

На правах рукописи

ГРИГОРЯН МАРИНА ВРУЙРОВНА

**Прогностическое значение реактивности тромбоцитов,
маркеров воспаления и генотипирования CYP2C19 при
чрескожных коронарных вмешательствах у больных ИБС**

14.01.05 – кардиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2015

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:

Самко Анатолий Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, Институт клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова, ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел рентгенэндоваскулярных методов диагностики и лечения, руководитель отдела (специальность 14.01.05 – «кардиология»).

Затейщиков Дмитрий Александрович – доктор медицинских наук, профессор, ГБУЗ «Городская клиническая больница №51 ДЗ города Москвы», первичное сосудистое отделение, заведующий отделением (специальность 14.01.05 – «кардиология»).

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

Защита диссертации состоится «__» - _____ 2015 г. в _____.00 часов на заседании диссертационного совета Д001.015.01 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 «__» _____ 2015 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,

доктор медицинских наук

Газизова Динара Шавкатовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Во всем мире ишемическая болезнь сердца (ИБС) является наиболее частой причиной смерти. Каждый год от ИБС умирают семь миллионов человек, что составляет 12,8% от всех случаев смерти (ВОЗ, 2011). При проведении чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ) и имплантации стента происходит травма сосудистой стенки с последующей активацией тромбоцитов и запуском острого, а в дальнейшем хронического воспалительного ответа. Активация тромбоцитов - это сложный многокомпонентный процесс, в который вовлекается множество рецепторов и сигнальных систем. Поэтому для более эффективной профилактики тромботических событий у пациентов с высоким риском рассматриваются стратегии ингибирования сразу нескольких путей активации тромбоцитов (Gurbel PA, 2010).

Клопидогрел является ключевым компонентом двойной антиагрегантной терапии (ДААТ). Пациенты с высокой остаточной реактивностью тромбоцитов на фоне приема аспирина и клопидогрела могут иметь повышенный риск развития ишемических событий, включая тромбоз стента (Bonello L, 2012). В нескольких проспективных исследованиях было продемонстрировано, что высокая реактивность тромбоцитов (BPT) – это независимый предиктор развития ишемических событий после ЧКВ (Breet NJ, 2011; Stone GW, 2011; Голухова Е.З., 2013).

Начиная с 2011 года было опубликовано несколько рекомендаций (Levine GN, 2011; Scott SA, 2013; Windecker S, 2014) относительно выбора антиагрегантных препаратов и сроков их назначения. Однако,

до сих пор нет ясности касательно необходимости лабораторного контроля и индивидуального подбора ДААТ.

В различных клинических исследованиях была показана роль некоторых воспалительных маркеров, таких как С-реактивный белок (Saleh N, 2007, Васильева Е.Ю., 2012), интерлейкин-6 (Kang WC, 2011; Chen SL, 2014), фактора Виллебранда и различных адгезивных молекул (Jin C, 2010, Церетели Н.В., 2009), в развитии неблагоприятных кардиальных событий после ЧКВ (тромбоз и рестеноз стента). Также существуют данные о связи воспалительного ответа и высокой реактивности тромбоцитов (Jong SW, 2014).

Цель исследования:

оценить прогностическое влияние реактивности тромбоцитов, исходного уровня различных маркеров воспаления и носительства аллеля CYP2C19*2 на клинические исходы после чрескожных коронарных вмешательств у больных стабильной ИБС на фоне двойной антиагрегантной терапии.

Задачи:

1. Выявить факторы, определяющие высокую реактивность тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии.
2. Сопоставить уровень остаточной реактивности тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии и клинические исходы после ЧКВ.
3. Оценить прогностическую значимость высокой реактивности тромбоцитов, маркеров воспаления и эндотелиальной дисфункции, а также генотипа CYP2C19 в развитии неблагоприятных кардиальных событий у пациентов после ЧКВ.
4. Выявить факторы, влияющие на сроки возникновения неблагоприятных кардиальных событий у пациентов после ЧКВ.

5. Изучить динамику изменений уровня различных маркеров воспалительного ответа и эндотелиальной дисфункции у пациентов в ранние и отдаленные сроки после ЧКВ.

Научная новизна

В настоящей работе впервые представлен обобщенный анализ различных факторов, влияющих на высокую реактивность тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии. Выявлены клиничко-функциональные, биохимические и генетические факторы, определяющие ответ на прием клопидогрела и аспирина, а также установлены критические значения для количественных факторов. Выявлены независимые предикторы высокой реактивности тромбоцитов, по данным АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов.

В настоящем исследовании определена роль наличия генетического полиморфизма CYP2C19 у пациентов после чрескожного коронарного вмешательства с имплантацией стентов с лекарственным покрытием. Впервые выявлены маркеры воспалительного ответа и эндотелиальной дисфункции, ассоциированные с высокой реактивностью тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии.

