

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ
МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ И.М.СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

МЕСИТСКАЯ

Динара Фератовна

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОГЕНЕТИКА КЛОПИДОГРЕЛЯ У ПАЦИЕНТОВ С
СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

14.01.05 – Кардиология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Копылов Филипп Юрьевич

Москва - 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1. Обзор роли тромбоцитов в первичном гемостазе и атеротромбозе.....	9
1.2. Современная антитромбоцитарная терапия.....	14
1.3. Резистентность к клопидогрелю.....	24
1.4. Фармакогенетика клопидогреля.....	30
ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	41
2.1. Критерии включения и исключения.....	41
2.2. Клиническая характеристика пациентов.....	43
2.3. Исследование функции тромбоцитов.....	46
2.4. Определение резистентности к терапии клопидогрелем.....	47
2.5. Генетический анализ.....	47
2.6. Статистический анализ.....	49
ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	50
3.1. Оценка уровня АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на фоне терапии клопидогрелем.....	50
3.2. Оценка связи различных факторов с резистентностью к клопидогрелю.....	60

3.3. Оценка связи полиморфизма генов с резистентностью к терапии клопидогрелем.....	65
3.3.1. Оценка связи транспортного гена ABCB1 с резистентностью.....	65
3.3.2. Оценка связи генов системы цитохрома P-450: CYP2C9 и CYP2C19 с резистентностью.....	67
3.3.3. Оценка связи гена рецепторной чувствительности к клопидогрелю P2Y12 с резистентностью.....	72
3.3.4. Оценка связи гена тромбоксан-синтетазы с чувствительностью к терапии клопидогрелем.....	74
3.4. Оценка связи различных факторов с риском возникновения сердечно-сосудистых осложнений.....	78
ГЛАВА IV. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	99
4.1. Динамика АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на фоне терапии клопидогрелем.....	99
4.2. Клинические факторы, влияющие на резистентность к клопидогрелю.....	101
4.3. Генетические полиморфизмы и резистентность к терапии клопидогрелем.....	103
4.4. Факторы, влияющие на риск возникновения сердечно-сосудистых осложнений.....	108
ВЫВОДЫ.....	113
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	115
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	117

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Несмотря на большой прогресс в диагностике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ), они по-прежнему остаются наиболее распространенными и занимают первое место в структуре смертности и инвалидизации населения в развитых странах. По данным Федеральной службы государственной статистики Российской Федерации за период с января по декабрь 2014 года смертность от ССЗ в нашей стране составляет 49,8% от общей, причем, почти 20% из этого числа умирают в трудоспособном возрасте. В 83,8% случаев причиной смерти становится ишемическая болезнь сердца или инсульт [13].

Согласно рекомендациям РКО и Европейского общества кардиологов в стандарты лечения больных с ОКС, как один из вариантов, входит двойная антитромбоцитарная терапия аспирином и клопидогрелем. Однако у некоторого количества пациентов на фоне приема двойной антиагрегантной терапии рецидивировали случаи сердечно-сосудистых осложнений, которые обусловлены существенной вариацией в ответе на терапию. Одной из причин этого феномена может быть резистентность (высокая остаточная реактивность тромбоцитов) к антитромбоцитарным препаратам.

В настоящее время резистентность к антитромбоцитарным препаратам, ее причины, механизмы развития и возможные пути преодоления активно исследуются. Однако до сих пор нет полного согласия между исследователями относительно термина «резистентность к антиагрегантным препаратам» из-за недостаточной стандартизации методов мониторинга функции тромбоцитов и общепринятых пороговых значений, которые позволили бы классифицировать больных на отвечающих на терапию и резистентных [58].

В данном исследовании проведена попытка выявить количество резистентных пациентов методом определения динамики агрегации тромбоцитов на фоне

приема клопидогреля (с помощью оптической агрегометрии), а также оценить влияние недостаточного ответа на терапию клопидогрелем на сердечно-сосудистые исходы в течение 18 месяцев.

Актуальность работы заключается в необходимости изучения комбинированного влияния клинических факторов и полиморфизма большого количества генов на остаточную реактивность тромбоцитов на фоне терапии клопидогрелем и риск возникновения сердечно-сосудистых событий. Выявить группу риска пациентов и найти ранее не изученные факторы, влияющие на резистентность и возникновение сердечно-сосудистых событий.

Цель исследования: Изучить взаимосвязь клинических факторов и полиморфизма генов, участвующих во всасывании, метаболизме клопидогреля, кодирующих рецепторы к АДФ, и гена тромбоксан-синтетазы с агрегацией тромбоцитов и прогнозом у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Задачи исследования

1. Проанализировать частоту и выявить факторы риска возникновения сердечно-сосудистых событий у пациентов, принимающих клопидогрель в течение 18 месяцев наблюдения.
2. Определить агрегационную способность тромбоцитов методом оптической агрегометрии у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, чувствительных и резистентных к терапии клопидогрелем, до начала приема и на фоне постоянного его приема через 7-10 дней.
3. Выявить клинические факторы, связанные с остаточной реактивностью тромбоцитов на фоне терапии клопидогрелем.
4. Изучить связь полиморфизмов генов, кодирующих транспортный белок ABCB1 (3435C→T), ферменты биотрансформации CYP2C9 (Arg144Cys C430T экзон 3 и Ile359Leu A1075C экзон 7), CYP2C19 (CYP2C19*2 -

rs4244285, CYP2C19*3 - rs4986893 и CYP2C19*17 - rs12248560), рецепторов к АДФ P2Y₁₂ (T744C) и тромбоксан-синтетазы TBXAS1 (rs6962291) с агрегационными свойствами тромбоцитов.

Научная новизна

Впервые выявлены ранее не изученные факторы риска возникновения остаточной реактивности тромбоцитов на фоне терапии клопидогрелем в соответствии со временем наступления сердечно-сосудистых событий. Впервые в мировой литературе выявлена взаимосвязь полиморфизма гена тромбоксан-синтетазы с риском возникновения сердечно-сосудистых событий. Впервые установлен вклад сочетания клинических показателей и полиморфизмов генов, ассоциированных с тромбоцитарной активностью (CYP2C9 и TBXAS1), в развитие резистентности к клопидогрелю.

Практическая значимость

Для выявления лиц с высоким риском сердечно-сосудистых событий в группе пациентов с мультифокальным поражением артерий или с ОКС, страдающих сахарным диабетом 1-го или 2-го типа, представляется целесообразным проведение генетического тестирования. У данной категории пациентов при наличии полиморфизмов, ассоциированных с остаточной реактивностью тромбоцитов, назначение двойной антиагрегантной терапии аспирином и клопидогрелем может оказаться недостаточно эффективным.

Положения, выносимые на защиту

1. Сердечно-сосудистые события достоверно чаще возникают у пациентов с высокой остаточной реактивностью тромбоцитов на фоне терапии клопидогрелем.
2. Абсолютный риск возникновения сердечно-сосудистых событий у пациентов с АТ и ТТ генотипами TBXAS1 гена на 14,2 % выше по сравнению с

- пациентами с АА генотипом, которые в 100% случаев не имеют первичные конечные точки.
3. Риск развития ПКТ достоверно ниже у пациентов с «диким» типом генотипа CYP2C9 по сравнению с пациентами со сниженной активностью CYP2C9 (отношение рисков [HR] = 0,437, 95% ДИ 0,193-0,991; p=0,048).
 4. Риск развития ПКТ достоверно ниже у пациентов с отсутствием нарушений углеводного обмена по сравнению с пациентами с сахарным диабетом (отношение рисков [HR] = 0,439, 95% ДИ 0,194-0,996; p=0,049).
 5. При анализе клинических факторов в однородных группах пациентов выявлена достоверная взаимосвязь нозологической формы и статуса углеводного обмена с остаточной реактивностью тромбоцитов. Данная взаимосвязь оставалась достоверной при проведении многофакторного анализа.
 6. «Медленный» АА генотип CYP2C19*2 достоверно ассоциирован с АДФ-агрегацией через 7 дней приема клопидогреля и высоким риском возникновения резистентности к клопидогрелю. Пациенты с АА генотипом гена тромбоксан-синтетазы TBXAS1 оказались более чувствительны к терапии клопидогрелем, в то время как среди пациентов с АТ и ТТ генотипом было достоверно больше резистентных пациентов.

Внедрение результатов работы

Апробация диссертации состоялась на заседании кафедры профилактической и неотложной кардиологии ИПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова 27 марта 2015 г., протокол № 3. Диссертация рекомендована к защите.

Практические рекомендации, разработанные в диссертации, внедрены и применяются в УКБ №1 Первого МГМУ имени И.М.Сеченова и в отделении реанимации и интенсивной терапии для больных с инфарктом миокарда Городской клинической больницы № 7 г. Москвы.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены на Российском национальном конгрессе кардиологов «Интеграция знаний в кардиологии» (Москва, 3-5 октября 2012 г.), II Московском международном форуме кардиологов (Москва, 26-28 марта 2013 г.) и Юбилейном XX Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 15-19 апреля 2013 г.).

Публикации

По теме диссертационного исследования опубликовано 9 научных работ, в том числе 5 в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки Российской Федерации.

Структура и объем диссертации:

Диссертация изложена на 128 страницах машинописи, иллюстрирована 12 таблицами и 71 рисунком, состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, описание материалов и методов исследования, собственные результаты и их обсуждение), выводов, практических рекомендаций и списка литературы из 103 источников, из них 17 отечественных и 86 зарубежных.

Личное участие автора

Подтверждается предоставленным актом проверки первичного материала, журналом клинических исследований 250 пациентов, отчетом о проведении исследования. Автор самостоятельно осуществляла набор, скрининг и ведение пациентов, госпитализированных в связи с дебютом или обострением ишемической болезни сердца.

Всем пациентам автором лично дважды определялась АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов методом оптической агрегометрии (при поступлении и через 7 дней постоянного приема клопидогреля). Автором также проведены анализ, количественная оценка, систематизация и статистическая обработка полученного материала.

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Наиболее частой причиной развития ишемической болезни сердца является атеросклероз [7,8,74]. Разрыв атеросклеротической бляшки с нарушением целостности покрывающего ее эндотелия приводит к экспонированию таких субэндотелиальных структур как коллаген, фактор Виллебранда и прочие, что является пусковым механизмом образования атеротромбоза [69,76].

1.1. ОБЗОР РОЛИ ТРОМБОЦИТОВ В ПЕРВИЧНОМ ГЕМОСТАЗЕ И АТЕРОТРОМБОЗЕ

Основное патологическое звено атеротромбоза – это так называемая нестабильная бляшка (рисунок 1). В таких бляшках содержится атероматозное ядро. В процессе атерогенеза макромолекулы – альбумин, фибриноген и липопротеиды – проникают внутрь бляшки. Эти молекулы образуют большие скопления во внеклеточном матриксе и частично подвергаются эндоцитозу макрофагами. Таким образом атероматозное ядро бессосудистое, почти бесклеточное, лишено поддерживающего его коллагена, богато внеклеточными липидами, преимущественно холестерином и его эфирами, и по консистенции представляет собой мягкую «кашицу». Нестабильная бляшка, в отличие от стабильной, имеет тонкую покрывку, поэтому она подвержена разрыву. Считают, что нестабильность бляшки обусловлена воспалительной реакцией.

Нарушению целостности нестабильной бляшки способствуют повышение внутрисосудистого давления и тонуса коронарных артерий, тахикардия и повреждение питающих ее сосудов. Разрыв обычно происходит на границе бляшки и «здорового» участка сосуда [66]. Содержимое бляшки контактирует с кровью, что и приводит к активации тромбоцитов и генерации тромба (рисунок 1).

