной терапии нуждаются в лабораторном контроле реактивности тромбоцитов;
- Повышение показателей реактивности тромбоцитов, определённых с помощью световой агрегометрии, тромбоэластографии с набором «PlateletMapping» и VerifyNow увеличивает риск «больших кардиальных событий»;
- Увеличение реактивности тромбоцитов и активизация факторов свёртывания, обусловленные травмой эндотелия коронарного сосуда во время стентирования, наблюдаются как минимум в течение месяца после чрескожного вмешательства;
- Резистентность к антиагрегантной терапии у пациентов стабильной ИБС может иметь многофакторную природу и требует тщательного анализа причин;
- Фенотипические проявления резистентности к антиагрегантной терапии шире, чем генетический полиморфизм, и потому определение полиморфизма гена CYP2C19*2 не целесообразно рассматривать, как единственное показание к смене антиагрегантного препарата у больных стабильной ИБС;
- Изменения стандартных доз антиагрегантной терапии или смена препарата возможны только после оценки активности тромбоцитов с помощью нескольких лабораторных методик и комплексного анализа причин высокой реактивности тромбоцитов.

Реализация результатов работы

Результаты диссертационного исследования внедрены в клиническую практику и находят применение при обследовании и лечении пациентов ИБС в Научном Центре сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева. Так же могут быть рекомендованы к использованию в клинической практике кардиохирургических и кардиологических центров Российской Федерации.

Апробация работы

Основные материалы диссертации представлены и обсуждены на XIV, XVI, XVII и XVII Всероссийских сессиях научного центра сердечно-сосудистой хирургии им А.Н. Бакулева РАМН с Всероссийской конференцией молодых ученых (Москва, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014), на XVIII, XIX Всероссийских съездах сердечно-сосудистых хирургов (Москва 2012, 2013) на 61 и 63 Международных конгрессах европейского общества сердечно-сосудистых и эндоваскулярных хирургов (Дубровник, 2012; Ницца, 2014).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 17 работ, из них 3 в журналах, рекомендованных ВАК для публикации основных результатов диссертационных исследований на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 163 страницах печатного текста, состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка, включившего 201 источник: 30 отечественных и 171 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 35 рисунками и 37 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Исследование выполнено на базе отделения неинвазивной аритмологии и хирургического лечения комбинированной патологии Научного Центра сердечно-сосудистой хирургии им А.Н. Бакулева РАМН. В исследование включено 55 пациентов (48 мужчин и 7 женщин) со стабильной ИБС в возрасте от 36 до 75 лет (средний возраст $59 \pm 9,68$).

Критериями включения в исследование послужили: стабильная стенокардия 2-4 функционального класса по классификации CCS, с подтвержденным стенозирующим атеросклерозом коронарных артерий, требующее проведения коронарной ангиопластики.

Критериями исключения послужили: информация о непереносимости аспирина и клопидогреля, острый коронарный синдром, недавние травмы или обширные хирургические вмешательства в течение 1 месяца до исследования, тяжелые хронические заболевания внутренних органов, число тромбоцитов менее $100\ 000/\text{мм}^3$, гематокрит менее 30%; гемоглобин менее 100 г/л, отказ пациента от исследования. В таблице 1 представлена клинико-anamnestическая характеристика пациентов.

Таблица 1. Общая характеристика больных

Признаки	Значение
Общее число пациентов, n (%)	55 (100)
Мужчины, n (%)	48 (87,3)
Женщины, n (%)	7 (12,7)
Возраст, годы ($M \pm SE$)	$59,02 \pm 9,68$
Вес, кг ($M \pm SE$)	$88,77 \pm 14,83$
Индекс массы тела, $\text{кг}/\text{м}^2$ ($M \pm SE$)	$29,52 \pm 4,95$
Курение, n (%)	33 (60)
Сахарный диабет, n (%)	15 (27,3)
Артериальная гипертензия, n (%)	52 (94,5)
Инфаркт миокарда до стентирования, n (%)	29 (52,7)
Стентирование в анамнезе	14 (25,5)
Нарушения ритма	10 (18,2)

Дизайн исследования

Все пациенты при поступлении в клинику получали антиагрегантную терапию в нагрузочной дозе: аспирин 250-325 мг и клопидогрель 600 мг. Оценка эффективности антиагрегантной терапии проводилась следующими методами: световая агрегация тромбоцитов по Борну, тромбоэластография (ТЭГ) и VerifyNow.