В данной работе выполнена комплексная оценка клиничко-функциональных, биохимических и генетических факторов, определяющих клинические исходы у пациентов после ЧКВ и имплантации стентов с лекарственным покрытием. Выявлены независимые предикторы неблагоприятных клинических исходов в ранние и отдаленные сроки после ЧКВ. Определены предикторы, в том числе независимые, сроков развития кардиальных событий у пациентов после ЧКВ.

Впервые изучена динамика АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов, маркеров воспалительного ответа и эндотелиальной дисфункции в сроки до 6 месяцев после вмешательства, а также изучена динамика этих параметров в зависимости от различных периперационных факторов (число стентированных артерий, число имплантированных стентов и тип антипролиферативного покрытия).

Практическая значимость

В результате проведенной работы определена роль лабораторной оценки реактивности тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии до и после проведения чрескожных коронарных вмешательств с имплантацией стентов с лекарственным покрытием. Установлена прогностическая значимость различных клинико-функциональных, биохимических и генетических факторов у больных после чрескожных коронарных вмешательств. На основе полученных данных разработаны прогностические модели для стратификации риска развития неблагоприятных кардиальных событий у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца после имплантации стентов с лекарственным покрытием. Полученные результаты позволили усовершенствовать протокол обследования пациентов до и после ЧКВ, а также определить некоторые терапевтические направления, которые позволят улучшить прогноз у данной категории пациентов.

Положения, выносимые на защиту

1. Лабораторная оценка реактивности тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии оправдана у пациентов ИБС, особенно в группах высокого риска (тромбозы в анамнезе, многососудистое поражение, сахарный диабет и др.) перед проведением чрескожных коронарных вмешательств.

2. Избыточный вес, повышенные значения общего холестерина и липопротеинов низкой плотности, а также уровень Р-селектина и активность фактора Виллебранда являются факторами риска высокой реактивности тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии.
3. Носительство аллеля CYP2C19*2 является фактором риска высокой реактивности тромбоцитов на фоне приема аспирина и клопидогрела, но не обладает прогностическим влиянием на исходы после чрескожных коронарных вмешательств у больных со стабильным течением ИБС.
4. Высокая реактивность тромбоцитов, по данным VerifyNow[®], является независимым предиктором развития неблагоприятных кардиальных событий у больных ИБС после чрескожных коронарных вмешательств с имплантацией стентов с лекарственным покрытием.
5. В первые сутки после имплантации стентов с лекарственным покрытием отмечается выраженная воспалительная реакция с подъёмом уровней провоспалительных маркеров, а также значений АДФ-индуцированной агрегации, что указывает на нецелесообразность лабораторной оценки функции тромбоцитов в данный период.

Реализация результатов работы

Результаты диссертационного исследования внедрены в клиническую практику и находят применение при обследовании и лечении пациентов ИБС в ФГБНУ «Научный центр 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 XVII и XVIII Всероссийской сессии «Научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» с Всероссийской конференцией молодых ученых (Москва, 2013, 2014), на XIX и XX Всероссийских съездах сердечно-сосудистых хирургов (Москва 2013, 2014), на 63st International Congress of ESCVS (Ницца, 2014) и на Седьмой Всероссийской конференции «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии» (Москва, 2015).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 11 работ, из них 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК для публикации основных результатов диссертационных исследований на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Личное участие соискателя в разработке проблемы

Автор принимала участие в обследовании 94 пациентов со стабильной ИБС. В ходе сбора материала для диссертационной работы соискателем были освоены методики оценки функции тромбоцитов. Автор лично проводил и анализировал световую агрегометрию с 5 мкмоль/л АДФ, тесты VerifyNow[®], оценку прогноза пациентов, а также анализ результатов определения полиморфизма гена CYP2C19. Автор принимала участие в клиническом наблюдении, в дооперационном и послеоперационном ведении пациентов, в оценке отдаленных результатов, статистической обработке материала, первичной формулировке выводов и практических рекомендаций.

Структура и объём диссертации

Диссертация содержит введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, изложение полученных результатов, их обсуждение, выводы, практические рекомендации и

список литературы. Библиография включает 236 источников: 18 отечественных и 219 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 27 рисунками и 36 таблицами. Материал исследования изложен на 196 страницах.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В настоящее проспективное исследование были включены 94 больных стабильной ИБС, поступивших в отделение неинвазивной аритмологии и хирургического лечения комбинированной патологии НЦССХ им. А.Н. Бакулева в период с 2009 по 2013 годы для выполнения чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ).

