

На правах рукописи

**АРУТЮНОВА
ЯНА ЭДУАРДОВНА**

**ЗНАЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ В ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ ПОДХОДА
К ДВОЙНОЙ АНТИАГРЕГАНТНОЙ ТЕРАПИИ У
ПАЦИЕНТОВ С ИБС, НАПРАВЛЯЕМЫХ НА ПЛАНОВОЕ
ЧРЕСКОЖНОЕ КОРОНАРНОЕ ВМЕШАТЕЛЬСТВО**

14.01.05 – Кардиология

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва 2016

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научный Центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Мацкеплишвили Симон Теймуразович

Официальные оппоненты:

Гиляревский Сергей Руджерович - доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры клинической фармакологии и терапии Государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия последиplomного образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации (по специальности «кардиология», шифр - 14.01.05).

Лебедева Анастасия Юрьевна - доктор медицинских наук, профессор, заместитель главного врача по медицинской части «Городской клинической больницы № 15 им. О.М. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы».

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «24» июня 2016 года в «14:00» часов, на заседании диссертационного совета Д 001.015.01 при ФГБУ «Научный Центр сердечно - сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева» Минздрава России по адресу: 121552, г. Москва, Рублевское шоссе, д. 135.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НЦССХ им А.Н. Бакулева» Минздрава России и на сайтах ФГБУ «НЦССХ им А.Н. Бакулева» Минздрава России www.bakulev.ru и Высшей Аттестационной Комиссии (ВАК) <http://vak.ed.gov.ru>

Автореферат разослан «_23_»_мая_2016 г

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук,

профессор

Газизова Динара Шавкатовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Несмотря на колоссальные достижения в лечении и профилактике, ишемическая болезнь сердца (ИБС) продолжает оставаться ведущей причиной смертности населения во всем мире (Информационный бюллетень ВОЗ № 310, 2014). Наряду с фармакотерапией и хирургической реваскуляризацией миокарда, к основным лечебным стратегиям при ИБС относятся чрескожные коронарные вмешательства – ЧКВ (Montalescot G., 2013; Windecker S., 2014). А у определенной категории пациентов они являются единственно возможным методом реваскуляризации (Бокерия Л.А., 2013). Однако, проведение этих процедур связывается с активацией тромбоцитов и высоким риском тромботических осложнений, непосредственно ответственных за фатальные исходы (Бокерия Л.А., 2009; Алесян Б.Г., 2011; Lüscher, T., 2007; Dangas, G., 2011). Поэтому, на сегодняшний день неотъемлемым спутником эндоваскулярных вмешательств является мощная антиагрегантная терапия, направленная на блокаду циклооксигеназы 1^{го} типа (ЦОГ-1) – аспирин и АДФ-рецепторов тромбоцитов – P₂Y₁₂ (наиболее распространенный – клопидогрель) (Montalescot G., 2013; Windecker S., 2014).

Между тем, в отличие от аспирина, у ≈25% пациентов, получающих клопидогрель, эффект препарата расценивается как неоптимальный, даже на фоне нагрузочных доз (Гринштейн Ю.И., 2013; Bonello L., 2010; Cattaneo M., 2012), что привело к формированию концепции индивидуализации антиагрегантной терапии на основании тестирования (фенотипирования) функции тромбоцитов. Эта гипотеза проверялась в нескольких крупных рандомизированных испытаниях: TRITON-TIMI 38 (Wiviott S., 2007), PLATO (Wallentin L., 2009), GRAVITAS (Price M., 2009) и ARCTIC (Collet

J., 2012). Однако, ввиду явной противоречивости результатов, вызвавших серьезные дискуссии, предложенная концепция пока не признана стандартом терапии у данной категории больных (Montalescot G., 2013; Windecker S., 2014). Аналогичные противоречия присутствуют и в аспекте генотипирования индивидуально-фармакологического ответа как на аспирин, так и на клопидогрель, который зависит от вклада генетических особенностей. В частности, для аспирина значение имеют полиморфизмы генов PTGS-1 и PTGS-2, кодирующих синтез соответственно ЦОГ-1 (прямая фармакологическая мишень) и ЦОГ-2 (альтернативная фармакологическая мишень). Но результаты проводившихся исследований очень неоднозначны (Lepäntalo A., 2006; Clappers N., 2008; Al-Azzam S., 2013). Диапазон генов, полиморфизмы которых способны оказать влияние на чувствительность к клопидогрелю гораздо шире (Trenk D., 2014). Изучение этого вопроса также привело к разноречивым данным (Hulot J., 2010; Mega J., 2010; Bhatt D., 2012; Siller-Matula J., 2012). Несмотря на пессимистичность результатов некоторых крупных проектов, накопленный практический опыт нашего Центра свидетельствует о целесообразности дальнейшего развития этих направлений (Бузиашвили Ю.И., 2001, 2009, 2010; Голухова Е.З., 2010, 2013). И представленная работа – это продолжение уже проведенной серии исследований. Использование высокочувствительного метода анализа функции тромбоцитов с помощью оптической агрегометрии (Габбасов З.А., 1989), изменило подходы к стратификации риска тромботических осложнений при ЧКВ, что позволило более чем в 5 раз снизить развитие негативных клинических исходов (Бузиашвили Ю.И., 2009, 2010; Ахмедярова Л.Б., 2011). Однако, многие вопросы, касающиеся ин-

дивидуального подхода к применению антитромбоцитарных средств на основании фено-/генотипирования тромбоцитарного ответа на антиагрегантную терапию остались неразрешенными.