Агрегация тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ (световая агрегометрия) оценивалась в 6 временных точках: в день перед операцией не ранее, чем через 4 часа после нагрузочной дозы клопидогреля, сразу после операции, через 30 дней после операции, через 6, 12 и 24 месяца. Оценка функции тромбоцитов с помощью ТЭГ и VerifyNow проводилась однократно – в день перед операцией не ранее, чем через 4 часа после приема насыщающей дозы клопидогреля.

Всем пациентам было выполнено ЧКВ с имплантацией стентов с лекарственным покрытием («Cypher» фирмы «Cordis, Johnson&Johnson» (США) и «Taxus» фирмы «Boston Scientific»).

Всем пациентам после завершения наблюдения, во время последнего визита после стентирования взята кровь для генетического анализа на определение полиморфизма CYP2C19*2 и CYP2C19*3 методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Конечными точками исследования послужили «большие кардиальные события»: летальный исход от сердечно-сосудистых причин, острый инфаркт миокарда, рецидив стенокардии, повторное эндоваскулярное вмешательство, тромбоз стента.

Методы исследования

Оценка эффективности двойной антиагрегантной терапии проводилась при помощи:

1. Метода световой АДФ-индуцированной агрегатометрии тромбоцитов с концентрацией АДФ 5 мкмоль/л с помощью анализатора агрегации тромбоцитов счетчика «230 LA» (НПФ «БИОЛА», Россия). Агрегация тромбоцитов с 5мкмоль/л АДФ выражалась в %.
2. Метода VerifyNow («Accumetrics», США) с набором картриджей на действие аспирина и клопидогреля (арахидоновая кислота и P2Y12). При данном методе измеряли следующие показатели: PRU (P2Y12 ReactionUnits), % ингибирования P2Y12, ARU (AspirinReactionUnits).
3. Метода тромбоэластографии (ТЭГ) «PlatetMapping» с помощью анализатора «ТЭГ 5000» («Haemoscope», США) определяли максимальную амплитуду (МА), агрегацию с арахидоновой кислотой (%), агрегацию с АДФ (%).

Генотипирование производили с помощью наборов SNP-экспресс-РВ производства НПФ "Литех" "Клопидогрел 1" и "Клопидогрел 2" на приборе iCycler IQ5 (BioRad, США), согласно протоколу производителя. Работа наборов основана на принципе аллель-специфичной ПЦР.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы «MicrosoftExcel для Windows» и программы «Stactica 7», с помощью которой выполнялось также графическое представление данных.

Результаты собственных исследований

Функция тромбоцитов у больных стабильной ИБС перед ангиопластикой коронарных артерий

По данным световой агрегатометрии, ТЭГ и VerifyNow большая часть пациентов имели нормальные значения показателей функции тромбоцитов (Таблица 2).

Таблица 2. Средние значения показателей функции тромбоцитов по данным лабораторных методов в дооперационном периоде

Показатели функции тромбоцитов		Значения лабораторных методов			
		Mean±SE	Med	Min	Max
ТЭГ	МА	59,96±0,60	60,20	49	69,70
	Агрегация с арахидоновой кислотой, %	26,1±2,81	23	0	83,2
	Агрегация с АДФ, %	27,4±2,53	24,2	0	93,1
Агрегация тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ		40,4±1,78	42	13	65
VerifyNow	PRU	162,1±9,27	160	7	321
	ARU	378,9±6,26	390	250	490
	BasePRU	273,3±6,17	265	138	386
	% ингибирования P2Y12	42±2,8	42	12	97

Примечание. ТЭГ- тромбоэластограмма; ARU - Aspirin Reaction Units Mean –среднее значение; МА - максимальная амплитуда; Med – медиана; Min – минимальное значение; Max – максимальное значение; SE – ошибка среднего; PRU - P2Y12 Reaction Units (VerifyNow).

Большая часть пациентов была чувствительна к двойной антиагрегантной терапии. Все пациенты были чувствительны к действию аспирина по данным VerifyNow. Однако, к клопидогрелю не были чувствительны 31% пациентов по данным агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ, 7-9% - по данным ТЭГ, и 25,5% - по данным VerifyNow.

Функция тромбоцитов при стабильной ИБС после проведения ЧКВ

Травма эндотелия во время стентирования приводит к активизации факторов свёртывания. Насколько значимо это влияет на функцию тромбоцитов было оценено с помощью агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ сразу после стентирования. Выявлено значимое различие в агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ до стентирования и сразу после процедуры ($p<0,001$).

Динамика агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ в течение
первого года наблюдения

У 24 пациентов была оценена агрегация тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ в течение 12 месяцев после процедуры. Для оценки влияния фактора времени на показатель агрегации с 5 мкмоль/л АДФ был проведён дисперсионный анализ ANOVA (Рисунок 1). Значимые отличия от исходных данных были получены только в отношении агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ сразу после стентирования ($p < 0,05$). Уже через 1 месяц после стентирования этот показатель снижался настолько, что незначимо отличался от среднего значения в дооперационном периоде ($p = 0,315$).