Критерием включения в исследование являлось наличие у больного инструментально подтвержденного поражения коронарного русла, требующего проведения ЧКВ с имплантацией стентов с лекарственным покрытием. **Критериями исключения являлись:** непереносимость аспирина и/или клопидогрела; острый коронарный синдром; недавние травмы или обширные хирургические вмешательства в течение 1 месяца до включения в исследование; число тромбоцитов менее 100 и более 450 $\times 10^9/\text{л}$; гематокрит менее 30%; гемоглобин менее 100 г/л; почечная недостаточность (уровень креатинина в сыворотке $\geq 2,0$ мг/дл или необходимость проведения гемодиализа); наличие сопутствующих воспалительных (активный инфекционный процесс, системные болезни соединительных тканей) и/или онкологических заболеваний; отказ пациента от участия в исследовании. Общая клиническая характеристика пациентов представлена в Таблице 1.

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

Параметры	N/Медиана*	Частота/Max-Min*
-----------	------------	------------------

Пол:		
Мужчины	81	86,2%
Женщины	13	13,8%
Возраст, годы	59	35-76
Индекс массы тела, кг/м²	28,7	20,0-41,1
Курение	56	59,6%
Сахарный диабет 2 типа	19	20,2%
Артериальная гипертензия	86	91,5%
Гиперлипидемия	59	62,8%
Острый инфаркт миокарда в анамнезе	51	54,3%
ЧКВ в анамнезе	30	31,9%
Аспирин	93	98,9%
Клопидогрел	62	66,0%
Статины	42	44,7%
ФВЛЖ, %	62	32-76
Наличие гипокинеза	26	27,7%

**Номинальные переменные представлены в виде долей, количественные переменные – в виде медиан, а также минимальных и максимальных значений.*

Все пациенты, которым планировалось выполнить ЧКВ с имплантацией стента с лекарственным покрытием, находились на двойной антиагрегантной терапии аспирином 100 мг/сут и клопидогрелом 75 мг/сут. Если пациент не принимал ДААТ до поступления в отделение, ему назначалась нагрузочная доза аспирина 300 мг/сут и клопидогрела 600 мг/сут до проведения ЧКВ. После проведения ЧКВ пациентам назначались поддерживающие дозы двойной антиагрегантной терапии (аспирин 100 мг/сут, клопидогрел 75 мг/сут) не менее 12 месяцев. При этом забор крови и ЧКВ выполнялись не ранее, чем через 24 часа после приема нагрузочных доз антиагрегантов.

Всем пациентам (n=94) производился забор венозной крови до ЧКВ для определения степени реактивности тромбоцитов с помощью световой агрегатометрии с 5 мкмоль/л АДФ и метода VerifyNow®, а также для оценки исходных уровней воспалительных и эндотелиальных маркеров. Всем пациентам проводилось генотипирование CYP2C19*2, результаты которого были получены

после выписки больных и не влияли на режим антиагрегантной терапии. У части пациентов (n=31) производился забор венозной крови для динамической оценки реактивности тромбоцитов (с помощью АДФ-индуцированной агрегатометрии) и уровней воспалительных и эндотелиальных маркеров в ранний послеоперационный период (сразу после имплантации стента, через 6, 12 и 48 часов), а также в отдаленные сроки (через 1, 3 и 6 месяцев) после ЧКВ.

Срок наблюдения за больными составил $28,2 \pm 15,5$ месяцев.

Конечные точки исследования: для данного исследования была выбрана комбинированная конечная точка – «неблагоприятное кардиальное событие», в которую вошли «большие кардиальные события» (смерть от кардиальных причин, нефатальный ОИМ, реваскуляризация целевого сосуда и инсульт), а также тромбоз стента, возврат или прогрессирование стенокардии и ангиографически подтвержденный рестеноз стента.

Лабораторные методы исследования

Определение остаточной реактивности тромбоцитов:

1. **Световая агрегатометрия** проводилась на двухканальном лазерном анализаторе «230LA» НПФ «БИОЛА» (Россия). В качестве индуктора агрегации применялся АДФ в конечной концентрации 5 ммоль/л. Высокая реактивность тромбоцитов устанавливалась при значениях агрегации с 5 ммоль/л АДФ $\geq 50\%$.

2. **Метод VerifyNow®** (Accumetrics, США). В качестве агониста используется арахидоновая кислота для оценки аспирина, а интенсивность проходящего света преобразуется в единицы реакции Aspirin Reaction Units (ARU). Комбинация АДФ и простагландина E1 применяется для оценки рецепторов P2Y₁₂ (клопидогрела) и выражается в P2Y₁₂ Reaction Units (PRU).