Таким образом, учитывая все вышеизложенное, *целью* исследования явилось: определить клиническую значимость функционально-генетических взаимосвязей в тромбоцитарном ответе на двойную антиагрегантную терапию и в развитии негативных кардиальных исходов у пациентов с ИБС, направляемых на плановые чрескожные коронарные вмешательства.

Задачи исследования:

1. Оценить возможности стратегии рутинного тестирования функциональной активности тромбоцитов в выявлении лиц высокого риска ишемических/тромботических событий в течение 1го года среди пациентов с ИБС, направляемых на плановые чрескожные коронарные вмешательства.
2. Проанализировать результаты индивидуального подхода к назначению двойной антиагрегантной терапии, основанного на принципе «лабораторного сопровождения» пациентов с ИБС, направляемых на чрескожные коронарные вмешательства.
3. Изучить взаимосвязь неудовлетворительного ответа на стандартную схему двойной антиагрегантной терапии с наличием генетических детерминант, ответственных за фармакологические эффекты аспирина и клопидогреля.
4. Определить роль генетически-опосредованных факторов в развитии ишемических/тромботических событий после ЧКВ.

Научная новизна. Проанализирован большой клинический материал по выявлению значимости функционально-генетических взаимосвязей в тромбоцитарном ответе на двойную антиагрегант-

ную терапию и их вклад в развитие негативных кардиальных исходов у пациентов с ИБС после плановых чрескожных коронарных вмешательств. Особую научную ценность представляет единовременная оценка генетического профиля по нескольким полиморфизмам генов, ответственных за метаболизм и биодоступность ацетилсалициловой кислоты и клопидогреля, а также за функциональную полноценность некоторых тромбоцитарных рецепторов-«мишеней». Ни в отечественной, ни в зарубежной литературе работ подобного информационного объема мы не встретили.

Доказана эффективность индивидуального подхода к антиагрегантной терапии, основанная на тестировании функциональной активности тромбоцитов, в снижении риска негативных кардиальных событий у этой категории пациентов. Существенное научное значение имеет положение о том, что, несмотря на тесную взаимосвязь с гиперреактивностью тромбоцитов, носительство полиморфной аллели CYP2C19*2 не несет ответственности за ишемические/тромботические последствия после ЧКВ. Впервые представлены данные о возможной существенной роли в возникновении негативных клинических исходов после стентирования коронарных артерий сочетания высокой тромбоцитарной активности с определенной комбинацией генетических полиморфизмов.

Практическая значимость. Впервые в России предложен и обоснован расчет границ терапевтического «окна» при интерпретации результатов оптической агрегометрии (для каждого конкретного прибора). Это позволяет объективизировать выявление «нечувствительных» к антиагрегантной терапии пациентов, обеспечить эффективное, безопасное (баланс рисков возникновения ишемических/тромботических событий или кровотечений) и, са-

мое главное, контролируемое лечение. Разработанный лечебно-диагностический алгоритм в практическом здравоохранении может служить надежным инструментом своевременной радикальной смены выбранной тактики (ЧКВ) у пациентов высокого риска ишемических/тромботических осложнений на альтернативные стратегии (коронарное шунтирование, методы вспомогательного терапевтического воздействия, например, наружная контрпульсация, ударно-волновая терапия, применение клеточных технологий, и т.д.).

Положения, выносимые на защиту. 1) У пациентов со стабильными формами ИБС, направляемых на чрескожные коронарные вмешательства, тестирование функции тромбоцитов на фоне стандартных доз двойной антиагрегантной терапии (аспирин + клопидогрель) следует рассматривать в качестве рутинного диагностического инструмента, способствующего существенному снижению высокого риска развития ишемических/тромботических событий. Систематизированное лабораторное сопровождение ЧКВ позволяет контролировать и индивидуализировать подбор оптимальных схем/режимов приема клопидогреля; 2) Удвоение (150 мг/сутки) дозы клопидогреля в сочетании с коррекцией клинических факторов почти в половине случаев способно преодолеть нарушение чувствительности к клопидогрелю без повышения риска возникновения кровотечений; 3) Носительство полиморфной аллели CYP2C19*2 несет ответственность за повышение тромбоцитарной активности, а не за клинические исходы; 4) Отдельно взятые полиморфизмы других генов, ответственных за фармакологические эффекты аспирина и клопидогреля не ассоциируются ни с повышением функциональной активности тромбоцитов, ни с клини-

ческими исходами после ЧКВ; 5) Стойкая гиперреактивность тромбоцитов при удвоении дозы клопидогреля до 150 мг/сутки увеличивает риск любых негативных кардиальных событий в комбинации с сочетанием полиморфизмов (GPIa [ITGA2: rs1126643, rs1549276] и CYP2B6 [rs3211371]). Дополнительное присутствие полиморфизмов (PTGS-1 [rs2282169] и гена, кодирующего функцию P2Y12 рецепторов [rs10935838]) повышает степень риска.