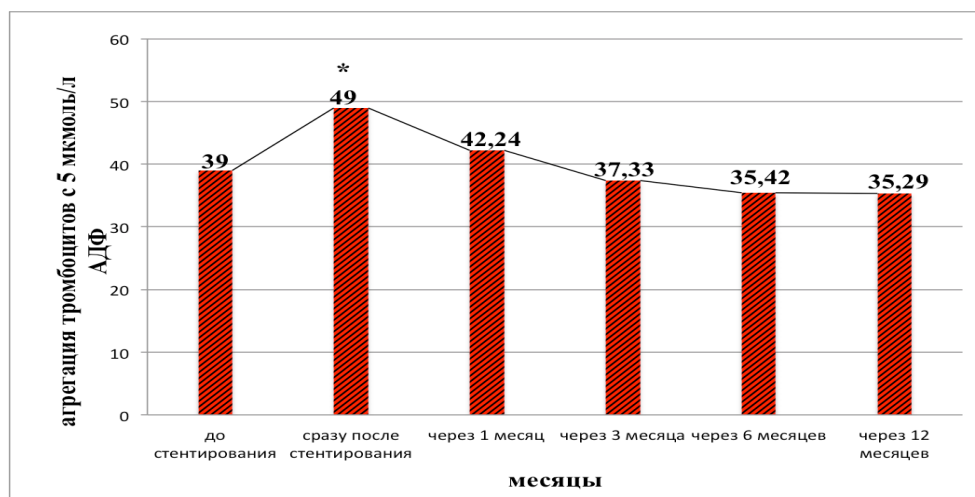


Рисунок 1. Динамика агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/д АДФ во времени

Факторы риска развития «больших кардиальных событий» у больных
стабильной ИБС при проведении ЧКВ

В ходе исследования за период наблюдения, составивший $20 \pm 7,9$ месяцев, у 11 пациентов из 55 (20%) были зафиксированы «большие кардиальные события», а именно - острый инфаркт миокарда у 1 пациента

(1,8%), прогрессирование стенокардии – 2 пациентов (3,6%), тромбоз стента с развитием острого инфаркта миокарда (ОИМ) с подъемом сегмента ST – 3 (5,4%), тромбоз стента с развитием ОИМ без подъема сегмента ST – 2 (3,6%), тромбоз стента с клиникой нестабильной стенокардии - 2 (3,6%).

Следует отметить, что у троих пациентов осложнения произошли на фоне преждевременной отмены клопидогреля, остальные пациенты принимали двойную антиагрегантную терапию более одного года. При приеме клопидогреля опасность тромбоза снижалась к концу 1 года наблюдения, в течение 2-ого года тромбоз имплантированного стента не являлся основным осложнением, чаще встречалась стенокардия и острый инфаркт миокарда на фоне прогрессирования атеросклероза. Статистическая обработка подтверждает тенденцию к падению частоты тромбозов стентов со временем (МП $\chi^2(2)=7,35$; $p=0,025$).

Влияние лабораторных факторов на развитие
«больших кардиальных событий»

На возникновение «больших кардиальных событий» оказывали влияние следующие лабораторные данные, свидетельствующие о повышенной реактивности тромбоцитов: значение агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ ($p=0,027$), значение PRU по данным VerifyNow ($p=0,00046$) и значение агрегации тромбоцитов с АДФ % ($p=0,01$), согласно данным дисперсионного анализа (Таблица 3).

Таблица 3. Влияние показателей функции тромбоцитов на развитие осложнений

Методы исследования		Группа пациентов без осложнений (n=44)	Группа пациентов с осложнениями (n=11)	p(F)
ТЭГ	МА	60.1±0.60	59.2±1.82	0.52
	Агрегация с АРХ%	25.00±2.74	30.55±9.01	0.434

	Агрегация с АДФ%	24.20±2.15	40.28±8.47	0.01*
Агрегация С 5 мкмоль/л АДФ	До операции	38.42±1.81	48.09±4.60	0.028*
	Сразу после операции	51.29±1.95	59.36±3.44	0.064
	Через 1 месяц	41.5±1.63	49.0±10.0	0.18
	Через 3 месяца	38.62±1.51	28.33±16.17	0.134
	Через 6 месяцев	36.95±1.70	24.67±12.45	0.056
	Через 12 месяцев	36.86±2.23	24.3±12.73	0.100
VerifyNow	PRU	146.3±8.92	225.4±21.27	<0.001 *
	BasePRU	382.0±6.62	407.8±15.9	0.100
	% инг P2Y12	45.77±3.12	27.36±4.18	0.007

Примечание: АДФ – аденозиндифосфат; АРХ – арахидоновая кислота; ТЭГ- тромбозластограмма; МА - максимальная амплитуда; PRU - P2Y12 Reaction Units (VerifyNow).