Определение уровня воспалительных маркеров

- Уровень высокочувствительного С-реактивного белка в сыворотке определялся с помощью иммунохимической системы IMAGE® (Beckman Coulter, Ирландия) методом кинетической турбидиметрии в ближнем инфракрасном диапазоне (NPIA).
- Уровень растворимого Р-селектина, растворимого CD40 лиганда и высокочувствительного ИЛ-6 определялся с помощью иммуноферментных наборов для их количественного определения в плазме (eBioscience, Австрия).
- Уровень антигена ингибитора активатора плазминогена (PAI)-1 в плазме определялся с использованием иммуноферментного набора TECHNOZYM® «PAI-1-antigen-ELISA» (Technoclone GmbH, Австрия).
- Определение количества VWF:Ag (антиген фактора фон Виллебранда) в плазме выполнялся с помощью иммуноферментного набора «HemosIL von Willebrand Factor Antigen» (IL Coagulation Systems, Италия).

Определение генетического полиморфизма CYP2C19

Полиморфизм CYP2C19*2 определялся с помощью наборов «SNP-экспресс-PB» (НПФ «Литех») на приборе iCycler IQ5 (BioRad, США).

Статистические расчеты проводились с использованием программ Microsoft Excel 2007, Statistica 8.0 и SPSS Statistics 17.0. Различия считались достоверными при величине $p < 0,05$.

Результаты собственных исследований

1. Факторы, определяющие высокую реактивность тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии

В нашем исследовании нормальная реактивность тромбоцитов (РТ) на фоне ДААТ устанавливалась при значениях АДФ-индуцированной агрегации менее 50% (согласно данным литературы),

PRU менее 208 (согласно рекомендациям фирмы-производителя, а также данным крупного рандомизированного исследования GRAVITAS). По данным АДФ-индуцированной агрегатометрии, нормальную РТ до ЧКВ имели 79 пациентов (84%) и высокую реактивность – 15 пациентов (16%). В то время как, по данным VerifyNow[®], распределение имело следующий характер: 71 пациент имел нормальную РТ (75,5%) и 23 пациента – высокую РТ (24,5%). Далее для сопоставления частоты кардиальных событий у пациентов с нормальной и высокой реактивностью, по данным различных методов, мы разделили всю выборку на 4 группы: пациенты с АГР 5АДФ $\geq 50\%$ и $PRU \geq 208$ (n=6); пациенты с АГР 5АДФ $\geq 50\%$ и $PRU < 208$ (n=9); пациенты с АГР 5АДФ $< 50\%$ и $PRU \geq 208$ (n=16); группа – пациенты с АГР 5АДФ $< 50\%$ и $PRU < 208$ (n=62). С помощью дисперсионного анализа (метод Хи-квадрат) было установлено, что частота неблагоприятных кардиальных событий достоверно отличалась при сравнении 4-х групп (p=0,02). Максимальная частота неблагоприятных исходов наблюдалась в группе 1 (ВРТ установлена двумя методами) – 66,7%. В группе 2 и 3 частота событий составила 33,3% и 37,5%, соответственно. Наименьшая частота отмечалась в группе 4 (нормальная РТ, по данным 2-х методов).

При сравнении групп с нормальной и высокой РТ нами было установлено, что медиана времени до наступления кардиального события (КС) после ЧКВ у пациентов с нормальной РТ на фоне ДААТ была достоверно выше, по сравнению с пациентами из группы высокой РТ [24 мес (6-47 мес) против 0,03 мес (0-36 мес), p=0,013], что указывает на более раннее развитие неблагоприятных исходов после ЧКВ у пациентов со значениями АГР 5АДФ 50% и более. Необходимо отметить, что все 4 события, которые развились в первые 24 часа после

ЧКВ, произошли в группе с высокой РТ (острый тромбоз стента с различными клиническими проявлениями), в то время как самое раннее событие в группе с нормальной РТ развилось через 6 месяцев после ЧКВ (прогрессирование стенокардии с ангиографически подтвержденным рестенозом).

Частота кардиальных событий после ЧКВ была достоверно выше в группе пациентов с высокой ВР (значение АРГ5АДФ $\geq 50\%$), по сравнению с пациентами с нормальной РТ (46,7% против 20,3%, $p=0,029$). Прогрессирование стенокардии с последующим ангиографическим подтверждением рестеноза было зарегистрировано у 9 пациентов (56,3%) из группы нормальной РТ и у 2 пациентов (28,6%) из группы высокой РТ ($p=0,55$). Тромбоз стента (ТС) с различными клиническими проявлениями (ОИМ с подъемом ST и без, прогрессирование стенокардии) перенесли 5 пациентов из группы нормальной РТ, причем все они развились через 12 месяцев и более после ЧКВ (поздний и очень поздний ТС). И как было отмечено выше, в группе высокой РТ 4 пациента перенесли ТС с различными клиническими проявлениями и все они развились в первые 24 часа после ЧКВ. Смерть была зарегистрирована у одного пациента из группы нормальной РТ и у одного пациента из группы высокой РТ. В обоих случаях смерть наступила вследствие прогрессирования хронической сердечной недостаточности. Необходимо отметить, что за время наблюдения в исследуемой популяции случаев малых или больших кровотечений не зарегистрировано.