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

Апробация работы. Материалы работы доложены на XVI и XVII ежегодных сессиях научного центра сердечно-сосудистых хирургии им. А.Н.Бакулева РАН с Всероссийской конференцией молодых ученых (Москва, 2012, 2013); на XVII и XVIII, IX Всероссийских съездах сердечно-сосудистых хирургов (Москва, 2011, 2012, 2013); на Первой всероссийской научной конференции молодых ученых-медиков «Инновационные технологии в медицине XXI века» (Москва, 2012); на Московском международном форуме кардиологов (Москва, 2013); на VIII Международной Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (Москва, 2013); на ежегодной европейской конференции по сердечной недостаточности (Лиссабон, 2013); на Российском национальном конгрессе кардиологов (Москва, 2015).

Диссертация апробирована на объединенной научной конференции клинико-диагностического отделения, отделения рентгенохи-

рургических методов исследования и лечения сердца и сосудов, отдела клинической лабораторной диагностики (Москва, 16 марта 2016 года).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 15 работ, из них 4 в журналах, рекомендованных ВАК для публикации основных результатов диссертационных исследований на соискание ученой степени кандидата медицинских наук.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.01.05. «кардиология». Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3, 5, 6, 13, 14 паспорта кардиологии.

Структура и объем диссертации. Объем и структура работы. Диссертация изложена на 139 страницах компьютерного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций и библиографического списка, включающего 283 источника, из которых 43 – отечественных авторов. Диссертация иллюстрирована 23 таблицами и 19 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материал и методы исследования. Полученные результаты основаны на данных обследования 91 пациента с ИБС (средний возраст $59,4 \pm 1,0$ лет), направленных на плановое стентирование коронарных артерий в период с 2008 по 2011 год.

Для достижения поставленной цели и решения задач были сформированы две группы сравнения: *1 группа (n = 37)* – пациенты, у которых на любом из анализируемых сроков, на основании световой агрегометрии документирована повышенная реактивность тромбоцитов без веских клинических причин (признаки вос-

палительных реакций, декомпенсация артериальной гипертонии, сахарного диабета и т.д.) и требовалась смена схем, режимов приема антитромбоцитарных средств; **2 группа (n = 54)** – пациенты, у которых результаты лабораторного тестирования функции тромбоцитов укладывались в терапевтическое «окно».

Исходно – по основным клиническим параметрам группы были статистически сопоставимы (табл. 1).

Таблица 1

Общеклиническая характеристика больных в сравнении между группами.

Параметр	1 группа (n = 37)	2 группа (n = 54)	p
Возраст (лет), среднее	61,5 ± 1,2	58,0 ± 1,5	нд
Мужчины	28 (75,7%)	44 (81,5%)	нд
Женщины	9 (24,3%)	10 (18,5%)	нд
Длительность ИБС (мес), среднее	55,6 ± 9,9	46,7 ± 9,3	нд
Перенесенные ранее инфаркты миокарда	24 (64,9%)	27 (50,0%)	нд
Среднее количество инфарктов миокарда на 1 пациента	0,76 ± 0,11	0,60 ± 0,10	нд
Функциональный класс стенокардии, среднее	2,70 ± 0,11	2,77 ± 0,09	нд
Безболевая форма ишемия миокарда	4 (10,8%)	2 (3,7%)	нд

Группы также были сопоставимы по показателям сократительной способности миокарда ЛЖ (ОФВ, в среднем, составила $53,2 \pm 1,3\%$ и $52,9 \pm 1,0\%$ среди пациентов 1 и 2 групп соответственно, $p = \text{нд}$), по объему поражения коронарного русла (среднее количество пораженных артерий – $2,17 \pm 0,11$ и $2,0 \pm 0,10$ в 1 и 2 группах соответственно, $p = \text{нд}$) и объему интервенционного вмешательства (среднее количество имплантированных стентов в первой группе составило $1,95 \pm 1,17$, во второй – $1,81 \pm 0,12$, $p = \text{нд}$). Функциональная активность тромбоцитов определялась исходно; через 24-

48 ч; через 10 дней; через 1, 3, 6 и 12 месяцев после ЧКВ. В нашем исследовании значения агрегации тромбоцитов, установленных в качестве нижней границы нормы (исходя из показателей здоровых добровольцев без приема клопидогреля) соответствовали: спонтанная – 1,4 у.е; индуцированная 0,1 μ моль АДФ – 1,9 у.е.; индуцированная 1,0 μ моль АДФ – 5,5 у.е.; индуцированная 5,0 μ моль АДФ – 50%. Учитывая, что при госпитализации для проведения ЧКВ практически все пациенты уже получали двойную антиагрегантную терапию, и оценить ее индивидуальную эффективность не представлялось возможным, границы оптимальности этого «окна» рассчитывались как подавление активности тромбоцитов не менее чем на 20% (для границы) и не более чем на 50% (для верхней и нижней границ соответственно) от норм, установленных для здоровых лиц. При этом, расчет «нижней границы» основывался на средних минимальных показателях пациентов, у которых не имелось признаков малых кровотечений.