* - статистически значимые отличия.

Для вычисления «критических значений» анализируемых показателей лабораторных тестов проведен ROC-анализ. Модели оказались статистически значимыми ($AUC > 0,6$; $p < 0,05$) для PRU и BasePRU. При увеличении PRU выше 213 достоверно увеличивались «большие кардиальные события» ($AUC 0,85$, $p = 0,005$). Чувствительность $PRU \geq 213$ составила 64%; специфичность - 91% (Рисунок 2).

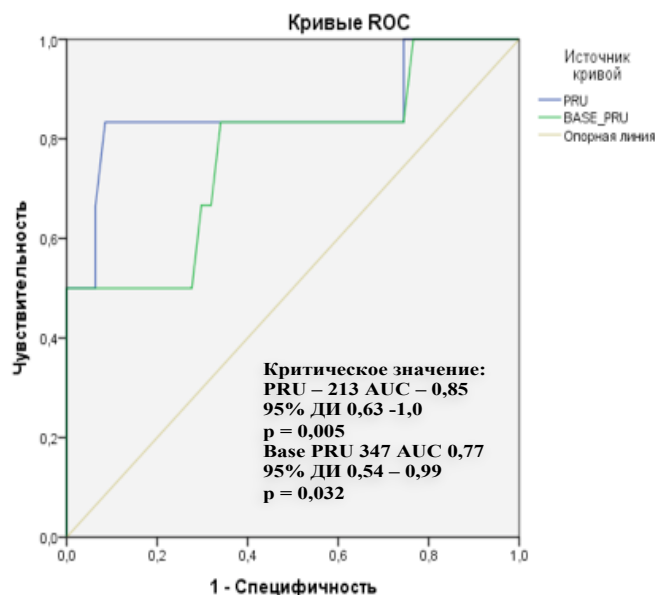


Рисунок 2. ROC кривые для PRU и Base PRU.

При ROC-анализе агрегация тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ не достигала статистической значимости в отношении конечных точек. Однако анализ выживаемости показал, что частота «больших кардиальных

событий» была достоверно выше у пациентов с уровнем агрегации с 5 мкмоль/л по данным световой агрегометрии более 48% ($p=0,027$) - (Рисунок 3).

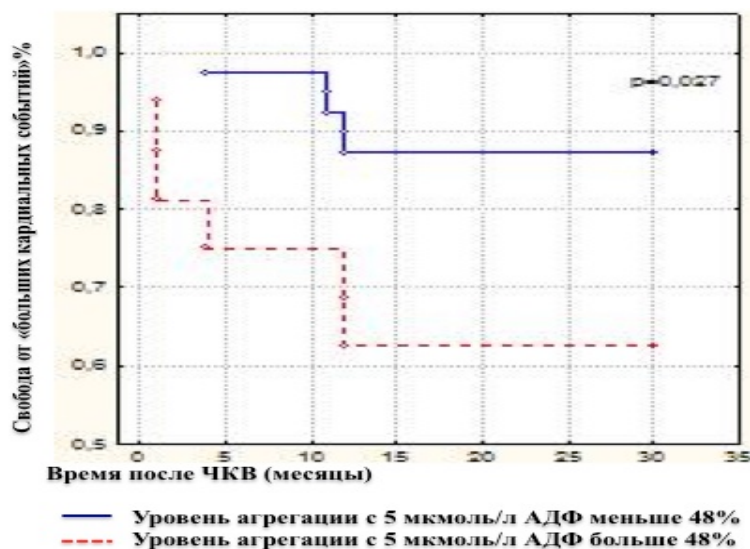


Рисунок 3. Свобода от «больших ишемических событий» в зависимости от уровня агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ по данным световой агрегометрии

Совместное определение значений агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ (более 48%) и PRU (более 213) позволяет выделить группу пациентов, нечувствительных к клопидогрелю и имеющих высокий риск «больших кардиальных событий». Чувствительность комбинации двух показателей составила 36%, специфичность - 100%.

Повышение значений агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ сразу после ЧКВ не влияло на развитие «больших кардиальных событий». Так, у пациентов с осложнениями отмечались более высокие значения агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ, но эти различия оказались статистически не значимыми ($F(1,53)=3,59$; $p=0,78$).