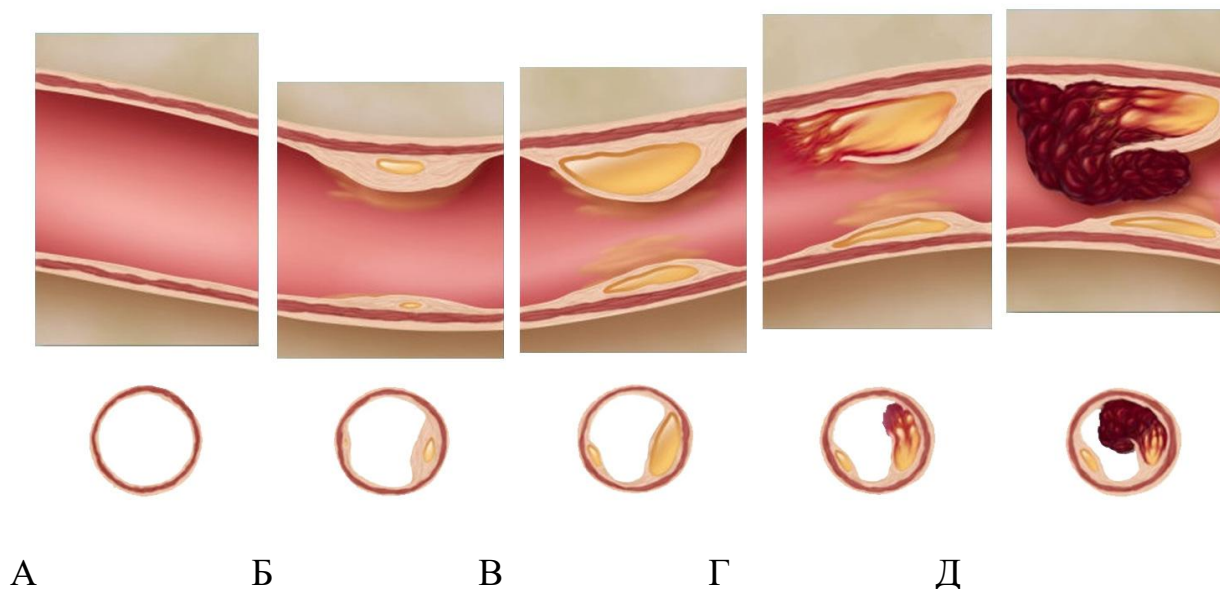


Рисунок 1. Этапы формирования атеросклеротической бляшки

А – артерия без признаков атеросклероза; Б – начальные признаки атеросклероза; В - стабильная, плоская бляшка без разрыва; Г – надрыв бляшки с неокклюзирующим тромбом; Д – эрозированная бляшка с окклюзирующим тромбом.

Формирование тромбоцитарной бляшки на месте повреждения сосудов происходит в 3 стадии:

- 1) начальная фаза, включающая адгезию тромбоцитов;
- 2) фаза активации и агрегации;
- 3) фаза стимуляции рецепторов тромбоцитов и стабилизации сгустка.

Циркулирующие тромбоциты в нормальных условиях находятся в состоянии покоя и не связываются с интактным эндотелием. Однако повреждение эндотелия вследствие травмы приводит к выходу циркулирующих тромбоцитов в субэндотелиальный внеклеточный матрикс, что и запускает процесс адгезии. В начальной фазе первичного гемостаза адгезия тромбоцитов в месте повреждения

сосуда определяется рецепторами к гликопротеиновому комплексу (ГП) Ib-IX-V, который связывается с факторами Виллебранда. Субэндотелиальный коллаген подвергнувшись повреждению сосуда привлекает тромбоциты через GPVI и GPIa/IIa рецепторы. Это взаимодействие позволяет остановить тромбоциты и активировать их прилипание. Затем тромбоциты укрепляются и активируются растворимыми агонистами. Эти тромбоцит-активирующие факторы включают аденозиндифосфат (АДФ), тромбоксан А₂, эпинефрин, серотонин, коллаген и тромбин. Тромбоциты содержат два АДФ-рецептора: P2Y₁ - способствуют началу агрегации, и P2Y₁₂ - уменьшают циклический аденозинмонофосфат (цАМФ). P2Y₁₂ рецептор сигнализирует о стимуляции поверхностной экспрессии P-селектина и секреции тромбоксана А₂. Тромбоксан А₂ продуцируется в этот момент и, как и АДФ, освобождается при прилипании тромбоцитов. Он вырабатывается из арахидоновой кислоты путем конверсии циклооксигеназой 1 (ЦОГ1) и тромбоксан-синтазой. АДФ и тромбоксан А₂ секретируются адгезированными тромбоцитами и способствуют пополнению из числа циркулирующих тромбоцитов, а также активизируют изменение формы тромбоцита и гранулярной секреции, в связи с чем активность тромбоцитов увеличивается (рисунок 2).

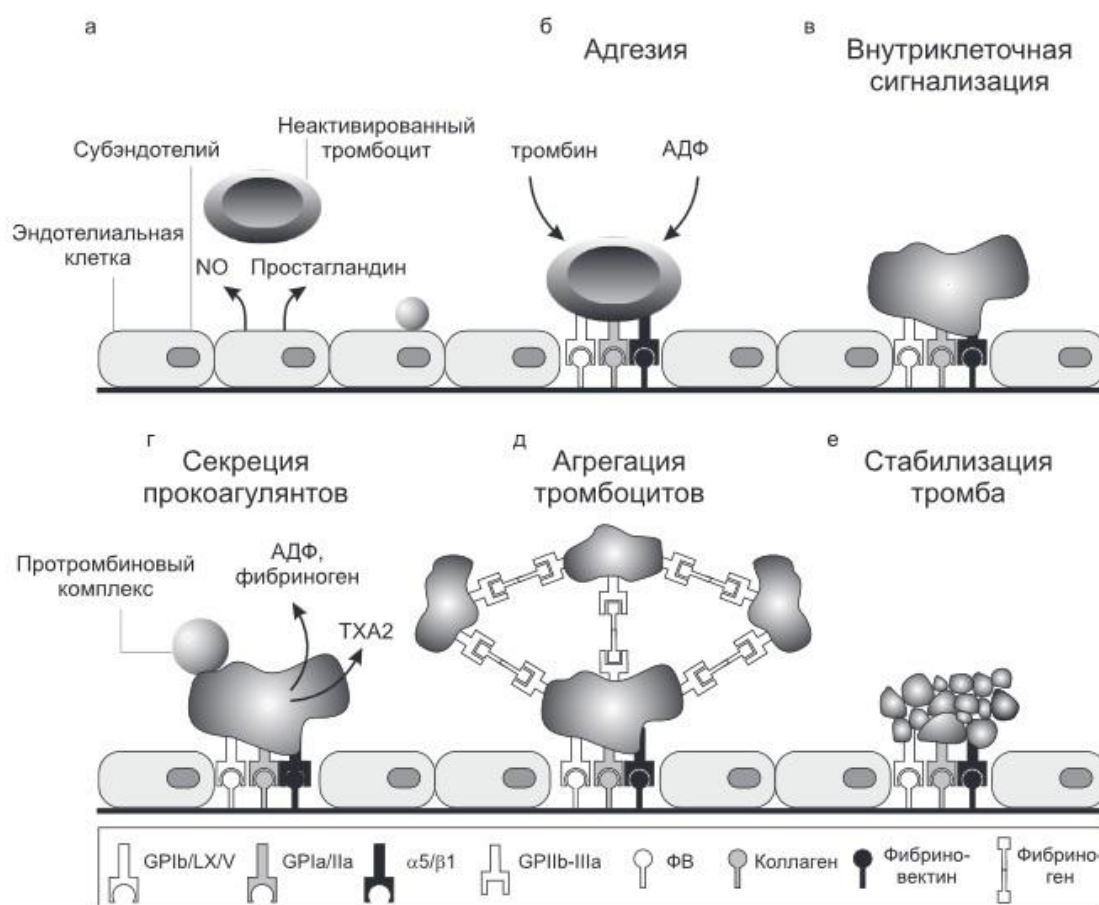


Рисунок 2. Этапы образования тромба

а – активация тромбоцита, б – адгезия, в – изменение формы тромбоцитов, г – секреция тромбоксана А₂, д – обратимая агрегация, е – необратимая агрегация, стабилизация и ретракция сгустка [27].

Тромбин, продуцируемый в месте повреждения сосуда, представлен большинством потенциальных активаторов тромбоцитов. Тромбин способствует формированию гемостатической бляшки и росту тромбоцитарного тромба. Тромбин также напрямую активизирует тромбоциты путем стимуляции протеаз-активирующих рецепторов. Тромбоциты человека представлены двумя протеаз-активирующими рецепторами для тромбина (PAR-1 и PAR-4). PAR-1 активируются небольшой концентрацией тромбина, а PAR-4 - высокой концентрацией тромбина. Тромбин содействует продукции фибрина из фибриногена, способствуя формированию и стабилизации гемостатической бляшки (рисунок 3).

1.2. СОВРЕМЕННАЯ АНТИТРОМБОЦИТАРНАЯ ТЕРАПИЯ

Механизмы действия препаратов, способных влиять на процесс атеротромбоза, реализуются через воздействие на ферменты или рецепторы, которые необходимы для синтеза, активации и функциональной активности важных медиаторов. Распространенные и исследованные пероральные антитромбоцитарные препараты воздействуют на ключевые пути активации тромбоцитов (рисунок 4).

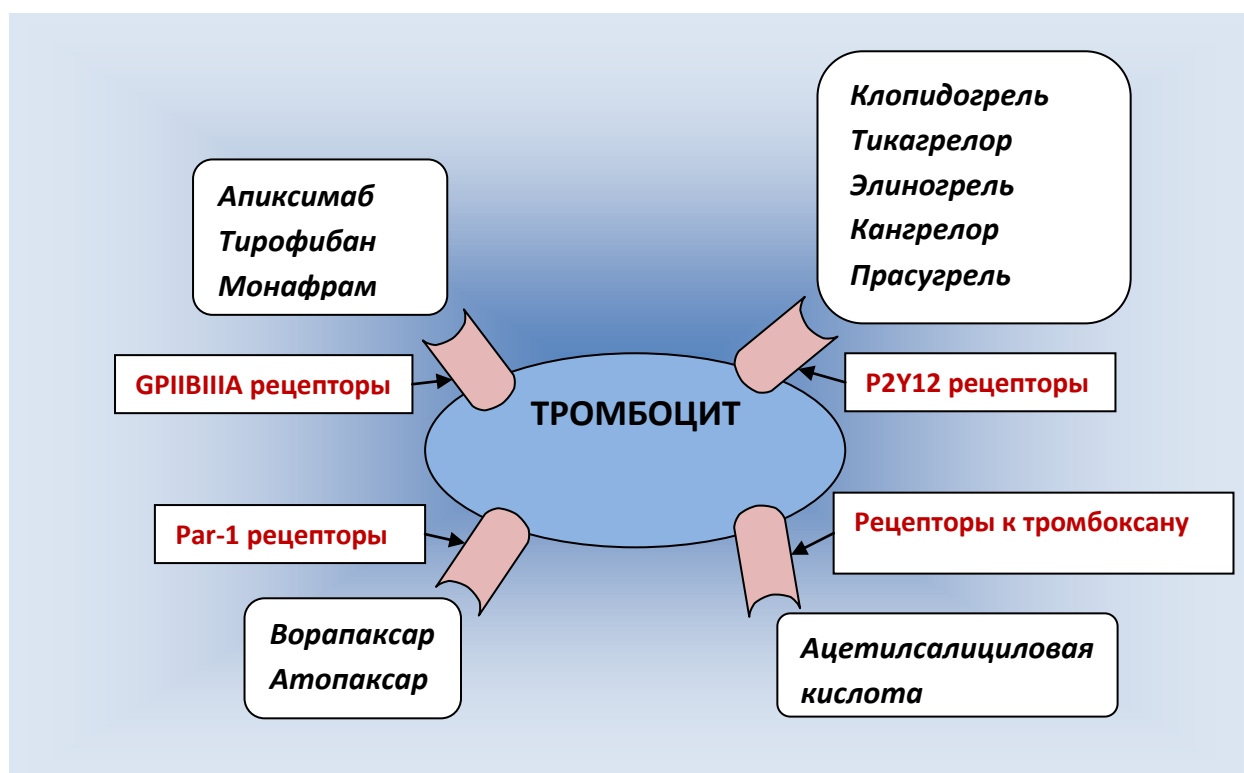


Рисунок 4. Механизмы активации тромбоцитов и действия антитромбоцитарных препаратов

1.2.1 **Аспирин** необратимо подавляет циклооксигеназу 1 путем ацетилирования серина в положении 529, таким образом ингибируя продукцию тромбоксана A2 - активатора агрегации тромбоцитов и простагландина I2. Простагландин I2 – потенциальный ингибитор агрегации тромбоцитов и сильный вазодилататор.