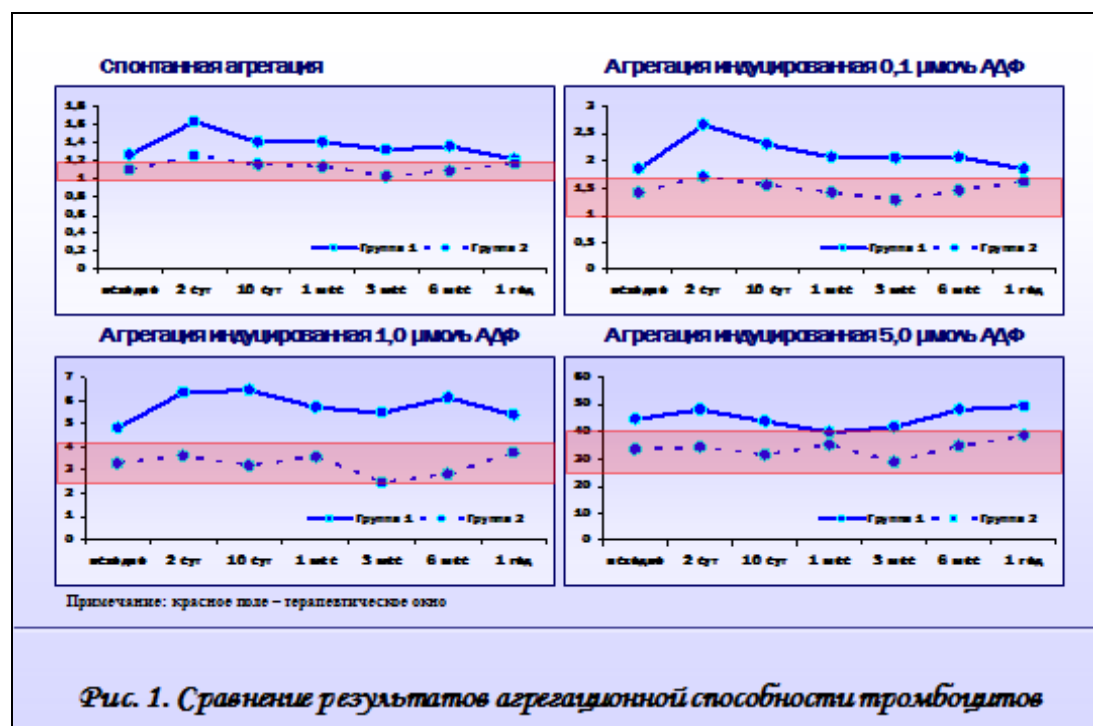
Молекулярно-генетический анализ производили в лаборатории центра «Биоинженерия» (г. Москва). В качестве биологического материала для получения образцов ДНК использовали буккальный эпителий (слюну). Выделение геномной ДНК проводили по протоколам коммерческого набора реактивов фирмы Qiagen (Германия) «QIAamp DNA Blood Mini Kit». Генотипирование проводили по протоколу GoldenGate компании Illumina (США). Значение полиморфизмов были рассчитаны после сканирования в программе GenomeStudio (Illumina, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Оценка функциональной активности тромбоцитов.

Сопоставление результатов агрегации тромбоцитов между группа-

ми, сформированными по вышеуказанному принципу, показало



существенные различия, начиная с этапа подготовки к стентированию, и затем на всех последующих сроках (рис. 1). Особого внимания заслуживает факт, что если до вмешательства в обеих группах значения всех измерений укладывались в диапазон терапевтического «окна», то после его выполнения в 1 группе практически все показатели выходили за допустимые верхние лимиты его границы, что подразумевало высокий риск негативных кардиальных исходов как в ранние, так и в отдаленные сроки наблюдения.

Клинические исходы. За весь анализируемый период наблюдений ни в одной из групп не было случаев летальных исходов. Тем не менее, негативные кардиальные события разной степени тяжести преобладали в первой группе пациентов (32,4% и 3,7%, $p < 0,0001$ в 1 и 2 группах соответственно), (табл.2). Таким образом, тромбоз стента документирован у 10,8% больных только в 1 группе: подострый – в 5,4% случаях и поздний – также в 5,4% случаях.

Таблица 2

Структура негативных кардиальных исходов после проведенного коронарного стентирования

Исход	Группа 1 (n =37)	Группа 2 (n =54)
Тромбоз стента	4 (10,8%)	0 (0%)
<i>подострый</i>	2 (5,4%)	0 (0%)
<i>поздний</i>	2 (5,4%)	0 (0%)
Возврат стенокардии, не связанный со стентированной артерией	2 (5,4%)	0 (0%)
Возврат стенокардии, связанный со стентированной артерией	6 (16,2%)	2 (3,7%)
<i>in-stent рестеноз</i>	3 (8,1%)	1 (1,85%)
<i>новая бляшка</i>	3 (8,1%)	1 (1,85%)
ВСЕГО	12 (32,4%)	2 (3,7%)

Возврат стенокардии, связанный с прогрессированием коронарного атеросклероза вне стентированной артерии, наблюдался у 5,4% больных 1 группы. Возврат стенокардии, связанный с прогрессированием коронарного атеросклероза в стентированной артерии и/или *in-stent* рестенозом, имелся у 16,2% и 3,7% пациентов 1 и 2 групп соответственно (табл. 2). Несмотря на повышенный риск развития кровотечений, связанный с отклонением от стандартной схемы назначения клопидогреля в сторону увеличения дозы, ни в одной из групп мы не наблюдали ни тяжелых, ни умеренных кровотечений. А по количеству регистрировавшихся кровотечений легкой степени тяжести группы были сопоставимы: 5,4% и 7,4% в 1 и 2 группах соответственно ($p = \text{НД}$).