В результате проведенного однофакторного регрессионного анализа нами были выявлены следующие факторы, влияющие на высокую РТ, по данным световой агрегатометрии: индекс массы тела [1,001; 95%ДИ 1,000-1,003, $p=0,02$], **уровень общего холестерина**

[1,006; 95%ДИ 1,001-1,011; $p=0,01$], **уровень липоротеинов низкой плотности (ЛПНП)** [1,012; 95%ДИ 1,004-1,020; $p=0,004$], **уровень PRU** (по данным VerifyNow[®]), **носительство аллеля CYP2C19*2** [0,197; 95%ДИ 0,062-0,627; $p=0,006$], а также исходный уровень **вч-СРБ** [1,003; 95%ДИ 1,001-1,006, $p=0,01$], **sP-селектина** [1,000; 95%ДИ 1,000-1,001; $p=0,009$] и **активность фактора Виллебранда** [1,003; 95%ДИ 1,001-1,006; $p=0,04$].

По результатам ROC-анализа были определены статистически достоверные критические значения для 4 показателей: уровень общего холестерина 5,41 ммоль/л (AUC 0,721, $p=0,007$); уровень ЛПНП 3,25 ммоль/л (AUC 0,783, $p=0,001$); уровень вч-СРБ 1,04 мг/л (AUC 0,768, $p=0,004$); уровень sP-селектина 76,93 нг/мл (AUC 0,800, $p=0,002$). Далее мы провели многофакторный регрессионный анализ, в результате которого были определены следующие независимые предикторы высокой РТ, по данным АДФ-индуцированной агрегации: **индекс массы тела** [1,003; 95%ДИ 1,000-1,006, $p=0,03$] и **уровень sP-селектина** [1,001; 95%ДИ 1,000-1,001, $p=0,03$].

2. Вклад генотипа CYP2C19 в развитие неблагоприятных кардиальных событий после ЧКВ

В нашем исследовании всем пациентам после проведения ЧКВ и выписки из стационара было выполнено генотипирование по аллелю CYP2C19*2. В результате мы получили следующее распределение: у 67 пациентов (71,3%) был выявлен нормальный генотип (CYP2C19*1/*1), у 24 пациентов (25,5%) – гетерозиготное носительство (CYP2C19*1/*2) и у 3 пациентов (3,2%) – гомозиготное носительство (CYP2C19*2/*2). В связи с тем, что абсолютное количество пациентов с гомозиготным носительством составляло всего 3 пациента, для дальнейшего сравнительного анализа мы

объединили пациентов с гомо- и гетерозиготным носительством в одну группу – *носительство CYP2C19*2*.

Сравнительный анализ групп показал, что медиана значений агрегации с 5 мкмоль/л АДФ (АРГ 5АДФ) в группе носительства была достоверно выше по сравнению с пациентами с нормальным генотипом (38% против 43%, $p=0,0026$). Показатели ARU и PRU, установленные с помощью VerifyNow[®], также имели статистически значимые отличия: медиана ARU у пациентов в группе нормального генотипа составила 385 против 410 в группе носительства ($p=0,0054$), медиана PRU у пациентов с нормальным генотипом составила 152, а у пациентов с носительством CYP2C19*2 – 168 ($p=0,043$). Относительно уровня маркеров воспаления (вч-СРБ, sP-селектин, sCD40 лиганд, вч-ИЛ-6) и дисфункции эндотелия (PAI-1, ФВ) мы не выявили достоверной разницы. В группе пациентов с нормальным генотипом (CYP2C19*1/*1) ($n=67$) кардиальные события после ЧКВ были зарегистрированы у 16 пациентов (23,9%), в то время как в группе носительства аллеля CYP2C19*2 ($n=27$) КС перенесли 7 пациентов (25,9%) ($p=0,83$). Медиана времени возникновения КС составила 24 (4-47) месяца в группе нормального генотипа и 0,03 (0-36) месяца в группе носительства ($p=0,077$). Следует отметить, что из 7 пациентов в группе носительства 4 пациента (57%) перенесли острый тромбоз стента (в течение первых 24 часов) после ЧКВ.

Суммируя полученные данные, можно заключить, что гомо- и гетерозиготные носители аллеля CYP2C19*2 (со сниженной функцией) имеют достоверно более высокую остаточную реактивность тромбоцитов на фоне приема аспирина и клопидогрела как по данным световой агрегатометрии с 5 мкмоль/л АДФ, так и по данным VerifyNow Aspirin[®] и P2Y12[®]. При этом частота развития

неблагоприятных кардиальных событий и сроки до их развития после ЧКВ были сопоставимы в обеих группах, что может указывать на наличие и других факторов риска, определяющих исходы в исследуемой популяции.