Клинические испытания показали эффективность аспирина в первичной и вторичной профилактике инфаркта миокарда (ИМ), инсульта и сердечно-сосудистой смерти [23,30,42,90].

Исследование ISIS-2 продемонстрировало высокую эффективность аспирина: 17187 больных были рандомизированы на 4 группы: стрептокиназа, аспирин 162,5 мг в течение 30 дней, стрептокиназа и аспирин, или ни один из препаратов. К концу пятой недели у больных, получавших только аспирин отмечалось снижение риска летального исхода на 26%, то есть назначение аспирина 1000 пациентам позволяет избежать 25 смертей и 10-15 нефатальных повторных инфарктов миокарда или инсультов. В этом же исследовании была доказана наибольшая эффективность сочетания аспирина с тромболитическим препаратом для лечения ОИМ [59].

Несколько исследований показали эффективность аспирина при остром коронарном синдроме без подъема сегмента ST (ОКСбпST) [78,81,98]. Несмотря на то, что в этих исследованиях использовались различные дозы (75 – 1300 мг/сут), разное время начала терапии, все они продемонстрировали снижение смертности и частоты развития нефатального ИМ при применении аспирина.

В исследовании RISC лечение аспирином в дозе 75 мг/сут уменьшало степень прогрессирования стенокардии на 40% в течение 3 месяцев и на 23% в течение года. Также было показано снижение риска развития ИМ и смерти больных с положительным нагрузочным тестом после эпизода ОКСбпST [100].

В 6 крупных рандомизированных исследованиях эффективности АСК для длительной терапии после ОИМ было продемонстрировано снижение смертности на фоне приема аспирина. Мета-анализ этих и многих других исследований, проведенный The Antitrombotic Trialist' Collaboration, продемонстрировал 25% снижение нарушений мозгового кровообращения, ИМ и сердечно-сосудистой смерти в группе лечения [24].

Данные об эффективности использования аспирина в первичной профилактике ИМ противоречивы. В исследование The Physician's Health Study было включено 22071 человек в возрасте от 40 до 84 лет в группу аспирина (325 мг) или плацебо. Оно досрочно прекращено в связи с выявлением 44% снижения риска ИМ в группе аспирина, без снижения сердечно-сосудистой смерти. Однако в группе аспирина достоверно был выше риск желудочно-кишечных кровотечений и недостоверно – геморрагических инсультов [90].

Исследование The British Physician Study продолжалось 6 лет и включало 5139 британских врачей, рандомизированных на группы аспирина (500 мг ежедневно) и плацебо. Не выявлено достоверного снижения сердечно-сосудистой смертности, риска ИМ в обеих группах, но отмечалось достоверное увеличение риска развития геморрагического инсульта [79]. Эти два исследования были проведены среди лиц с низким риском развития ИМ. Комбинированный анализ двух данных исследований показал 33% снижение риска развития нефатального ИМ при лечении аспирином, отсутствие влияния на смертность, и увеличение риска геморрагических осложнений [17].

У 5499 больных с высоким риском развития ИМ, включенных в исследование Thrombosis Prevention Trial, было выявлено 32% снижение риска ИМ за 6 лет наблюдения в группе аспирина в дозе 75 мг [96].

В исследование The Women's Health Study было включено 39876 женщин-добровольцев старше 49 лет, которые принимали 100 мг аспирина ежедневно. За 10-летний период наблюдения не было выявлено значительного влияния аспирина на снижение риска развития ИМ или сердечно-сосудистой смертности, кроме подгруппы женщин старше 65 лет [83].

Систематический обзор Antithrombotic Trialist' Collaboration шести клинических исследований по применению аспирина в качестве первичной профилактики, включал 95 000 пациентов. Было показано, что в группе аспирина снижение

риска серьезных смертельных событий с 0,57% до 0,51% в течение года происходило из-за уменьшения частоты развития нефатального инфаркта миокарда. В ходе анализа также выявлено незначительное увеличение частоты развития геморрагических инсультов и снижение ишемических инсультов. Отмечено увеличение на 0,03% в течение года частоты развития обширных желудочно-кишечных и экстракраниальных кровотечений [44].

Таким образом, в настоящее время доказана эффективность аспирина во вторичной профилактике сердечно-сосудистых заболеваний, однако его применение не рекомендовано для первичной профилактики в виду высокого риска развития кровотечений. Кроме того, в настоящее время аспирин практически исключен из Европейских рекомендаций по фибрилляции предсердий и, согласно отечественным рекомендациям 2011 года, может быть назначен только женщинам в возрасте менее 65 лет, при отсутствии других факторов риска инсульта и тромбозов.

1.2.2. Антагонисты рецепторов P2Y₁₂ включают тиклопидин, клопидогрель, прасугрель и тикагрелор, а также кангрелор и элиногрель. Тиклопидин, клопидогрель и прасугрель представляют три генерации тиенопиридинов, которые селективно и необратимо подавляют P2Y₁₂ рецепторы. Новые препараты обратимо подавляют рецепторы P2Y₁₂ и включают оральную форму (тикагрелор), внутривенную форму (кангрелор) и обе эти формы (элиногрель).

Клопидогрель – представитель второй генерации тиенопиридинов, который метаболизируется CYP системой в печени. Клопидогрель был первым препаратом, изученным в большой группе пациентов с ишемическим инсультом в анамнезе, первичным инфарктом миокарда и симптоматическим периферическим атеросклерозом артерий в исследовании CAPRIE (клопидогрель против аспирина у пациентов с риском повторных ишемических событий), продемонстрировавшем превосходство клопидогреля над аспирином в отношении снижения риска

повторных ишемических событий (включало 19185 пациентов, $p=0,043$) [31]. Кроме того, клопидогрель показал клиническое превосходство (20% снижение риска коронарных событий в группе клопидогреля при нестабильной стенокардии, $p<0,001$) в двойной антитромбоцитарной терапии (аспирин плюс клопидогрель) у 12562 пациентов с ОКСбпST в исследовании CURE. Исследование COMMIT включало 45852 пациента и показало снижение суммарного риска смерти, повторного ИМ и инсульта на 9% в группе клопидогреля при инфаркте миокарда ($p=0,002$) [32]. В исследовании CLARITY (клопидогрель как дополнение к реперфузионной терапии), включавшем 3491 пациента, было показано превосходство клопидогреля в отношении снижения риска сердечно-сосудистых событий ($p<0,001$) [20].

Особое значение антиагреганты приобретают при чрескожных коронарных вмешательствах (ЧКВ), которые являются одним из наиболее распространенных методов лечения ишемической болезни сердца [9,13,15]. Выполнение этих процедур сопровождается ятрогенным повреждением сосудистой стенки [19,99], что приводит к активации эндотелия, потере им тромборезистентных свойств [67] и гиперреактивности тромбоцитов [92]. Именно спецификой интервенционных технологий обосновывается клиническая необходимость более агрессивной антитромботической терапии (профилактика тромботических осложнений), причем как в ранние, так и в отдаленные сроки после вмешательства [1,40].

Исследование PCI-CURE продемонстрировало, что у пациентов с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST, направленных на чрескожные коронарные вмешательства, назначение клопидогреля перед процедурой в дополнение к аспирину с последующим долгосрочным его приемом снижает риск сердечно-сосудистых событий на 31% по сравнению с плацебо ($p=0,002$) [37]. Потенциальный эффект этой комбинации в дальнейшем был подтвержден исследованием CREDO, которое показало относительное снижение суммарного

показателя риска смерти, инфаркта миокарда и инсульта на 26,9% через 1 год наблюдения [91].

Однако у пациентов с установленным атеросклерозом сосудов, исследование CHARISMA (клопидогрель при высоком атеротромботическом риске и стабилизации ишемии, включавшем 15603 пациента) показало, что комбинация аспирина и клопидогреля была незначительно более эффективна, чем один аспирин, в уменьшении числа инфарктов миокарда, инсультов или смерти от сердечно-сосудистых осложнений ($p=0,22$), но вызывала большее количество кровотечений. При анализе в главной подгруппе популяции исследования CHARISMA пациенты с документированным перенесенным инфарктом миокарда, инсультом или симптоматическим атеросклерозом периферических артерий показали превосходство результатов двойной антитромбоцитарной терапии (снижение риска развития инфаркта миокарда, инсульта или сердечно-сосудистой смерти на 8,8% в группе клопидогреля; $p=0,01$). Бóльшее превосходство было выявлено у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда ($n=3846$), у которых было относительное снижение риска повторных сердечно-сосудистых событий на 23% ($p=0,031$). Несмотря на то, что комбинация терапии аспирином и клопидогрелем приводила к значительному превосходству во вторичной профилактике ишемических событий, у большого количества пациентов рецидивировали случаи сердечно-сосудистых осложнений, которые частично обусловлены существенной индивидуальной вариацией в ответе тромбоцитов на клопидогрель. Было высказано предположение о неэффективности рекомендованных доз клопидогреля, что повлекло за собой проведение ряда исследований с увеличением дозы до 600 и 900 мг.

In vivo было показано, что повышение нагрузочной дозы клопидогреля до 600 мг приводит к увеличению концентрации его активного метаболита и усилению антиагрегантного эффекта. Дальнейшее увеличение дозировки до 900 мг дополнительного эффекта не давало [18]. По результатам опубликованного в 2010

г. исследования CURRENT, куда было включено около 25 тыс. пациентов [38], удвоение нагрузочной дозы клопидогреля улучшало исход только для пациентов, получавших инвазивное лечение (13%-е уменьшение числа сердечно-сосудистых событий). Не было значительной разницы в первичной конечной точке (комбинированная сердечно-сосудистая смерть, инфаркт миокарда или инсульт) на протяжении 30 дней между пациентами с острым коронарным синдромом, получающими двойную дозу или стандартную дозу клопидогреля. Однако у пациентов, подвергшихся ЧКВ, двойная доза клопидогреля была ассоциирована со значительным (на 42%) снижением частоты тромбоза стентов по сравнению со стандартными дозами. Описанные положительные эффекты, тем не менее, нивелировались 25%-м относительным увеличением числа геморрагических осложнений. Таким образом, нагрузочная доза клопидогреля 600 мг может быть показана только при проведении ЧКВ, и ее назначение сопровождается повышенным риском кровотечения.