Генетический анализ. Опираясь на имеющийся сегодня мировой и отечественный опыт проводимых исследований в данном направлении, из обширного перечня возможных полиморфизмов генов, способных оказать прямое воздействие на метаболизм аспирина и клопидогреля, мы остановились на 19ти., по нашему мне-

нию, наиболее перспективных для изучения.

Распределение вариантов генотипов и аллелей полиморфизмов генов, ответственных за метаболизм АСПИРИНА.

Исходя из фармакологических свойств аспирина, естественный интерес представляли полиморфизмы генов PTGS-1 (rs3842788, rs2282169, rs10306114, rs10306143) и PTGS-2 (rs5277, rs5275), ответственных за синтез ЦОГ-1 и ЦОГ-2 соответственно. В обеих группах гомозиготное носительство аллели с нормальной функцией (AA) было преобладающим для rs3842788, rs10306114 и rs5277. Доля таких больных варьировала от 77,8% до 91,9%, независимо от ответа на двойную антиагрегантную терапию. В меньшей степени это касалось rs10306143 – 67,6% и 59,3% пациентов в 1 и 2 группах соответственно. Анализ распределения вариантов генотипов и аллелей полиморфизмов генов между группами по принципу «случай-контроль» не показал статистической значимости различий ни для одного из рассмотренных полиморфизмов. Следовательно, эти полиморфизмы вряд ли несут ответственность за повышение активности тромбоцитов.

Распределение вариантов генотипов и аллелей полиморфизмов генов, ответственных за метаболизм КЛОПИДОГРЕЛЯ.

Исходя из фармакологических свойств клопидогреля, мы проанализировали распределение вариантов генотипов полиморфизмов CYP2C19 (CYP2C19*2 [rs4244285], CYP2C19*3 [rs4986893], CYP2C19*4 [rs28399504], CYP2C19*5 [rs56337013], CYP2C19*17 [rs12248560]), CYP2C9 (rs1057910, C430T (Arg144Cys)), CYP3A4 (rs2242480), CYP3A5 (rs776746, rs28365083), CYP1A2 (rs762551), CYP2B6 (rs3211371) и ABCB1 (C3435T) в сравнении между 1 и 2 группами пациентов. Для всех полиморфизмов, за исключением

CYP2C19*2 [rs4244285], анализ распределения вариантов генотипов и аллелей полиморфизмов генов между группами по принципу «случай-контроль» не выявил статистической достоверности. Поэтому, принципиальное участие данных полиморфизмов в механизмах активации тромбоцитов, маловероятно. Что же касается полиморфизма rs4244285, то носительство нормальной гомозиготы (AA) представлено 67,6% и 88,9% случаями; гетерозиготы по полиморфной аллели (Aa) – 29,7% и 11,1%; гомозиготы по полиморфной аллели (aa) – 2,7% и 0,0% случаями в 1 и 2 группах соответственно. Данный полиморфизм CYP2C19 оказался единственным, когда с присутствием аллели с измененной функцией можно уверенно ($p = 0,03$) связать гиперреактивность тромбоцитов при стандартных режимах приема двойной антиагрегантной терапии. Среди пациентов первой группы (случаи с отсутствием стабильного целевого уровня агрегации тромбоцитов при стандартной схеме приема антиагрегантов), у 43,2% удавалось добиться удовлетворительных показателей агрегации тромбоцитов. У 56,8% больных такие попытки оказались безуспешны. Учитывая ранее представленные данные, демонстрирующие высокую вероятность влияния полиморфизма rs4244285 на агрегацию тромбоцитов, мы проанализировали распределение вариантов генотипов и аллелей в зависимости от эффективности индивидуального подбора двойной антиагрегантной терапии (табл. 3). Больные, у которых смена режимов и схем терапии привела к целевым показателям агрегации тромбоцитов, преимущественно – 87,5% – были носителями «дикого» генотипа и 12,5% – гетерозиготы по полиморфной аллели. Среди тех, у кого на фоне изменения антитромбоцитарной терапии агрегация тромбоцитов оставалась высокой, носительство «дикого» ге-

нотипа определено в значительно меньшей степени – 52,3% пациентов. Но гораздо чаще встречались носители полиморфной аллели: 42,9% – гетерозиготные носители аллели с измененной функцией и 4,8% – гомозиготный носитель такой аллели.

Таблица 3

Распределение вариантов генотипов полиморфизма CYP2C19*2 в зависимости от эффекта индивидуальной антитромбоцитарной терапии на функциональную активность тромбоцитов.