Функция тромбоцитов и генетический полиморфизм CYP2C19

Всем пациентам после завершения основного этапа исследования (во время последнего визита) была взята кровь для проведения

генотипирования полиморфизма CYP2C19*2 и CYP2C19*3 путем аллель-специфичной ПЦР.

В нашем исследовании нормальный генотип (GG) был выявлен у 39 пациентов (71 %), 14 пациентов (25%) оказались гетерозиготными по А-аллелю G681A полиморфизма CYP2C19*2 (GA) и 2 пациента (4%) были гомозиготны по А- аллелю G681A полиморфизма CYP2C19*2 (AA).

Влияние генетических факторов на лабораторные показатели до процедуры ЧКВ

У пациентов с гетерозиготным (GA) и гомозиготным носительством (AA) CYP2C19*2 отмечались более высокие средние значения показателей функции тромбоцитов по сравнению с пациентами с нормальным генотипом (GG). Наиболее выраженные различия средних показателей функции тромбоцитов наблюдались между пациентами с нормальным генотипом и с гомозиготным носительством CYP2C19*2 (Таблица 4).

Таблица 4. Сравнительный анализ средних значений показателей функции тромбоцитов у пациентов с различным генотипом CYP2C19*2

Показатели функции тромбоцитов		p			
Группы		1-2	2-3	1-3	1-(2+3)
ТЭГ	МА	0,068	0,042*	0,004*	0,013*
	Агрегация с арахидоновой кислотой, %	0,091	0,433	0,052	0,044*
	Агрегация с АДФ, %	0,081	0,26	0,007*	0,030*
Агрегация с 5 мкмоль/л АДФ		0,034*	0,412	0,05*	0,012*
VerifyNow	PRU	0,359	0,125	0,022*	0,136
	ARU	0,031*	0,989	0,284	0,021*
	%инг P2Y12	0,335	0,147	0,108	0,162

Примечание: ТЭГ- тромбоэластограмма; МА - максимальная амплитуда; PRU - P2Y12 Reaction Units; ARU - Aspirin Reaction Units.

1 группа – пациенты с нормальным генотипом (GG), 2 группа – гетерозиготное носительство CYP2C19, 3 группа – гомозиготное носительство CYP2C19.

* $p \leq 0,05$ – статистически значимые различия

Убедительных данных о влиянии различных видов генотипа CYP2C19*2 на число «больших кардиальных событий» получено не было (МП $\chi^2(12)=12,83$; $p=0,38$).

Влияние клинико-лабораторных и генетических факторов
на развитие «больших кардиальных событий»

Для оценки совместного влияния функции тромбоцитов и различных видов генотипа на развитие ишемических событий проведён двухфакторный дисперсионный анализ, в результате которого показано, что у пациентов гетерозиготным и гомозиготным носительством CYP2C19*2 среднее значение агрегации тромбоцитов с 5 ммоль/л АДФ% возрастает и увеличивает риск «больших» кардиальных событий (Таблица 5, Рисунок 4).

Таблица 5. Вероятности случайных различий между комбинациями уровней факторов (по тесту Ньюмена-Келлса).

Группы	Агрегация тромбоцитов с 5 ммоль/л АДФ (M±SE)			
	Группа 1 37,52±2,13	Группа 2 41,13±3,49	Группа 3 37,67±5,26	Группа 4 60,60±1,72
	p(F)	p(F)	p(F)	p(F)
Группа 1		0,808	0,979	0,001*
Группа 2	0,808		0,553	0,002*
Группа 3	0,979	0,553		0,001*
Группа 4	0,001*	0,002*	0,001*	

Примечание: Группа 1- генотип CYP2C19*1/*1 и нет осложнений; группа 2 –генотип CYP2C19*1/*1 и есть осложнения ; группа 3 - полиморфизм гена CYP2C19*2 и нет осложнений; группа 4 - полиморфизм гена CYP2C19*2 и есть осложнения. * - $p < 0,05$ – статистически значимые различия.