Тиенопиридин 3-го поколения прасугрель, а также прямые обратимые антагонисты рецепторов P2Y₁₂ – тикагрелор, кангрелор и элиногрель превосходят клопидогрель по антитромбоцитарной активности и характеризуются более ранним началом эффекта и (за исключением прасугреля) быстрым его прекращением после отмены, предположительным отсутствием генетической резистентности [34,69,82]. В последние годы проведен ряд крупных исследований этих препаратов с участием десятков тысяч пациентов, в которых они сравнивались с клопидогрелем. Прасугрель (исследование TRITON TIMI 38 [97]) и тикагрелор (исследование PLATO [97]) продемонстрировали преимущество над клопидогрелем в уменьшении числа сердечно-сосудистых событий и тромбозов стентов за период наблюдения, однако этот эффект сопровождался увеличением числа кровотечений. Более благоприятное соотношение выгоды и риска в этом плане продемонстрировал тикагрелор. Кангрелор, несмотря на выгодные фармакологические свойства, в двух

исследованиях 3 фазы (CHAMPION-PCI и CHAMPION-PLATFORM) оказался хуже клопидогреля, и исследования были досрочно закрыты. Элиногрель – единственный из существующих антитромбоцитарных препаратов, который может вводиться как внутривенно, так и перорально. Это позволяет быстро добиться выраженного подавления агрегации в начале лечения (в/в введение) с последующим переходом на пероральный прием после стабилизации состояния пациента. В настоящее время препарат изучается в клинических исследованиях 2-ой фазы [88].

1.2.3 Блокаторы гликопротеиновых П_б/Ш_а рецепторов тромбоцитов

Препараты этого класса блокируют конечный этап процесса агрегации тромбоцитов – связывание активированных тромбоцитов между собой фибриногеном, который прикрепляется к тромбоцитарным рецепторам гликопротеина (ГП) П_б/Ш_а [6]. С появлением большого числа мощных антитромбоцитарных препаратов, действующих на более ранних этапах агрегации тромбоцитов, интерес к блокаторам рецепторов П_б/Ш_а в последние годы несколько снизился.

В РФ зарегистрированы два представителя этой группы – абциксимаб, эптифибатид и отечественный препарат монафрам, которые вводятся внутривенно, причем в связи с коротким периодом полувыведения, терапевтическая концентрация достигается путем постоянной инфузии.

По результатам объединенного анализа плацебо-контролируемых исследований (2002 г.), блокаторы рецепторов ГП П_б/Ш_а продемонстрировали 8%-е относительное снижение риска при нестабильной стенокардии и инфаркте миокарда без подъема сегмента ST (НС/ИМ БП ST). Целесообразность же добавления блокаторов ГП П_б/Ш_а рецепторов тромбоцитов к клопидогрелю при НС/ИМБП ST оказалась менее очевидной. По результатам нескольких крупных многоцентровых исследований, в которые было включено суммарно более 30

тысяч пациентов [77], изучаемая комбинация имела преимущество над клопидогрелем лишь у пациентов с НС/ИМБП ST, которым выполнялась коронарная реваскуляризация (10-20 %-е снижение относительного риска), наиболее значимое при наличии повышения уровня сердечных тропонинов.

У пациентов с НС/ИМБП ST высокого риска (шкалы TIMI, GRACE или PURSUIT) используется тройная антитромбоцитарная терапия: аспирин, клопидогрел, блокатор ГП IIb/IIIa рецепторов тромбоцитов. При выборе между блокатором ГП IIb/IIIa и клопидогрелем последнему отдают предпочтение при высоком риске кровотечения [5].

1.2.4 **Дипиридамо**л – производное пиримидопиримидина с антитромботическими и вазодилатирующими свойствами. Известно два механизма антитромбоцитарного действия дипиридамола: первый связан с повышением содержания в тромбоцитах ц-АМФ за счет ингибирования фосфодиэстеразы — фермента, превращающего ц-АМФ в 51-АМФ, второй — с блокадой захвата аденозина и стимуляцией аденилатциклазного механизма тромбоцитов. Результаты исследований ESPS-2, ESPRIT показали эффективность комбинации дипиридамола (форма с модифицированным освобождением) и малых доз аспирина у больных с ишемической болезнью мозга. У коронарных больных с развитой коллатеральной сетью препарат может вызывать синдром обкрадывания, обусловленный его коронародилатирующим действием. Исследований, показавших эффективность дипиридамола у больных ИБС, нет. Добавление дипиридамола к аспирину не привело к дополнительному снижению серьезных сосудистых осложнений в обзоре 25 исследований 10 тыс. пациентов с высоким риском. В настоящее время этот препарат не применяется в практической кардиологии и отсутствует в рекомендациях по острому коронарному синдрому.

1.2.5 В настоящее время разрабатываются новые антитромбоцитарные препараты. Селективное подавление главного **протеаз-активирующего**

рецептора – 1 для тромбина, ведущего активатора тромбоцитов, представляет многообещающую новую стратегию для уменьшения ишемических событий без увеличения риска кровотечений. Два **антагониста рецепторов PAR-1** тестируются в ходе клинических испытаний, ворапаксар (SCH 530348) и атопаксар (E5555).

Полученные результаты привели к пересмотру Европейских рекомендаций 2012 года по антитромбоцитарной терапии. Так в рекомендациях по ведению пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST указано на предпочтение назначения комбинации аспирина с прасугрелем или аспирина с тикагрелором над комбинацией аспирина с клопидогрелем. Клопидогрель следует использовать только в тех случаях, когда больные по тем или иным причинам не могут принимать более мощные ингибиторы тромбоцитарных рецепторов P2Y₁₂ – тикагрелор и прасугрель. При непереносимости аспирина, клопидогрель может быть его альтернативой для длительного приема.

Однако применение прасугреля имеет ряд существенных ограничений: его не рекомендуют использовать у больных старше 75 лет, а также при массе тела менее 60 кг и наличии в анамнезе указаний на перенесенный инсульт или преходящее нарушение мозгового кровообращения. В настоящее время этот препарат не зарегистрирован в Российской Федерации.

Что касается тикагрелора, то выявленные в исследовании PLATO (Study of Platelet Inhibition and Patients Outcomes) статистически значимые побочные эффекты в виде одышки (13,8% по сравнению с 7,8%), эпизодов асистолии до 3 секунд и более (5,8% против 3,6 %) и повышения креатинина и мочевой кислоты требуют дальнейших, более длительных исследований.

Таким образом, разработанные в последние годы современные антитромботические препараты превосходят своих предшественников по эффективности. В то же время, основной проблемой усиления

анти тромботической терапии является повышение риска геморрагических осложнений, а также наличие резистентности у части пациентов. Будущие исследования в данной области будут направлены на разработку более эффективных анти тромботических препаратов с наименьшим риском кровотечений и лишенных феномена резистентности.

1.3. РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К КЛОПИДОГРЕЛЮ

Термин «резистентность» или остаточная реактивность тромбоцитов к лекарственным препаратам применяется в случаях, когда препарат не оказывает адекватного воздействия на фармакологическую мишень. Это может быть обусловлено либо тем, что он не может ее достичь (снижение биодоступности, инактивация *in vivo*, взаимодействие с другими препаратами), либо изменениями самой мишени [54].

Основываясь на результатах ряда исследований, термин «резистентность» стали подразделять на две группы: клиническую и лабораторную. Клиническая резистентность диагностируется, когда сердечно-сосудистые события происходят на фоне терапии анти тромботическими препаратами. Лабораторная резистентность – это неадекватное блокирование реактивности тромбоцитов, в частности определяемое АДФ агрегацией на фоне приема клопидогреля. Необходимо отметить, что эти два определения не равноценны: лабораторная резистентность не всегда сопровождается развитием сердечно-сосудистых событий, а клиническая – резистентностью к анти тромботическим препаратам, диагностированной лабораторно [25].

В настоящее время в мировой практике широко используются несколько методов агрегометрии, из которых в Российской Федерации доступны световая трансмиссионная агрегометрия, импедансная агрегометрия (прибор Multiplate) и метод, основанный на оптической детекции агглютинации тромбоцитов (прибор VerifyNow) [16]. Среди спектра диагностических тестов для изучения

функции тромбоцитов часто используется оптическая (световая трансмиссионная) агрегометрия. Несмотря на широкое применение, данный метод обладает некоторыми лимитирующими факторами, в число которых входят трудоемкость техники, необходимость наличия лаборатории, невозможность проведения исследования непосредственно у постели больного. Кроме того, различия в методологических подходах, оснащенности и профильности лабораторий представляют трудность для интерпретации результатов разных клиник [72].

В исследовании Gurbel и соавт. изучались показатели агрегации тромбоцитов на фоне приема клопидогреля в течение месяца у 96 больных, перенесших коронарную ангиопластику. Было установлено, что резистентность (в данном исследовании - снижение агрегации тромбоцитов меньше чем на 10% от исходной) к клопидогрелю имеет место у 64% пациентов через 2 часа, у 31% - через сутки и у 15% - через месяц после начала терапии. При этом клопидогрель сначала применяли в нагрузочной дозе 300 мг/сут, затем в дозе 75 мг/сут [51,54]. В аналогичном исследовании Muller и соавт. получены сходные данные: 11% пациентов были полностью резистентны к клопидогрелю (снижение агрегации менее чем на 10%) и 26% пациентов были частично резистентны к клопидогрелю (агрегация тромбоцитов снижалась менее чем на 30%) [43,75].

Matetzky и соавт. использовали в качестве индуктора агрегации АДФ 5 мкМоль и эпинефрин 10 мкМоль. В зависимости от уровня агрегации больных разделили на 4 квартиля. В первом квартиле (высокий уровень агрегации) отмечалось наибольшее число неблагоприятных исходов в течение 1 месяца [33].

В исследовании агрегации тромбоцитов Angiollilo показал, что при использовании более высоких нагрузочных доз процент резистентных больных к клопидогрелю снижался [21,22,57].

В одном из последних исследований Cuisset с соавт. наблюдали 106 больных ОКС, которые получали комбинированную терапию аспирином и клопидогрелем.

Эффективность клопидогреля определяли по уровню АДФ-индуцированной агрегации. По уровню агрегации больных разделили на 4 квартиля, в первом квартиле (с высоким ответом на индуктор), отмечалось максимальное количество неблагоприятных клинических исходов [36].

Подобное «отсутствие ответа» на терапию или резистентность встречается от 5 до 45% случаев (таблица 1) и может быть обусловлено полом, возрастом, характером питания, низкой комплаентностью, возможным взаимодействием между лекарственными препаратами, включая систему цитохрома P450 (прием НПВС и ингибиторов протонной помпы), ожирением, сахарным диабетом, инсулинорезистентностью, курением, уровнем СРБ и генетическим полиморфизмом. Условно все факторы, влияющие на развитие «резистентности» к клопидогрелю (рисунок 5), можно разделить на клинические, клеточные и генетические [4].