Результат терапии	AA	Aa	Aa	χ^2	p
Удалось снизить агрегацию тромбоцитов (n =16)	14 (87,5%)	2 (12,5%)	0 (0,0%)	=5,23	=0,07
Не удалось снизить агрегацию тромбоцитов (n =21)	11 (52,3%)	9 (42,9%)	1 (4,8%)		
ОШ (95% ДИ)	0,16(0,03-0,87)	5,25(0,94-29,18)	2,41(0,09-63,26)		

Однако, сила взаимосвязи вариантов генотипов с результатами индивидуализированной антитромбоцитарной терапии не достигла уровня статистической значимости (табл. 3). По частотам встречаемости аллель, отвечающая за нормальный (А) метаболизм клопидогреля, превалировала (93,7%) в случаях, когда удавалось эффективно повлиять на уровень агрегации; в противоположной ситуации, ее доля меньше – 73,8% (табл. 4

Таблица 4

Распределение вариантов аллелей полиморфизма CYP2C19*2 в зависимости от эффекта индивидуальной антитромбоцитарной терапии на функциональную активность тромбоцитов

Результат терапии	A	A	χ^2	p
Удалось снизить агрегацию тромбоцитов	30 (93,7%)	2 (6,3%)	=4,99	=0,03
Не удалось снизить агрегацию тромбоцитов	31 (73,8%)	11 (26,2%)		
ОШ (95% ДИ)	0,19 (0,04-0,92)	5,32(1,09-26,05)		

В то же время, носительство аллели с измененной функцией

распределилось в обратном соотношении: 6,3% – при положительном результате лечения и 26,2% – при отсутствии эффекта. При этом, получена достоверная ($\chi^2=4,99$, $p=0,03$; ОШ = 5,32, 95% ДИ 1,09-26,05) взаимосвязь ее присутствия с уровнем агрегации тромбоцитов (табл. 4).

Распределение вариантов генотипов и аллелей полиморфизмов некоторых генов, ответственных за функцию тромбоцитарных рецепторов: Мы проанализировали распределение вариантов генотипов и аллелей полиморфизмов некоторых генов, кодирующих функцию тромбоцитарных рецепторов – *гликопротеиновых рецепторов*: GPIa: ITGA2 (C807T [rs1126643]; T837C [rs1139484]; rs1549276); GPIIb (rs2243093; rs6065); GPIIIa: ITGB3 – T1565C (Leu33Pro) (rs5918); GPVI (rs4806636; rs1613662; rs1671207; rs17836542) и *АДФ-рецепторов*: P₂Y₁₂ (rs2046934; rs10935838). Ни по одному полиморфизму мы не выявили достоверных подтверждений зависимости степени агрегации тромбоцитов от вариантов генотипов и аллелей полиморфизмов генов ($p=ND$ во всех случаях). Определение роли генетически-опосредованных факторов в возникновении неблагоприятных кардиальных последствий предусматривает оценку индивидуальных данных генотипирования, которую мы провели среди 14 (12 – в группе с высокой агрегацией тромбоцитов; 2 – в группе с нормальной агрегацией тромбоцитов) пациентов с негативными клиническими исходами (табл. 5). Результат такого анализа показал, что вне зависимости от характера, развившегося негативного исхода, во всех случаях присутствовали полиморфизмы генов, отвечающих за функцию гликопротеиновых рецепторов GPIa (ITGA2: rs1126643 и rs1549276) и изофермента CYP2B6 (rs3211371), (табл.

5). Кроме того, у всех 4 больных с тромботическими осложнения-

Таблица 5

Сочетание полиморфизмов генов у пациентов с негативными исходами

Клинический исход	Полиморфизмы, присутствующие у всех больных	Полиморфизмы, отсутствующие в единичных случаях
Все осложнения	GPIa: ITGA2 (rs1126643)+ GPIa: ITGA2 (rs1549276) + CYP2B6 (rs3211371)	PTGS-1 (rs2282169) + P ₂ Y ₁₂ (rs10935838)
Тромбоз стента	GPIa: ITGA2 (rs1126643) + GPIa: ITGA2 (rs1549276) + CYP2B6 (rs3211371)+ PTGS-1 (rs2282169)	P ₂ Y ₁₂ (rs10935838) + GPVI (rs4806636)
Рестеноз + прогрессирующее атеросклероза	GPIa: ITGA2 (rs1126643) + GPIa: ITGA2 (rs1549276) + CYP2B6 (rs3211371)	PTGS-1 (rs2282169) + P ₂ Y ₁₂ (rs10935838)

ми и в 9 из 10 случаев рестенозов и прогрессирования атеросклероза выявлен полиморфизм гена PTGS-1 (rs2282169), ответственного за синтез ЦОГ-1; полиморфизм rs10935838 – гена, кодирующего функцию P₂Y₁₂ рецепторов, имел место у 3 из 4 пациентов с тромбозами стентов и также у 9 из 10 – с рестенозами и прогрессированием атеросклероза. Установлено наличие полиморфизма (rs4806636) гена, связанного с функцией гликопротеиновых рецепторов GPVI в 3 из 4 случаев тромбозов стентов в отличие от больных с рестенозами и прогрессированием атеросклероза, где он выявлен только у половины (5 из 10) пациентов (табл. 5). Полиморфизм CYP2C19*2 [rs4244285] определен только в 21,4% случаев всех негативных исходов, и веских оснований говорить об его взаимосвязи с развитием ишемических/тромботических событий не получено. Обобщая все выше изложенное, можно предположить, что сочетание вполне конкретных генетических полиморфизмов приводит к ослаблению фармакологического действия антиагрегантных средств и вероятности развития разного рода ос-

ложнений у этой категории пациентов. Сегодня генотипирование становится более доступным, но, все-таки очень дорогостоящим методом, и, следовательно, в аспекте клинической и экономической рациональности у пациентов высокого риска ишемических/тромботических событий, направляемых на интервенционные методы лечения, внимание надо концентрировать не на отдельно взятых полиморфизмах, а на их сочетаниях.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов со стабильными формами ИБС, направляемых на чрескожные коронарные вмешательства, тестирование функции тромбоцитов на фоне стандартных доз двойной антиагрегантной терапии (аспирин + клопидогрель) – с целью выявления больных со слабым ответом на лечение (преимущественно, клопидогрелем) или его отсутствием – следует рассматривать в качестве рутинного диагностического инструмента, способствующего существенному снижению высокого риска развития ишемических/тромботических событий в течение 1го года ($p < 0,0001$).