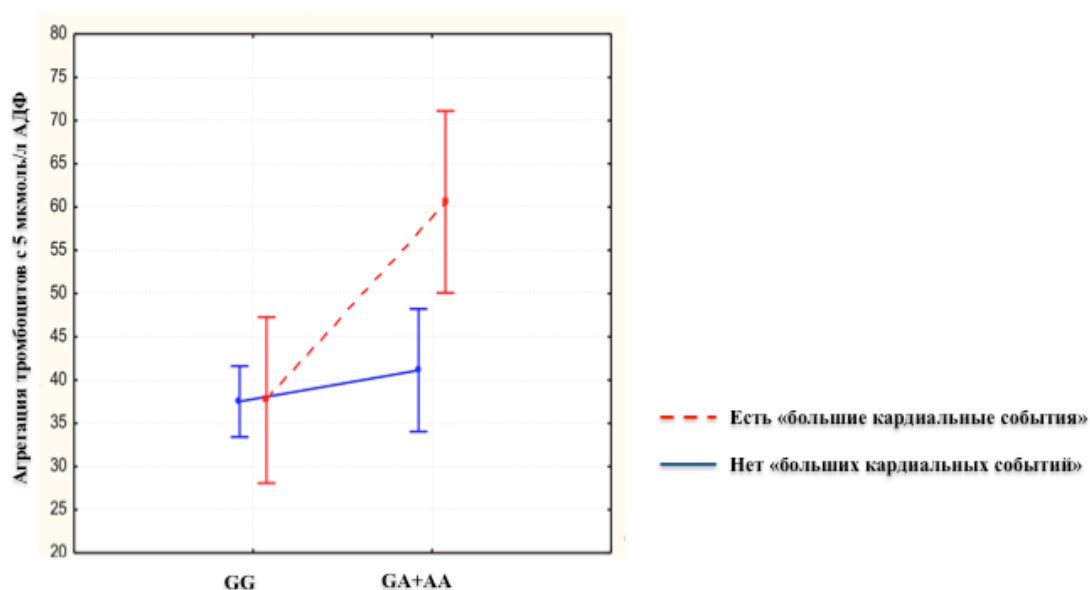


Рисунок 4. Совместное влияние значений агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ и полиморфизма CYP2C19*2 гена CYP2C19 на развитие «больших кардиальных событий».

У пациентов гетерозиготным и гомозиготным носительством CYP2C19*2 среднее значения уровня PRU возрастает и увеличивает риск «больших» кардиальных событий (Таблица 6, Рисунок 5).

Таблица 6. Вероятности случайных различий между комбинациями уровней факторов (по тесту Ньюмена-Келлса).

Группы	Значение PRU(P2Y12 Reaction Units) M±SE			
	Группа 1 147±11	Группа 2 144±12	Группа 3 187±20	Группа 4 271±30
	p(F)	p(F)	p(F)	p(F)
Группа 1		0,879726	0,135138	0,000065*
Группа 2	0,879726		0,158258	0,000225*
Группа 3	0,135138	0,158258		0,023401*
Группа 4	0,000065*	0,000225*	0,023401*	

Группа 1- генотип CYP2C19*1/*1 и нет осложнений; группа 2 –генотип CYP2C19*1/*1 и есть осложнения ; группа 3 - полиморфизма гена CYP2C19*2 и нет осложнений; группа 4 - полиморфизма гена CYP2C19*2 и есть осложнения. * - p<0,05 – статистически значимые различия

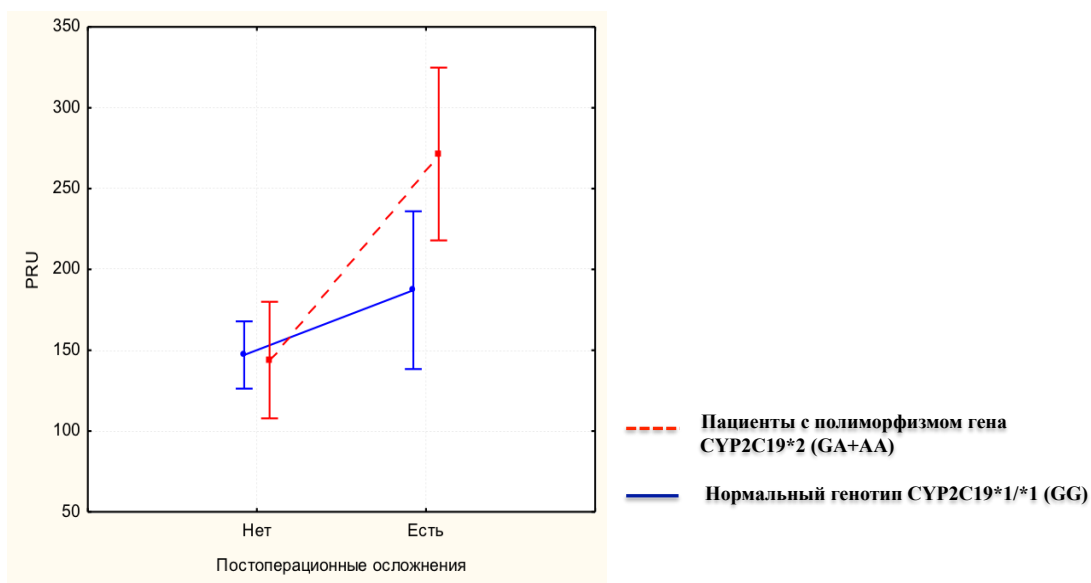


Рисунок 5. Совместное влияние значений PRU (P2Y12 Reaction Units) и полиморфизма CYP2C19*2 гена CYP2C19 на развитие «больших кардиальных событий».