Таблица 1

Исследования по резистентности тромбоцитов к клопидогрелю

Исследование и доза	Метод исследования	% резистентности
Gurbel P. et al. 300 мг	Оптическая агрегометрия	15-31%
Muller I. et al. 600 мг	Оптическая агрегометрия	5-11%
Lerantalo A. et al. дозировка неизвестна	Оптическая агрегометрия	40%
Matetzky S. et al. 300 мг	Оптическая агрегометрия	25%
Angiolillo D. et al. 300 мг	Оптическая агрегометрия	44%
Serebruany V. et al. 300 мг	Оптическая агрегометрия	4,2-4,8%
Samara W. et al. 300 мг	Оптическая агрегометрия	12,9%
Grossman et al. 300 мг	Оптическая агрегометрия	17,5%
Lev E. et al. дозировка неизвестна	Оптическая агрегометрия	24%
Cuisset et al. 75 мг	Оптическая агрегометрия	25%
Айнетдинова Д.Х. 300 мг	Оптическая агрегометрия	18,2-24,1%
Фролова Н.С. 600 мг	Оптическая агрегометрия	28%
Ахмедярова Л.Б. 75 мг	Оптическая агрегометрия	32,5%

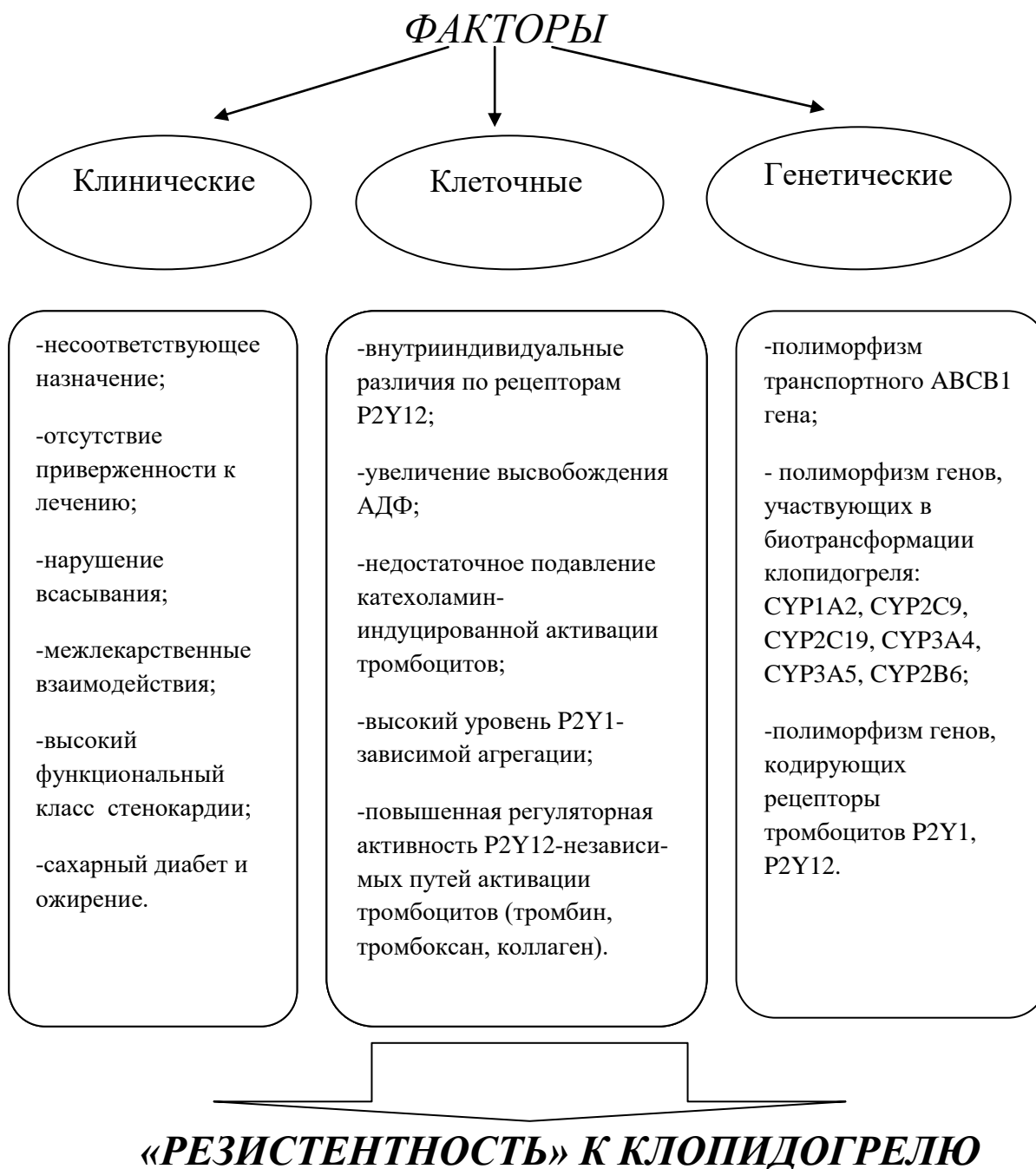


Рисунок 5. Причины резистентности к клопидогрелю

Клинические факторы, приводящие к несостоятельности терапии клопидогрелем, могут быть следствием несоответствующего (доза, показания) назначения врачом или некомплаентности (отсутствие приверженности к терапии) пациента [4]. Кроме того, могут быть различия в абсорбции, что связано

с дозировкой препарата и возможными межлекарственными взаимодействиями [95].

В исследовании Soffer D. с соавторами в 2003 г. выявлена взаимосвязь более тяжелого функционального класса стенокардии с более низкой степенью ингибирования агрегации тромбоцитов клопидогрелем [14].

Ряд исследований указывают на возможность взаимодействия между аторвастатином и клопидогрелем [64], однако в исследованиях CREDO, PRONTO и INTERACTION эти данные не подтвердились [85,86].

При попытке преодоления резистентности к антиагрегантам в некоторых исследованиях в качестве нагрузочной дозы использовалось 600 и 900 мг клопидогреля. Так в исследовании ARMIDA-2 и ALBION было выявлено положительное влияние 600 мг клопидогреля (по сравнению с 300 мг) при подготовке к коронарной ангиопластике на снижение уровня инфарктов миокарда, развивающихся непосредственно во время проведения процедуры [86]. В то же время исследовательская группа PRACTICAL не выявила влияния 600 мг клопидогреля на прогноз сердечно-сосудистых событий при доказанном дополнительном блокирующем влиянии на активность тромбоцитов, у пациентов с ИМбпST [103].

Клеточные механизмы резистентности к клопидогрелю могут быть связаны с индивидуальными различиями по рецепторам P2Y₁₂. Количество этих рецепторов варьирует в зависимости от уровня АДФ или активации тромбоцитов через альтернативные пути. Определенное значение в устойчивости к клопидогрелю отводится реактивности тромбоцитов, опосредованной TX-A₂- и АДФ-путями. Достаточный стимул для их агрегации (например, тромбин) на самом деле способен преодолеть блокаду этих путей. Кроме того, тромбоциты человека обладают различным ответом на агонисты типа АДФ, адреналин и др. [102]. Точно также тромбоциты демонстрируют меняющуюся чувствительность к

препарат-зависимому ингибированию [84]. Два небольших исследования, посвященных использованию нагрузочной дозы клопидогреля в 300 мг непосредственно после стентирования, показали высокую вариабельность степени чувствительности среди обследованных лиц [52]. Также была изучена длительность воздействия клопидогреля на ингибирование активности тромбоцитов, в результате было показано, что антитромботический эффект клопидогреля поддерживается на протяжении 5 дней, однако имеется существенный гетерогенный ответ на препарат [53].

В последнее время все больше внимания уделяется исследованию **генетических факторов**, влияющих на резистентность к терапии клопидогрелем, и их значение в развитии сердечно-сосудистых осложнений на фоне приема антиагрегантных препаратов.

1.4. ФАРМАКОГЕНЕТИКА КЛОПИДОГРЕЛЯ

Для объяснения проблемы недостаточного антиагрегантного эффекта клопидогреля предложено несколько гипотез. Одна из них – полиморфизм гена, кодирующего рецепторы к АДФ (рисунок 6), которые являются молекулами-мишенями клопидогреля. На поверхности тромбоцитов существует два вида рецепторов к АДФ: P2Y₁ и P2Y₁₂. Активация рецептора P2Y₁, сопряженного с G-белками, приводит к повышению внутриклеточного содержания кальция и «готовит» тромбоцит к агрегации, а активация рецептора P2Y₁₂ вызывает угнетение синтеза аденилатциклазы, что непосредственно вызывает агрегацию. Клопидогрель избирательно блокирует P2Y₁₂-рецепторы. При генетическом исследовании 100 добровольцев было выявлено, что существует два аллельных варианта гена, кодирующего рецепторы P2Y₁₂: H1 (G) и H2 (T). У людей с генотипом TT или GT уровень агрегации тромбоцитов в ответ на стимуляцию АДФ был в два раза выше, чем у носителей генотипа GG. Кроме того, предполагают определенную роль аллельного варианта T в развитии атеросклероза. При исследовании 200 пациентов с атеросклеротическим

поражением артерий нижних конечностей 30% оказались носителями аллеля T. В группе контроля, аналогичной по факторам риска, этот аллельный вариант был обнаружен только у 20%. Конечно, для решения вопроса, принадлежат ли пациенты с аллелем T к группе высокого риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, необходимы дальнейшие исследования. Однако, определение у пациента аллельного варианта T может быть полезным для выработки тактики лечения и выбора оптимального антиагреганта [101].

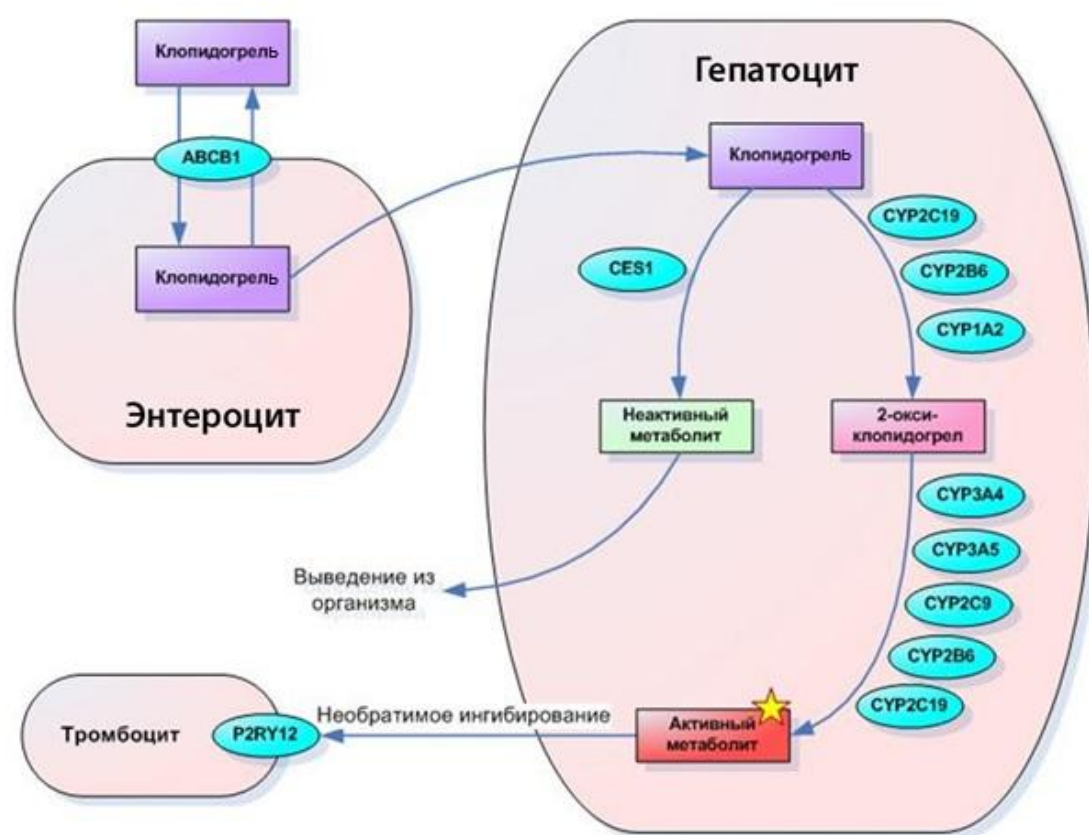


Рисунок 6. Схема метаболизма клопидогреля по www.PharmGKB.com с модификацией

Таблица 2

Изученные гены, участвующие в метаболизме и рецепторной чувствительности к клопидогрелю