3. Предикторы неблагоприятных кардиальных событий после ЧКВ

Средние сроки наблюдения за пациентами в исследовании составили $28,2 \pm 15,5$ месяцев. За весь период наблюдения в 75,5% случаев после выполнения ЧКВ не было зарегистрировано каких-либо неблагоприятных кардиальных событий. Все клинические исходы представлены на рисунке 2.

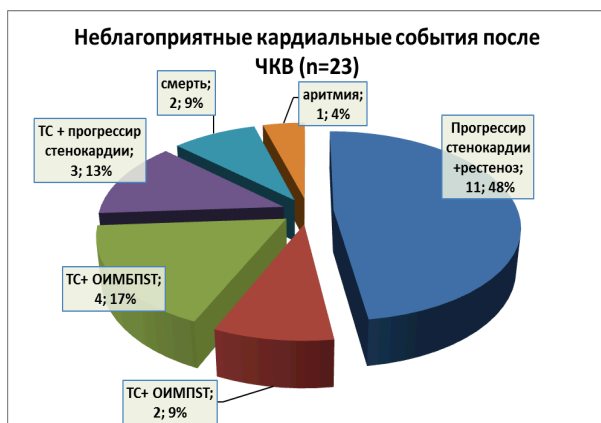


Рисунок 2. Клинические исходы в ранние и отдаленные сроки после ЧКВ со стентированием (ОИМБПСТ – острый инфаркт миокарда с подъем сегмента ST, ОИМБПСТ – острый инфаркт миокарда без подъема сегмента ST, ТС – тромбоз стента).

В связи с малой выборкой и частотой возникновения конечных точек все вышеупомянутые исходы объединены в одну кумулятивную конечную точку – **неблагоприятное кардиальное событие**. Так, у 4 пациентов событие развилось в течение 24 часов после стентирования, у остальных 19 больных сроки до развития события варьировали от 4 до 47 месяцев (медиана – 24 месяца). Необходимо отметить, что за время наблюдения в исследуемой популяции случаев малых или больших кровотечений не зарегистрировано.

В результате проведенного однофакторного регрессионного анализа были выявлены следующие предикторы развития кардиальных событий (КС) после ЧКВ: сопутствующий **сахарный**

диабет 2 типа [0,344, 95%ДИ 0,118-1,004, $p=0,049$], значение **PRU** [1,009; 95%ДИ 1,002-1,017, $p=0,01$], **стентирование 2-х и более коронарных артерий** [4,00; 95%ДИ 1,475-10,848, $p=0,01$], **имплантация более 2-х стентов** и [3,672; 95%ДИ 1,366-9,872, $p=0,01$], а также исходный **уровень PAI-1** [1,000, 95%ДИ 0,999-1,000, $p=0,03$] и **активность фактора Виллебранда** [1,000, 95%ДИ 1,000-2,003, $p=0,01$].

Данные логистической регрессии и данные ROC-кривой ($AUC=0,664$; 95%ДИ 0,531-0,796, $p=0,02$) указывают, что уровень PRU способен предсказывать риск развития неблагоприятных кардиальных событий. В обследуемой выборке критическое значение PRU составило 202 (чувствительность - 0,52, специфичность - 0,76). Для PAI-1 критическое значение составило 75,95 нг/мл, (чувствительность - 0,67, а специфичность - 0,86) (площадь под кривой (AUC) - 0,726, 95%ДИ 0,576-0,876, $p=0,01$). Для активности ФВ критическое значение составило 155,15% (чувствительность - 0,56, специфичность - 0,84) (AUC 0,724, 95%ДИ 0,561-0,887, $p=0,01$).

Из шести факторов, включенных в многофакторный регрессионный анализ, *независимо влияли на прогноз сахарный диабет 2 типа* [10,299; 95%ДИ 1,236-85,850; $p=0,03$], **уровень PRU** [1,016; 95%ДИ 1,002-1,030; $p=0,03$], **уровень PAI-1** [0,999; 95%ДИ 0,999-1,000; $p=0,01$] и **активность фактора Виллебранда** [1,000; 95%ДИ 1,000-1,000; $p=0,045$].

На основании значений коэффициента регрессии ($\exp(B)$) построена прогностическая модель риска развития неблагоприятных кардиальных событий у пациентов после ЧКВ с имплантацией стентов с лекарственным покрытием. Группа низкого риска включает больных с суммой баллов не более 0 (вероятность развития КС - 5%). Группа

промежуточного риска включает больных с суммой баллов 1 (вероятность развития КС – 40%), высокого риска - с суммой баллов 2 и более (вероятность развития КС – 60%) (Таблица 2).