ВЫВОДЫ

1. Применение комплексной оценки эффективности дезагрегантной терапии (световой агрегометрии, VerifyNow, тромбоэластографии) у пациентов со стабильной ИБС перед проведением ЧКВ на фоне стандартных доз антиагрегантной терапии позволяет выявить больных, резистентных к терапии.
2. У пациентов со стабильной ИБС на фоне двойной антиагрегантной терапии наибольшую прогностическую ценность для оценки риска «больших кардиальных событий» после ЧКВ являются значения АДФ - индуцируемой агрегации тромбоцитов более 48% (по данным световой агрегометрии с 5 мкмоль/л АДФ %) и PRU более 213 (по данным VerifyNow).
3. У пациентов со стабильной ИБС агрегация тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ сразу после стентирования значительно повышается, через месяц после ЧКВ этот показатель снижается и незначимо отличается от исходных

дооперационных значений. Через 12 месяцев после ЧКВ на фоне двойной антиагрегантной терапии достигается стабильный уровень агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ.

4. Все пациенты европеоидной расы в исследовании имели нормальный генотип CYP2C19*3. 70% пациентов имели нормальный генотип CYP2C19*2. Убедительных данных за наличие независимого влияния различных видов генотипа CYP2C19*2 на развитие «больших кардиальных событий» на фоне двойной антиагрегантной терапии у пациентов со стабильной ИБС после ЧКВ не получено. Изолированное определение носительства аллельного варианта CYP2C19*2 и CYP2C19*3 в качестве фактора риска неблагоприятного прогноза «больших кардиальных событий» не представляется обоснованным.

5. У пациентов с гетерозиготным и гомозиготным носительством CYP2C19*2 повышение значений агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ и значений PRU увеличивает риск «больших кардиальных событий». Выполнение генетического анализа представляется обоснованным у пациентов с подтвержденной лабораторной резистентностью к антиагрегантной терапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов со стабильной ИБС перед проведением ЧКВ целесообразно оценивать реактивность тромбоцитов с помощью световой агрегометрии с 5 мкмоль/л АДФ. При определении повышенных значений агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ обоснованно проведение дополнительных анализов: VerifyNow и ТЭГ для выявления пациентов с «истинной» лабораторной резистентностью к клопидогрелю особенно в группах высокого риска (у пациентов с ранее подтвержденными тромбозами

стентов, со сложной коронарной анатомией, многососудистым поражением).

2. При выявлении лабораторной резистентности по данным световой агрегометрии, VerifyNow и тромбозластографии, следующим этапом рекомендуем проводить поиск причин неэффективности антиагрегантной терапии, в первую очередь генотипирование. В случае лабораторной резистентности на фоне генетического полиморфизма гена CYP2C19*2 обоснована смена клопидогреля на другой антиагрегант, метаболизм которого не связан с системой цитохрома P450 (тикагрелор и др).

3. При отсутствии генетического полиморфизма, необходимо проанализировать другие вероятные причины высокой остаточной реактивности тромбоцитов, роль которых была недооценена – прежде всего влияние провоспалительных факторов, гиперхолестеринемии, взаимодействие с другими лекарственными средствами и др.

4. Наиболее уязвимый период после ЧКВ является 1 месяц, в связи со специфичной динамикой тромбоцитарного ответа. Полностью стабилизация показателя агрегации тромбоцитов с 5 мкмоль/л АДФ у пациентов со стабильной ИБС происходит через год после ЧКВ, поэтому этот период является важным для профилактики осложнений.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Голухова Е.З. Новые методы оценки эффективности и оптимизация дезагрегантной терапии у пациентов с ишемической болезнью сердца. / Голухова Е.З., Рябинина М.Н. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2010; Том 11, № 6, 257 с.