Транспортный ген	ABCB1
Гены биотрансформации	CES1 – инактивация клопидогреля CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5 – система цитохромов
Гены, кодирующие «молекулы-мишени» тромбоцитов (рецепторы, ферменты, ионные каналы)	P2Y1, P2Y12 ITGA2, ITGB3

Проблема резистентности к клопидогрелю имеет не только теоретическое значение. Matetzky и соавт. исследовали корреляцию между антиагрегантной эффективностью клопидогреля и прогнозом у 60 пациентов, перенесших ангиопластику и стентирование коронарных артерий при инфаркте миокарда. Все больные были разбиты на четыре группы по уровню снижения агрегации тромбоцитов по сравнению с исходной. При этом 25% всех пациентов с инфарктом миокарда были резистентны к клопидогрелю. Через 6 месяцев в группе пациентов, резистентных к клопидогрелю, осложнения (сердечная смерть, инфаркт миокарда, рестеноз) наблюдали у 40%, в других группах – только у 6,7%. Таким образом, недостаточный антиагрегантный эффект клопидогреля может рассматриваться как предиктор сердечно-сосудистых осложнений. В этом же исследовании была выявлена интересная закономерность: среди пациентов с резистентностью к клопидогрелю было очень мало курильщиков. Их количество увеличивалось от группы к группе по мере повышения эффективности препарата. Авторы выдвинули гипотезу, объясняющую это явление. Как известно, клопидогрель является пролекарством, он метаболизируется в печени изоферментами цитохрома P-450 3A (CYP3A) и частично изоферментом 1A2 (CYP1A2) в активный метаболит. CYP1A2 индуцируется под влиянием полициклических ароматических углеводов табачного дыма (таблица 2).

Таким образом, курение ведет к ускорению превращения клопидогреля в активный метаболит [68].

Зависимость эффекта клопидогреля от активности изоферментов CYP3A (CYP3A4, CYP3A5 и т.д.) изучали во многих исследованиях. Lau и соавт. показали, что ингибирование изофермента CYP3A4 под действием других лекарственных средств, влияет на способность клопидогреля подавлять агрегацию тромбоцитов. Так эритромицин, являющийся ингибитором CYP3A4, снижал антиагрегантную эффективность клопидогреля, а рифампицин, индуцируя CYP3A4, наоборот, повышал.

В исследовании Angiolillo и соавт. изучалось влияние полиморфизма гена CYP3A4 на антиагрегантную эффективность клопидогреля. Было установлено, что у носителей варианта 1ПРОТИВ10+12GA уровень агрегации тромбоцитов и активации гликопротеиновых рецепторов IIb-IIIa был в 2,5 раза ниже, чем у остальных пациентов на фоне терапии клопидогрелем. При этом повышение дозы препарата позволяло устранить различия в антиагрегантном действии клопидогреля [35].

Как указывалось выше, клопидогрель метаболизируется изоферментами CYP3A до активного метаболита, при этом у взрослых присутствует только два изофермента этого подсемейства: CYP3A4 и CYP3A5. Считают, что основным изоферментом является CYP3A4. Однако изофермент CYP3A5, согласно Wrighton и соавт. обеспечивает до 50% активности всех цитохромов примерно у трети белого населения США и половины афроамериканцев. Ген CYP3A5 полиморфен: выявлены два аллельных варианта - CYP3A5*1 и CYP3A5*3. Лица с генотипами CYP3A5*1/*1 и CYP3A5*1/*3 экспрессируют изофермент CYP3A5, а лица с генотипом CYP3A5*3/*3 не экспрессируют таковой.

В исследовании D. Jack и соавт. принимали участие здоровые добровольцы, половина из которых экспрессировала изофермент CYP3A5 (пациенты с

генотипом CYP3A5*1/*1 и CYP3A5*1/*3), а другая половина – не экспрессировала (пациенты с генотипом CYP3A5*3/*3). Все исследуемые получали сначала только клопидогрель, а затем клопидогрель и интраконазол, который ингибирует CYP3A4. При исследовании агрегации тромбоцитов было установлено, что на фоне приема клопидогреля уровень агрегации в обеих группах был одинаков. Однако при приеме сочетания клопидогреля и интраконазола снижение агрегации было существенно выше в группе лиц, экспрессирующих CYP3A5 (27,7% по сравнению с 2,5% у неэкспрессирующих CYP3A5 в первые сутки приема и 33,5% по сравнению с 17,8% - через неделю). Кроме того, изучали исходы стентирования коронарных артерий у 348 пациентов с ИБС в зависимости от экспрессии ими CYP3A5. Выяснилось, что за 6 месяцев наблюдения осложнения (сердечная смерть, инфаркт миокарда и экстренная реваскуляризация) развиваются чаще в группе пациентов, не экспрессирующих изофермент CYP3A5 (14 на 193 больных против 3 на 155 больных экспрессировавших CYP3A5). Авторы объяснили этот факт тем, что лица, экспрессирующие CYP3A5, «защищены» от взаимодействия между клопидогрелем и ингибиторами CYP3A4, так как у них CYP3A5 «берет на себя» превращение клопидогреля в активный метаболит в условиях ингибирования CYP3A4 [60]. Именно этот феномен, возможно, может объяснить тот факт, что при изучении взаимодействия клопидогреля с аторвастатином были получены такие противоречивые результаты. Таким образом, определение генотипа по CYP3A5 может помочь в подборе оптимального режима дозирования клопидогреля.

Помимо генотипирования, имеется возможность непосредственного измерения активности изоферментов цитохрома P-450 – дыхательный тест с эритромицином. Для этого внутривенно вводят эритромицин, молекулы которого помечены изотопом углерода. Эритромицин метаболизируется CYP3A4, в процессе чего образуется CO₂, содержащий меченые атомы углерода. Затем

измеряют количество этого CO₂ в выдыхаемом воздухе. Известно, что концентрация меченого CO₂ прямо пропорциональна активности CYP3A4. Lau и соавт. исследовали активность изофермента CYP3A4 и уровень агрегации тромбоцитов у 70 пациентов, получавших клопидогрель. Выявлена обратная зависимость: чем выше активность CYP3A4, тем меньше уровень агрегации, что обусловлено различием в образовании активного метаболита клопидогреля под влиянием CYP3A4.

В нескольких исследованиях по резистентности к клопидогрелю изучалось влияние полиморфизма CYP2C9 гена на ответ к антиагрегантной терапии. P. Gladding и соавт. показали, что пациенты с *2 и *3 полиморфизмом гена CYP2C9 ассоциированы с плохим ответом на терапию клопидогрелем независимо от полученной дозы (600 мг, 150 мг и 75 мг), $p=0,04$. Так в данном исследовании, АДФ-агрегация через 7 дней после приема 600 мг клопидогреля у пациентов с CYP2C9*1*3 оказалась более высокой, по сравнению с пациентами с диким типом CYP2C9*1*1 (9%, 8% к 11% и 31%, 0% к 96%, соответственно, $p=0.045$) [49].

Схожие результаты были получены H. White и соавт.: пациенты с CYP2C9 *3 аллелем с потерей функции оказались резистентными к клопидогрелю на фоне приема его в дозе 150 мг ежедневно по сравнению с пациентами CYP2C9 *1 дикого типа (59%, 11% к 95%, $p=0.01$) [80].

Одним из наиболее изученных генов, участвующих в метаболизме клопидогреля, является цитохром P-450 – CYP2C19. CYP2C19*2 аллель и *3 - *5 аллели ассоциированы со снижением метаболической активности и обозначены как аллели с потерей функции. В исследовании 2485 пациентов, подвергшихся чрескожному коронарному вмешательству после нагрузочной дозы 600 мг, было выявлено увеличение процента тромбоза стентов у пациентов с A аллелем CYP2C19*2 (27%) по сравнению с пациентами с диким типом GG CYP2C19*1(73%) [87]. В исследование TRITON-TIMI 38 было включено 1477

пациентов с острым коронарным синдромом, которым назначалась нагрузочная доза 300 мг клопидогреля, с последующим переходом на 75 мг в сутки. У пациентов с А аллелем CYP2C19 с потерей функции отмечалось трехкратное повышение риска тромбоза стентов [70].

В мета-анализе, проведенном Mega J et al., изучалось влияние увеличенной дозы клопидогреля на агрегацию тромбоцитов у носителей аллелей с утратой функции. Было показано, что среди пациентов со стабильной ИБС увеличение дозы клопидогреля до 225 мг в сутки у гетерозигот по генетическому варианту AG CYP2C19*2 позволяет достигнуть уровня реактивности тромбоцитов, которые наблюдаются при стандартной дозе 75 мг у носителей GG. Однако у AA гомозигот по CYP2C19*2 увеличение дозы до 300 мг в сутки не приводит к сопоставимой степени ингибирования тромбоцитов [71].

С учетом полученных данных многочисленных исследований по резистентности к клопидогрелю в официальную инструкцию внесено следующее: «применение с осторожностью у пациентов с низкой активностью изофермента CYP2C19».

В настоящее время разработаны тест-системы для определения активности изофермента CYP2C19, но они не рекомендованы для рутинного применения, однако, в соответствии с рекомендациями Консорциума по фармакогеномике клопидогреля (2011), фармакогенетическое тестирование по определению аллелей гена CYP2C19 может быть показано в следующих случаях:

- чрескожные вмешательства на незащищенном стволе левой коронарной артерии;
- наличие бифуркационного стеноза ствола левой коронарной артерии;
- стеноз единственной проходимой коронарной артерии;
- наличие в анамнезе тромбоза стента/стентов;

- наличие у пациента сопутствующих состояний, повышающих риск тромбоза стентов: сахарного диабета и хронической почечной недостаточности.

АВСВ1 – ген, кодирующий гликопротеин Р, который является транспортным белком и находится в различных тканях организма, включая тонкий и толстый кишечник. Его функцией является возвращение препаратов в просвет кишечника, тем самым ограничивая их биодоступность. Это один из белков-транспортёров семейства АВСВ. Генетические вариации гена, кодирующего гликопротеин Р (АВСВ1) хорошо изучена, однако функциональная роль генотипа ясна не до конца. Гликопротеин Р вовлечен в процесс абсорбции клопидогреля. Была изучена роль трех мононуклеотидных замен (СС, СТ и ТТ) в кинетике клопидогреля. Более низкие концентрации препарата после однократной нагрузочной дозы 300 или 600 мг были отмечены при наличии у больного гомозиготного варианта АВСВ1 ТТ. Интересно, что доза 900 мг помогла преодолеть это различие [56]. Результаты исследования FAST-MI показали, что пациенты с двумя вариантами Т аллеля АВСВ1 резистентны к клопидогрелю и находятся в группе повышенного риска [48].

Несмотря на то, что роль тромбоксана А2 в агрегации тромбоцитов была описана довольно давно, начиная с 2005 года появились исследования, которые доказали связь между уровнем тромбоксана А2 и развитием сердечно-сосудистых заболеваний [41]. Известно, что тромбоксан А2 – это потенциальный активатор тромбоцитов и вазоконстриктор. Тромбоксан-синтетаза является ферментом системы цитохрома Р-450 и увеличивает образование тромбоксана А2 из простагландинов Н2 (Рисунок 7).