2. Систематизированное лабораторное сопровождение («**фенотипирование**» тромбоцитарного ответа) ЧКВ позволяет контролировать и индивидуализировать подбор оптимальных схем/режимов приема клопидогреля.

3. Удвоение (150 мг/сутки) дозы клопидогреля в сочетании с коррекцией клинических факторов способно преодолеть нарушение чувствительности к клопидогрелю в 43,2% случаев без повышения риска возникновения кровотечений.

4. Гиперреактивность тромбоцитов на фоне стандартных доз двойной антиагрегантной терапии и отсутствие эффекта при удвоении дозы клопидогреля достоверно взаимосвязаны с полимор-

физмом CYP2C19*2, снижающим активность метаболизма клопидогреля ($p = 0,009$ и $p = 0,03$ соответственно). Носительство полиморфной аллели CYP2C19*2 среди пациентов с ишемическими/тромботическими последствиями после ЧКВ определено только в 21,4% случаев. Следовательно, CYP2C19*2, скорее всего, несет ответственность за повышение тромбоцитарной активности, а не за клинические исходы.

5. Отдельно взятые полиморфизмы других генов, ответственных за фармакологические эффекты аспирина (PTGS-1, PTGS-2) и клопидогреля (CYP2C19 [CYP2C19*3, CYP2C19*4, CYP2C19*5, CYP2C19*17]; CYP2C9; CYP3A4; CYP3A5; CYP1A2, CYP2B6; ABCB1; GPIa; GPIIb; GPIIIa; GPVI; P2Y12) не ассоциируются ни с повышением функциональной активности тромбоцитов, ни с клиническими исходами после ЧКВ.

6. Стойкая гиперреактивность тромбоцитов при удвоении дозы клопидогреля до 150 мг/сутки увеличивает риск любых негативных кардиальных событий в комбинации с сочетанием полиморфизмов (GPIa [ITGA2: rs1126643, rs1549276] и CYP2B6 [rs3211371]). Дополнительное присутствие полиморфизмов (PTGS-1 [rs2282169] и гена, кодирующего функцию P2Y12 рецепторов [rs10935838]) повышает степень риска.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. С целью первичной оценки и последующего контроля фармакологической эффективности стандартных схем двойной антиагрегантной терапии, плановые чрескожные коронарные вмешательства у пациентов со стабильным течением ИБС должны проводиться только в условиях строгого лабораторного сопровождения. Несмотря на имеющиеся ограничения, в качестве скрининго-

вого (неспецифического) метода может выступать оптическая агрегометрия.

2.Эффективность и безопасность (баланс рисков возникновения ишемических/тромботических событий или кровотечений) лечения антиагрегантами достигается путем оптимизации показателей агрегации тромбоцитов в рамках терапевтического «окна». Границы терапевтического «окна» рассчитываются в абсолютных величинах как снижение степени тромбоцитарной активности не менее чем на 20% (верхняя граница) и не более чем на 50% (нижняя граница) от нижней границы нормы, установленной для каждого конкретного прибора.

3.Высокая тромбоцитарная активность на фоне приема стандартных доз аспирина и клопидогреля требует индивидуального подхода к выбору методов терапевтического воздействия. Начинать следует с коррекции клинических факторов, способных повлиять на результаты тестирования, основными из которых являются приверженность пациента к лечению и возможность межлекарственных взаимодействий; затем уже – поиск других причин. При отсутствии эффекта следующим шагом становится удвоение дозы клопидогреля (150 мг/сутки). Если и это не привело к желаемому результату, рассматривается вопрос о фармакогенетическом тестировании.

4.Определение носительства отдельно взятых полиморфизмов (в т.ч. CYP2C19*2) – бессмысленно. Оценивать надо наличие сочетаний полиморфизмов: GPIa [ITGA2: rs1126643, rs1549276] и CYP2B6 [rs3211371]. Дополнительное присутствие полиморфизмов PTGS-1 [rs2282169] и гена, кодирующего функцию P2Y12 рецепторов [rs10935838] ставит под угрозу возможность выполнения

эндоваскулярной процедуры ввиду бесперспективности достижения оптимальных показателей агрегации тромбоцитов. В такой ситуации лучше рассматривать альтернативные методы лечения. Если указанных сочетаний полиморфизмов не определено, то решение о проведении ЧКВ должно приниматься коллегиально.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Арутюнова Я.Э., Софотерова Т.И., Сандухадзе Б.Р., Климович Л.Г., Иошина В.И., Кокшенева И.В., Плющ М.Г., Мацкеплишвили С.Т. Влияние генетических факторов на метаболизм антиагрегантов у больных, перенесших чрескожные коронарные вмешательства. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН. 2012;13(3):122.