Таблица 2. Прогностическая модель риска развития неблагоприятных кардиальных событий после ЧКВ

Фактор риска	Баллы
Сахарный диабет	
Есть	2
Нет	-1
Уровень PRU ≥ 202	1
Уровень PAI-1 $\geq 75,95$ нг/мл	1
Активность фактора Виллебранда $\geq 155,15$ %	1

PRU (P2Y12 reaction units) – единицы реакции P2Y12-рецепторов; PAI-1 – ингибитор активатора плазминогена-1

4. Динамика изменений маркеров воспаления и дисфункции эндотелия у больных ИБС до и после ЧКВ

Выполнено сравнение уровней провоспалительных и эндотелиальных маркеров, а также значений АГР 5АДФ до стентирования и сразу после стентирования. За исключением sP-селектина и вчИЛ-6 значения всех параметров сразу после стентирования закономерно имели статистически значимые различия по сравнению с исходными значениями ($p < 0,05$). При сравнительном анализе динамики значений исследуемых параметров до 6 месяцев после стентирования было показано отсутствие статистически значимых различий в динамике у большинства параметров. Исключением является динамика уровня PAI-1 ($p = 0,04$). После стентирования значения PAI-1 снижались до минимальных значений (медиана 22,08 нг/мл), зарегистрированных через 6 часов после стентирования. В дальнейшем значения PAI-1 имели четкую тенденцию к росту, однако не достигали исходных значений, зарегистрированных до стентирования.

ВЫВОДЫ

1. Высокая реактивность тромбоцитов по данным световой агрегатометрии (значение АДФ-индуцированной агрегации 50% и более) достоверно ассоциирована с высоким индексом массы тела, уровнем общего холестерина $\geq 5,4$ ммоль/л, уровнем липопротеинов низкой плотности $\geq 3,25$ ммоль/л, носительством аллеля CYP2C19*2, уровнем высокочувствительного С-реактивного белка $\geq 1,04$ мг/л, уровнем растворимого Р-селектина $\geq 76,93$ нг/мл. Независимым достоверным влиянием обладают повышенный индекс массы тела и уровень растворимого Р-селектина.
2. Пациенты с высокой реактивностью тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии, по данным VerifyNow® (PRU ≥ 202) и АДФ-индуцированной агрегатометрии (АГР5АДФ $\geq 50\%$) достоверно чаще переносят неблагоприятные кардиальные события после чрескожных коронарных вмешательств (ЧКВ). Все кардиальные события, которые развились в первые 24 часа (острый тромбоз стента), были зарегистрированы у пациентов с высокой реактивностью тромбоцитов по данным двух лабораторных методов (световая агрегатометрия и VerifyNow®).
3. У пациентов с нормальной реактивностью тромбоцитов, по данным АДФ-индуцированной агрегатометрии и VerifyNow®, развитие неблагоприятных кардиальных событий имеет отсроченный характер (6 месяцев и более) и преимущественно связаны с процессами рестенозирования и прогрессирования атеросклероза.
4. Неблагоприятные кардиальные события после ЧКВ значимо ассоциируются с наличием сопутствующего сахарного диабета 2 типа, числом стентированных артерий более 2-х, числом установленных стентов более 2-х, высокой реактивностью тромбоцитов (PRU ≥ 202 ,

уровнем ингибитора активатора плазминогена-1 $\geq 75,95$ нг/мл и активностью фактора фон Виллебранда $\geq 155,15\%$. Независимыми предикторами развития неблагоприятных кардиальных событий явились: сопутствующий сахарный диабет 2 типа, значение PRU, уровень ингибитора активатора плазминогена-1 и активность фактора фон Виллебранда.

5. Носительство аллеля CYP2C19*2 является фактором, определяющим высокую реактивность тромбоцитов как по данным световой агрегатометрии, так и по данным VerifyNow®. В исследуемой популяции частота и время до развития неблагоприятных исходов после ЧКВ у носителей аллеля CYP2C19*2 сопоставимы с носителями дикого аллеля (CYP2C19*1/*1).

6. На сроки развития кардиальных событий после ЧКВ влияют значения PRU, %ингибирования P2Y12, уровень высокочувствительного С-реактивного белка и активность фактора фон Виллебранда. Значение PRU ≥ 202 обладает независимым влиянием на время наступления кардиальных событий.

7. Проведение чрескожного коронарного вмешательства на 2-х артериях и более, имплантация 3-х стентов и более, а также имплантация стентов с лекарственным покрытием первого поколения (паклитаксел, сиролимус) сопряжены с более выраженным воспалительным ответом в ранние и отдаленные сроки после ЧКВ и может сопровождаться повышением риска неблагоприятных кардиальных событий.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с сахарным диабетом целесообразно оценивать реактивность тромбоцитов с помощью VerifyNow®, а также определять степень эндотелиальной дисфункции (уровень ингибитора активатора

плазминогена-1 и фактора Виллебранда) для стратификации по группам риска с помощью разработанной прогностической модели. При выявлении уровня PRU ≥ 202 следует добиться снижения реактивности путем увеличения дозы клопидогрела или смены на тикагрелор.