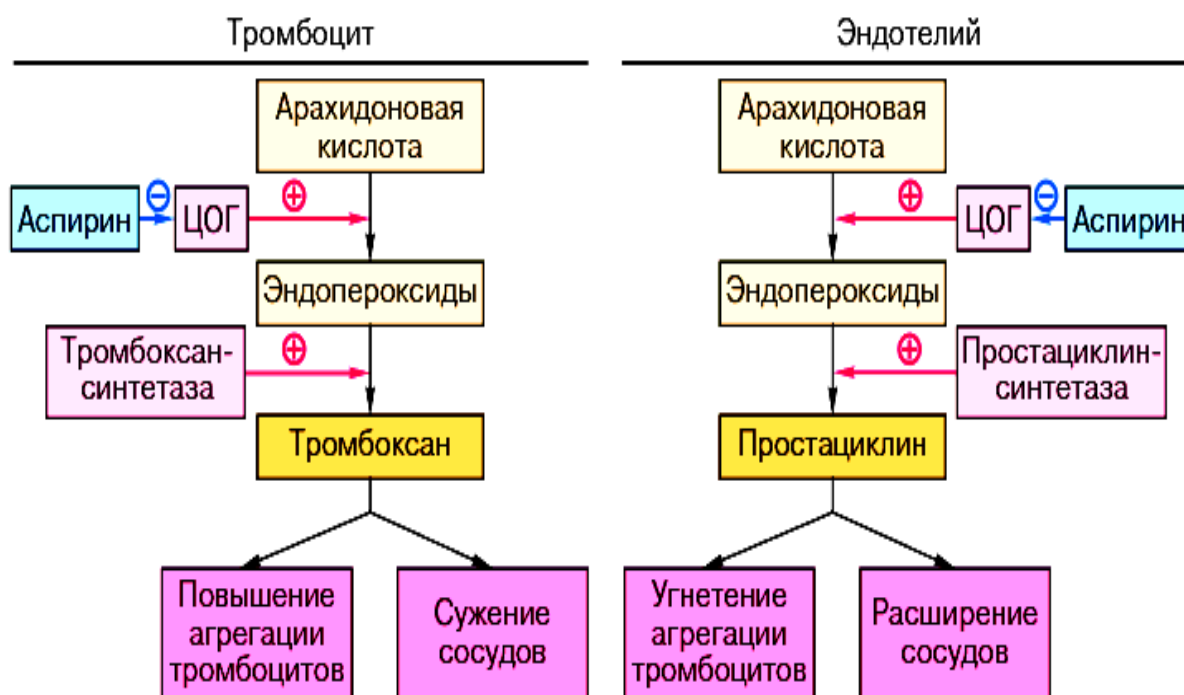


Рисунок 7 . Пути метаболизма арахидоновой кислоты в тромбоцитах и эндотелиальных клетках [3]

С 2009 года была доказана связь полиморфизма генов тромбоксан-синтетазы и рецепторов к тромбоксану А₂ с развитием большого количества заболеваний, включая атеросклероз, инфаркт миокарда, инсульт и бронхиальную астму [29].

В 2010 году Zhonghua и соавторы доказали влияние полиморфизма гена тромбоксан-синтетазы на развитие инфаркта миокарда. В это исследование было включено 318 пациентов с инфарктом миокарда и 232 здоровых добровольца. Всем пациентам определялся уровень тромбоксана в крови и полиморфизм гена тромбоксан-синтетазы методом ПЦР. Было получено достоверное ($p=0,034$) различие уровня тромбоксана в сыворотке крови между пациентами с инфарктом миокарда ($184,3 \pm 34,7$ пг/мл) и здоровыми добровольцами ($124,3 \pm 28,1$ пг/мл). Частота ТТ генотипа достоверно чаще встречалась в группе пациентов с инфарктом миокарда ($p=0,002$). Не было различий в распространенности GT и GG генотипа между пациентами с инфарктом миокарда и добровольцами ($p<0,05$). При регрессионном анализе было выявлено, что ТТ генотип гена тромбоксан-

синтетазы является независимым фактором риска развития инфаркта миокарда, что связано с повышенным уровнем тромбксана A2 [45].

С 2010 года начались исследования уровня тромбксана A2 на фоне приема антитромбоцитарных препаратов. Kamala Bhavaaju и соавторы предположили, что активация АДФ регулируется физиологическим уровнем тромбксана через P2Y12 рецепторы. На мышах было показано, что на фоне приема клопидогреля и прасугрела уровень тромбксана в сыворотке крови уменьшался [62].

Антитромботический эффект аспирина благодаря своему необратимому подавлению ЦОГ-1 тромбоцитов предотвращает продукцию медиатора тромбксана A2. АДФ – второй медиатор, который высвобождается тромбоцитами и имеет два главных рецептора P2Y1 и P2Y12.

16 здоровых волонтеров в возрасте от 18 до 40 лет были включены в исследование Bhavaraju и соавт. Все пациенты были обследованы в объеме: осмотр, измерение АД, пульса, биохимия крови и общий анализ мочи. За 14 дней до включения в исследование всем был отменен прием аспирина, нестероидных препаратов и парацетамола. Пациенты получали 75 мг аспирина или 75 мг клопидогреля ежедневно на протяжении 7 дней. Показана связь между АДФ P2Y12 рецептором и продукцией тромбксана A2. На фоне лечения аспирином продукция тромбксана уменьшалась. Прием клопидогреля также был связан с уменьшением уровня тромбксана A2. Это отчетливо показало, что активация P2Y12 рецепторов – это один из важнейших путей, приводящий к продукции тромбксана A2 тромбоцитами. Результаты представленного исследования интересны в отношении фармакологии тромбоцитов и целесообразности одновременного назначения аспирина и антагонистов рецепторов P2Y12. Способность антагонистов рецепторов P2Y12 подавлять пути активации тромбксана A2 тромбоцитов объясняет, почему добавление аспирина к антагонистам P2Y12 не обязательно связано с улучшением эффективности терапии [28].

В данном исследовании было показано, что активация рецепторов P2Y₁₂ играет важную роль в процессе запуска тромбоцитами продукции тромбоксана A₂.

Заключение.

Таким образом, резистентность пациентов к терапии клопидогрелем остается важной медицинской проблемой и продолжает активно исследоваться. Несмотря на появление новых антитромбоцитарных препаратов, в частности тикагрелора и прасугреля, показавших превосходство в отношении снижения риска сердечно-сосудистых событий у пациентов с острым коронарным синдромом, они по-прежнему не рекомендованы для лечения хронической ишемической болезни сердца, в данной ситуации основным антитромбоцитарным препаратом остается аспирин, а при его непереносимости - клопидогрель [47].

Кроме того, стоимость новых антитромбоцитарных препаратов (тикагрелор и прасугрель) остается достаточно высокой, что служит существенным препятствием для широкого их применения и одновременно оставляет возможность для применения клопидогреля.

В то же время новые направления в изучении резистентности к клопидогрелю будут акцентированы на комплексной оценке изученных генов, отвечающих за всасывание, метаболизм и рецепторную чувствительность тромбоцитов, а также поиск новых полиморфизмов генов, что позволит индивидуализировать и сделать более эффективной и безопасной антиагрегантную терапию.

ГЛАВА II. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. КРИТЕРИИ ВКЛЮЧЕНИЯ И ИСКЛЮЧЕНИЯ

В исследование было включено 250 пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями: 176 (70,4%) мужчин и 74 (29,6%) женщины, госпитализированных в стационары города Москвы в период с октября 2011 по сентябрь 2012 года. Работа выполнена в следующих медицинских учреждениях: Университетская клиническая больница №1 Первого московского государственного университета им. И. М. Сеченова (отделение реанимации и интенсивной терапии и кардиологическое отделение для больных инфарктом миокарда клиники кардиологии; отделение сосудистой хирургии), Городская клиническая больница №7 (отделение кардиореанимации) и Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н. В. Склифосовского (отделение неотложной кардиологии для больных инфарктом миокарда).

Пациенты при поступлении классифицированы по основным нозологическим формам: 103 (41,2%) больных с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST, 126 пациентов (50,4%) с инфарктом миокарда без подъема сегмента ST и нестабильной стенокардией и 21 (8,4%) больной с мультифокальным атеросклерозом коронарных и периферических артерий (рисунок 8).

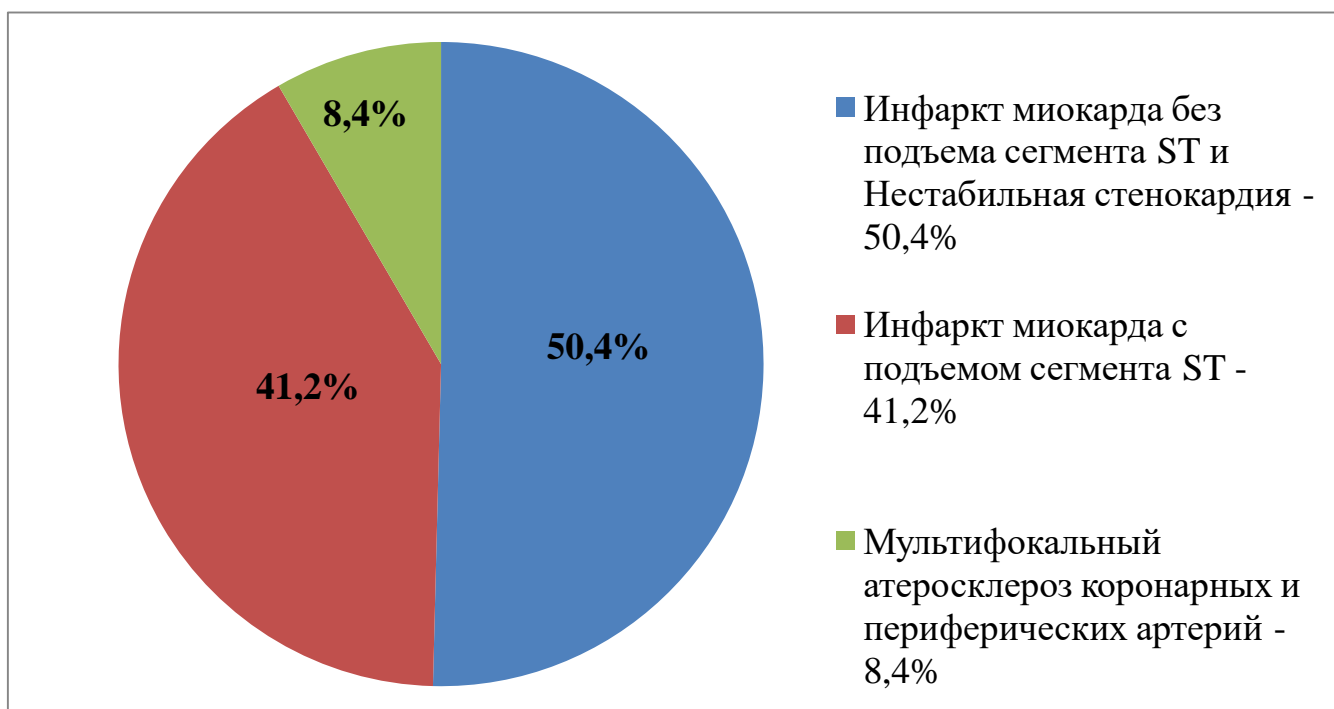


Рисунок 8. Нозологические формы пациентов исследования

Критерии включения в исследование: пациенты в возрасте старше 18 лет, госпитализированные в стационар в связи с дебютом или обострением сердечно-сосудистых заболеваний, которым был назначен клопидогрель:

- острый коронарный синдром: нестабильная стенокардия или инфаркт миокарда;
- пациенты, которым планируется хирургическое лечение ишемической болезни сердца (ангиопластика и стентирование коронарных артерий);
- пациенты с мультифокальным атеросклерозом перед стентированием брахиоцефальных артерий и артерий нижних конечностей.