2. Голухова Е.З. Сравнительный анализ методов оценки адекватности дезагрегантной терапии после реваскуляризации миокарда / Голухова Е.З., Кубова М.Ч., Рябинина М.Н., Пак Н.Л. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2011; Том 12, № 6, с. 202.
3. Голухова Е.З. Оценка эффективности антиагрегантной терапии у больных с ИБС в ранние сроки после реваскуляризации миокарда на работающем сердце по методике OPCAB. / Голухова Е.З., Мерзляков В.Ю., Булаева Н.И., Пак Н.Л., Кубова М. Ч., Рябинина М.Н // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2012; Том 13, № 3, с. 120.
4. Рябинина М. Н. Сравнительный анализ методов оценки адекватности дезагрегантной терапии после стентирования коронарных артерий / Рябинина М. Н., Голухова Е. З., Кубова М. Ч., Булаева Н. И., Пак Н. Л., // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2012; Том 13, № 6, с. 220.
5. Кубова М.Ч. VerifyNow в оценке эффективности дезагрегантной терапии после аортокоронарного шунтирования / Кубова М.Ч., Голухова Е. З., Пак Н. Л., Рябинина М. Н., Булаева Н. И. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2012; Том 13, № 6, с. 224.
6. Golukhova E.Z. The antiplatelet therapy in patients undergoing off-pump coronary artery bypass (OPCAB) surgery. / Golukhova E.Z., Merzlyakov V.U., Shumkov K.V., Samsonova N.N., Pak N.L., Bulaeva N.I., Kubova M.Ch., Ryabinina M.N. // The Journal of Cardiovascular Surgery. 2012; Vol.53, Suppl. 1, P.145.
7. Рябинина М.Н. Реактивность тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии после стентирования коронарных артерий:

- генетический полиморфизм и фенотипические проявления. / Рябина М.Н. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2013; Том 14, № 3, с. 81.
8. Рябина М.Н. Новые методы оценки дезагрегантной терапии после стентирования коронарных артерий / Рябина М.Н., Голухова Е.З., Кубова М.Ч., Булаева Н.И. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2013; Том 14, № 3, с.111.
 9. Голухова Е.З. «Современные аспекты антиагрегантной терапии»/ Голухова Е.З., Рябина М.Н. Креативная кардиология. 2013; №1, с. 46-58.
 10. Голухова Е.З. Состояние системы гемостаза у больных ишемической болезнью сердца на госпитальном этапе, после операции реваскуляризации миокарда, выполненной в условиях искусственного кровообращения и на работающем сердце / Голухова Е.З. Мерзляков В.Ю., Самсонова Н.Н., Климович Л.Г., Пак Н.Л., Рябина М.Н., Кубова М.Ч. // Креативная кардиология. 2011; № 2, С. 60-71.
 11. Рябина М.Н. Оценка эффективности антиагрегантной терапии у пациентов с ИБС перед ангиопластикой коронарных артерий с учетом генетического полиморфизма. / Рябина М.Н., Голухова Е.З., Кубова М.Ч., Булаева Н.И., Григорян М.В. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2013; Том 14, № 6, с.240.
 12. Рябина М.Н. Оценка эффективности антиагрегантной терапии у пациентов с ИБС перед ангиопластикой коронарных артерий при помощи лабораторных тестов / Рябина М.Н., Голухова Е.З., Кубова М.Ч., Булаева Н.И., Григорян М.В. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2013; Том 14, № 6, с.244.

13. Рябина М.Н. Влияние активации тромбоцитов в раннем и позднем послеоперационном периоде на прогноз пациентов с ИБС при проведении ангиопластики коронарных артерий. / Рябина М.Н., Голухова Е.З., Кубова М.Ч., Булаева Н.И., Григорян М.В. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2013; Том 14, № 6, с.245.
14. Голухова Е.З. Реактивность тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии после стентирования коронарных артерий: генетический полиморфизм и клинические варианты. / Голухова Е.З., Рябина М.Н., Булаева Н.И., Григорян М.В., Кубова М.Ч. // Креативная кардиология. 2013; № 2, С. 15-27.
15. Голухова Е.З. Антиагрегантная терапия при стентировании коронарных артерий: клиническое наблюдение, лабораторное тестирование или определение генетического полиморфизма? / Голухова Е.З., Рябина М.Н., Булаева Н.И., Григорян М.В., Кубова М.Ч. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2014; Том 15, № 3, с.115.
16. Рябина М.Н. Реактивность тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии после стентирования коронарных артерий: генетический полиморфизм и клинические варианты / Рябина М.Н. // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2014; Том 15, № 3, с.137.
17. Golukhova E.Z. The platelet reactivity after percutaneous coronary intervention in patients with double antithrombotic therapy: impact of genetic polymorphisms. / Golukhova E.Z., Ryabinina M.N, Bulaeva N.I., Kubova M.Ch., Grigoryan M.V. // The J. of Cardiovascular Surgery. 2014; Vol.55, Suppl. 2, P.163.