2. Арутюнова Я.Э., Мацкеплишвили С.Т., Лисица А.В., Кокшенева И.В., Воронько О.Е., Москалева А.В., Бузиашвили Ю.И. Роль генетических факторов в развитии резистентности к клопидогрелю у больных ИБС направляемых на коронарное стентирование. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева . 2012;13(6):221.

3. Арутюнова Я.Э., Сандухадзе Б.Р., Кокшенева И.В., Мацкеплишвили С.Т. Оценка эффективности антиагрегантной терапии у больных, направляемых на чрескожные коронарные вмешательства, с учетом фармакогенетики аспирина и клопидогреля. Научно-практический журнал «Кардиоваскулярная терапия и профилактика». 2013;Спецвыпуск (12):22.

4. Софотерова Т.И., Арутюнова Я.Э. Генетические предикторы эффектов ацетилсалициловой кислоты и клопидогреля у пациентов со стентированием коронарных артерий. Научно-практический журнал «Вестник РГМУ ». 2013 г. Спецвыпуск 1 (2):257-258.

5. Арутюнова Я.Э., Софотерова Т.И., Абдуллаев А.А., Борбодоева Б.М., Мацкеплишвили С.Т. Влияние фармакогенетики анти-

агрегантов на степень агрегации тромбоцитов у пациентов ИБС. Материалы конференции молодых ученых-медиков 2012: инновационные технологии в медицине 21 века». 2012:161.

6. Arutinova Y, Koksheneva I, Sofoterova T, Sandukhadze B, Matskeplishvili S . European Poor response to antiplatelet therapy is related to altered pharmacogenetics of clopidogrel and fibrinogen. Journal of Heart Failure, Volume 15 Supplement 1. 2013, p. 1130.

7. **Мацкеплишвили С.Т., Арутюнова Я.Э. Роль генетического тестирования в подборе оптимальной антитромбоцитарной терапии в лечении больных с ишемической болезнью сердца. Научно-практический журнал «Кардиоваскулярная терапия и профилактика», 2014;13(2):71-75.**

8. **Мацкеплишвили С. Т. , Прохорчук Е. Б., Арутюнова Я. Э., Кокшенева И. В., Шахназарян Л. С., Сандухадзе Б. Р., Скрыбин К. Г., Мелерзанов А. В., Бузиашвили Ю. И. Роль генетических факторов в развитии резистентности к клопидогрелю у больных, направляемых на чрескожные коронарные вмешательства. Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2013; 12(4):21-25.**

9. **Мацкеплишвили С.Т., Арутюнова Я.Э. Современные принципы антитромбоцитарной терапии в лечении больных ИБС (обзор литературы). Кардиоваскулярная терапия и профилактика, 2014;13(4):69-74.**

10. **Кокшенева И.В., Климович Л.Г., Арутюнова Я.Э., Мацкеплишвили С.Т., Самсонова Н.Н., Бузиашвили Ю.И., Скрыбин К.Г.. Прогностическая значимость факторов коагуляционного гемостаза и полиморфизма генов в развитии подострого тромбоза у больных ишемической болезнью сердца после коронарного стентирования. Научно-практический журнал**

«Тромбоз, гемостаз и реология» 2014; 2(58): 27-32.

11. Ахмедярова Л.Б., Бузиашвили Ю.И., Иошина В.И., Арутюнова Я.Э., Самсонова Н.Н., Климович Л.Г., Фокина Н.С., Плющ М.Г. Оптимизация подходов к антиагрегантной терапии у больных ИБС при стентировании коронарных артерий. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН .2011;12(6):211.

12. Климович Л.Г, Бузиашвили Ю.И.,Скрябин К.Г.,Кокшенева И.В.Мацкеплишвили С.Т., Арутюнова Я.Э.,Рогальская Е.А., Самсонова Н.Н. Роль генетических факторов и скринингового обследования гемостаза в прогнозе развития подострого тромбоза после коронарного стентирования. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН «Сердечно-сосудистые заболевания».2013; 14(6):220.

13.Бузиашвили Ю.И., Скрябин К.Г., Кокшенева И.В., Климович Л.Г., Мацкеплишвили С.Т., Арутюнова Я.Э., Рогальская Е.А.,Самсонова Н.Н. Значение генетических факторов коагуляционного гемостаза в развитии подострого тромбоза после коронарного стентирования. Бюллетень НЦССХ им. А.Н.Бакулева «Сердечно-сосудистые заболевания». 013;14(6):250.

14. Арутюнова Я.Э.,Мацкеплишвили С.Т., Кокшенева И.В.,Сандухадзе Б.Р., Борбодоева Б.М.. Влияние фармакогенетики антиагрегантов на степень агрегации тромбоцитов у пациентов с ИБС. Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН .2013;14(3):110.

15.В.И. Иошина, Ю.И. Бузиашвили, Ибрагимов,Я.Э. Арутюнова. Глава «Антитромботическая терапия» в книге под издательством Бузиашвили Ю.И. Мацкеплишвили С.Т., Иошиной В.И.. «Хроническая сердечная недостаточность у больных ишемической болезнью сердца: стратегические подходы к принятию оптимального клинического решения». НЦССХ им. А. Н. Бакулева, 2015; 84-97.