2. Пациентам с высокой реактивностью, по данным световой агрегатометрии, и при отсутствии более специфичных методов оценки реактивности тромбоцитов (VerifyNow[®]) целесообразно провести генотипирование (CYP2C19*2). При наличии высокой реактивности тромбоцитов у больных с гомозиготным носительством дикого аллеля (CYP2C19*1/*1) целесообразно использование в комплексном лечении противовоспалительной и гиполипидемической терапии, а также проводить коррекцию массы тела. При наличии гетерозиготного (CYP2C19*2/*1) или гомозиготного (CYP2C19*2/*2) носительства аллеля с пониженной функцией следует рассмотреть возможность замены клопидогрела на тикагрелор.

3. Лабораторный контроль эффективности двойной антиагрегантной терапии целесообразно проводить до ЧКВ, так как имплантации стентов с лекарственным покрытием сопровождается выраженным воспалительным ответом (повышение уровней высокочувствительного С-реактивного белка, растворимого CD40 лиганда и активности фактора Виллебранда) и опосредованным повышением агрегационной способности тромбоцитов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Голухова Е.З., Рябинина М.Н., Булаева Н.И., Григорян М.В., Кубова М.Ч. Реактивность тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии после стентирования коронарных артерий: генетический

полиморфизм и клинические варианты. Креативная кардиология. 2013; 2: 15-27.

2. Рябинина М.Н., Голухова Е.З., Кубова М.Ч., Булаева Н.И., Григорян М.В. Оценка эффективности антиагрегантной терапии у пациентов с ИБС перед ангиопластикой коронарных артерий с учетом генетического полиморфизма. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2013;14 (6): 240.

3. Голухова Е.З., Григорян М.В., Рябинина М.Н. Современные аспекты фармакогенетики клопидогрела и его клиническое значение. Креативная кардиология. 2013; 3: 39-52.

4. Григорян М.В., Рябинина М.Н., Булаева Н.И., Мустафаева А.З., Голухова Е.З. Прогностическое значение реактивности тромбоцитов, маркеров воспаления и генотипирования у больных ИБС после ЧКВ. Креативная кардиология. 2014; 4: 13-19.

5. Рябинина М.Н., Голухова Е.З., Кубова М.Ч., Булаева Н.И., Григорян М.В. Оценка эффективности антиагрегантной терапии у пациентов с ИБС перед ангиопластикой коронарных артерий при помощи лабораторных тестов. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2013;14(6): 244.

6. Мустафаева А.З., Завалихина Т.В., Булаева Н.И., Григорян М.В., Голухова Е.З. Влияние реваскуляризации на диастолическую функцию и деформацию миокарда левого желудочка в ранние сроки после коронарного шунтирования у больных ишемической болезнью сердца с сахарным диабетом 2 типа. Креативная кардиология. 2014; 4: 19-29.

7. Григорян М.В., Рябинина М.Н., Булаева Н.И., Кубова М.Ч., Аверкиева Ю.С., Голухова Е.З. Прогностическое значение реактивности тромбоцитов, маркеров воспаления и генотипирования после чрескожного коронарного вмешательства у больных ИБС.

Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2014;15(6): 260.

8. Рябинина М.Н., Голухова Е.З., Кубова М.Ч., Булаева Н.И., Григорян М.В. Влияние активации тромбоцитов в раннем и позднем послеоперационном периоде на прогноз пациентов с ИБС при проведении ангиопластики коронарных артерий. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2013; 14(6): 245.

9. Голухова Е.З., Рябинина М.Н., Булаева Н.И., Григорян М.В., Кубова М.Ч. Антиагрегантная терапия при стентировании коронарных артерий: клиническое наблюдение, лабораторное тестирование или определение генетического полиморфизма. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания». 2014; 15(3):115.

10. Golukhova E.Z., Ryabinina M.N, Bulaeva N.I., Kubova M.Ch., Grigoryan M.V. The platelet reactivity after percutaneous coronary intervention in patients with double antithrombotic therapy: impact of genetic polymorphisms». The 63st International Congress of ESCVS, 24 – 27 April, 2014, Nice, France. The J. of Cardiovascular Surgery. 2014. Vol.55, Suppl. 2 to No.2. P.163.

11. Григорян М.В., Голухова Е.З., Рябинина М.Н., Булаева Н.И., Кубова М.Ч., Аверкиева Ю.С. Факторы, определяющие высокую реактивность тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии у больных ИБС с учетом наличия полиморфизма гена CYP2C19. Седьмая Всероссийская конференция «Клиническая гемостазиология и гемореология в сердечно-сосудистой хирургии». Материалы конференции. 2015. С. 145.