Критерии исключения из исследования:

- пациенты, принимавшие клопидогрель за 14 дней до включения в исследование;
- состояния, ассоциированные с повышенным риском кровотечений: острое кровотечение или геморрагический синдром, язвенная болезнь желудка и 12-

перстной кишки в стадии обострения, внутричерепное кровоизлияние, неспецифический язвенный колит, туберкулез, опухоли легких;

- беременность и период лактации;

- пациенты с выраженной почечной и печеночной недостаточностью;

- тяжелые психические расстройства;

- алкоголизм и снижение комплаентности.

2.2. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

Клинико-демографическая характеристика пациентов представлена в таблице 3. Средний возраст в набранной группе составил $60,84 \pm 10$ лет. Более половины пациентов составляли мужчины – 176 (70,4%). Предшествующая терапия ацетилсалициловой кислотой до госпитализации отмечена у 71 (28,4%) пациента, что свидетельствует о длительном анамнезе ИБС. Ожирение различной степени выявлено у 83 (33,2%) пациентов, причем: 1 степень у 9,2%, 2 степень у 16% и 3 степень у 8% больных. 77 (30,8%) пациентов страдали сахарным диабетом, из которых 75 (97,4%) второго типа и только 2 (2,6%) – первого типа. Артериальная гипертензия выявлена у 200 (80%) пациентов, с преобладанием 3 степени у 157 (62,8%).

Чуть менее половины пациентов являлись активными курильщиками: 104 (41,6%) в настоящее время и 22 (8,8%) – в анамнезе.

Все пациенты имели более двух факторов риска развития ишемической болезни сердца: сахарный диабет, артериальная гипертензия, гиперлипидемия, курение и ожирение. 165 (66%) больных имели 4 и более факторов риска, 57 (22,8%) – 3 и только у 28 (11,2%) пациентов выявлено 2 фактора риска. Вышеперечисленные факторы в сочетании с генетическими полиморфизмами

могут служить предикторами риска развития резистентности к антитромбоцитарным препаратам.

Таблица 3

Общая характеристика пациентов, включенных в исследование

Показатели	Число пациентов, n (%)
Возраст, лет	60,84±10
Пол (м)	176 (70,4%)
Ожирение 1-3 степени	83 (33,2%)
Сахарный диабет 2го типа	75 (30%)
Степень артериальной гипертонии	
II степень	36 (14,4%)
III степень	157 (62,8%)
Курение	104 (41,6%)
Прием ацетилсалициловой кислоты до госпитализации	71 (28,4%)
Риск развития ишемической болезни сердца	
1 – 2 фактора риска	28 (11,2%)
3 фактора риска	57 (22,8%)
4 и более факторов риска	165 (66%)

При поступлении всем пациентам была назначена терапия согласно действующим рекомендациям ВНОК (ныне РКО), основные группы препаратов приведены в таблице 4. Двойную антиагрегантную терапию аспирином и

клопидогрелем получали 234 (93,6%) пациента. Прием указанных препаратов контролировался при повторных контактах с пациентами.

Таблица 4

Лекарственные препараты, принимаемые пациентами во время исследования

Группы лекарственных средств	Число пациентов, n (%)
Бета-адреноблокаторы	227 (90,8%)
Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента	171 (68,4%)
Блокаторы рецепторов к ангиотензину II	14 (5,6%)
Блокаторы кальциевых каналов	35 (14%)
Диуретики	75 (30%)
Антагонисты альдостерона	45 (18%)
Нитраты	67 (26,8%)
Статины	244 (97,6%)
Гастропротекторы	128 (51,2%)

Исследование не было лимитировано назначением «оригинального» или «дженерического» клопидогреля.

Все пациенты наблюдались не менее 18 месяцев, средний период наблюдения за пациентами составил 545 ± 19 дней. После включения в исследование плановые визиты пациентов проводились 1 раз в 3 месяца и по окончании срока наблюдения. При необходимости проводились телефонные опросы пациентов. Во время контактов с пациентами оценивались приверженность пациентов к терапии,

течение ИБС и наличие осложнений. Через 12 месяцев наблюдения клопидогрель принимали 176 (70,4%) пациентов, а через 18 месяцев – 123 (49,2%) пациента. В целом отмечена хорошая переносимость клопидогреля: за 18 месяцев наблюдения выявлено 3 случая нефатального кровотечения и 2 перевода на прием варфарина в связи с тромбозом вен нижних конечностей. Комбинированная первичная конечная точка (ПКТ) включала: сердечно-сосудистую смерть, развитие нефатального инфаркта миокарда, случаи ранней постинфарктной стенокардии и тромбоз стента.

2.3. ИССЛЕДОВАНИЕ ФУНКЦИИ ТРОМБОЦИТОВ

Забор крови для исследования производился сразу после поступления пациента в стационар (до приема клопидогреля) и через 7-10 дней после первичного определения агрегации тромбоцитов. Для этого сухой иглой пунктировали периферическую вену и набирали кровь в пластиковую пробирку, содержащую 3,8%-ный раствор цитрата натрия в соотношении: 1 объемная часть раствора цитрата натрия и 9 объемных частей крови. Пробирки с кровью доставлялись в лабораторию и находились при комнатной температуре в течение одного часа после забора. Стабилизированную кровь центрифугировали в течение 5-7 минут при 1500 оборотах в минуту для получения богатой тромбоцитами плазмы. Затем богатую тромбоцитами плазму в пластиковой посуде повторно центрифугировали в течение 15-20 минут при 4000 оборотах в минуту для получения бедной тромбоцитами плазмы.

Агрегацию тромбоцитов исследовали в межклинической коагулологической лаборатории Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (заведующая лабораторией Нестерова Светлана Георгиевна) турбодиметрическим методом Борна, основанном на регистрации изменений светопропускания богатой тромбоцитами плазмы [61]. В работе использовался анализатор агрегации тромбоцитов AP 2110 фирмы «SOLAR». В качестве индуктора агрегации тромбоцитов использовался раствор АДФ в конечной концентрации 10 мкмоль/литр. Агрегация тромбоцитов

измерялась как максимальное изменение (увеличение) светопропускания богатой тромбоцитами плазмы в процентах после добавления индуктора. При этом светопропускающая способность богатой тромбоцитами плазмы принималась за 0%, а в качестве контроля служила бедная тромбоцитами плазма этого же пациента, светопропускающая способность которой принималась за 100%. После добавления индуктора к богатой тромбоцитами плазме в процессе агрегации тромбоцитов ее светопропускающая способность стремится от 0 к 100% [3].

2.4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ТЕРАПИИ КЛОПИДОГРЕЛЕМ

Для оценки ответа на лечение клопидогрелем определяли снижение агрегации тромбоцитов на фоне индукции АДФ по отношению к исходному значению в процентах по формуле:

$$\frac{AT_{исх.} - AT_{врем.}}{AT_{исх.}} \times 100\%, \text{ где}$$

AT_{исх.}

AT_{исх.} – исходная агрегация тромбоцитов, *AT_{врем.}* – агрегация тромбоцитов через 7-10 дней после первичного определения агрегации тромбоцитов, которое соответствует времени, прошедшему от начала терапии клопидогрелем.

При снижении <10%, 10-29%, и ≥30% пациентов рассматривали как резистентных, «частично резистентных» и чувствительных к терапии клопидогрелем соответственно [75].

За критерий резистентности к терапии клопидогрелем в нашей работе принято снижение агрегации менее 10%.

2.5. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Генетический анализ проводился на базе Института экологии человека и гигиены окружающей среды (заведующая лабораторией молекулярно-

генетической диагностики, к.б.н. Аксенова Марина Геннадьевна) и лаборатории генно-инженерных систем ЗАО «Лагис» (заведующий научным отделом Кириллов Михаил Юрьевич). Для того чтобы убедиться в происхождении выборки больных образцы были прогенотипированы по *Alu*-маркерам – *PV92* и *TPA25*, которые широко применяются в популяционных исследованиях. В выборке распределение аллелей и генотипов данных маркеров подчинялось закону Харди-Вайнберга, что свидетельствует об однородности выборки.

В нашей работе исследован ряд генетических полиморфизмов, которые потенциально могут быть связаны с развитием резистентности к клопидогрелю:

1. Полиморфизм 3435C→T транспортного гена - *ABCВ1* (гликопротеин P);
2. Полиморфизм Arg144Cys C430T экзон 3 гена *CYP2C9*2* и Ile359Leu A1075C экзон 7 *CYP2C9*3* системы цитохрома P-450;
3. Полиморфизм гена *CYP2C19*2* (rs4244285), *CYP2C19*3* (rs4986893) и *CYP2C19*17* (rs12248560) системы цитохрома P-450;
4. Полиморфизм T744C гена, кодирующего рецепторы тромбоцитов P2Y12;
5. Полиморфизм rs6962291 гена тромбоксан-синтазы *TBXAS1*.

Исследование проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим рестрикционным анализом [89]. В основе метода ПЦР лежит процесс многократного увеличения копий (амплификации) определенных участков ДНК, осуществляемый с помощью фермента ДНК-полимеразы.

ДНК для генетического исследования выделяли из цельной венозной крови, забранной в пробирку с ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота), стандартным фенол-хлороформным методом. Для определения аллельного полиморфизма генов проводили рестрикцию с соответствующими рестриктазами.

2.6. СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием пакетов программ для статистического анализа STATISTICA (версия 10.0), SPSS (версия 20.0) и программы Excel for Windows.

Для оценки нормальности распределения проводился тест Колмогорова – Смирнова. Описание количественных признаков выполнено в виде среднего арифметического значения \pm стандартное отклонение в случае нормального распределения и в виде медианы с указанием 25 и 75 перцентиля в случае ненормального распределения. Для качественных показателей вычислялись следующие показатели: число наблюдений и доля (в %) от общего количества пациентов или от количества пациентов в соответствующей подгруппе.

Сравнение между независимыми подгруппами по количественным показателям проводилось с помощью теста Манна-Уитни (для двух независимых подгрупп) или теста Крускала-Уолиса (для трех и более независимых подгрупп). В последнем случае при выявлении статистически достоверных различий апостериорный анализ осуществлялся с использованием критерия Шеффе. Сравнение между независимыми подгруппами по качественным показателям осуществлялось с использованием критерия хи-квадрат. Соотношение между количественными показателями оценивалось с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Независимые предикторы проанализированы при помощи однофакторного анализа (ANOVA) и многофакторного дисперсионного анализа (MANOVA).

Время до наступления событий комбинированной первичной конечной точки (ПКТ) анализировалось с использованием метода Каплана-Мейера и регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса. Достоверность различия по времени до наступления событий комбинированной ПКТ оценивалась с использованием критериев Вилкоксона-Гехана и лог-рангового теста, или же критерия хи-квадрат.

Различия считались достоверными при уровне значимости более 95% ($p < 0,05$).

ГЛАВА III. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. ОЦЕНКА УРОВНЯ АДФ-ИНДУЦИРОВАННОЙ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ АГРЕГОМЕТРИИ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ КЛОПИДОГРЕЛЕМ

На фоне терапии клопидогрелем через 7 суток наблюдалось снижение средней агрегации тромбоцитов с $65,6 \pm 17,5\%$ до $45,3 \pm 20,2\%$. Согласно принятому критерию резистентности (снижение АДФ-агрегации менее 10%) все пациенты были разделены на чувствительных – 185 (74%) и резистентных к терапии клопидогрелем – 65 (26%).

Показатель исходной АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов чувствительных к терапии клопидогрелем составил $66,9 \pm 15,6\%$, а у резистентных пациентов - $61,6 \pm 21,8\%$ ($p=0,03$). Агрегация через 7 дней у чувствительных пациентов снизилась до $36,6 \pm 14\%$, в то время как у резистентных повысилась до $67,1 \pm 19,2\%$ ($p<0,01$), рисунок 8.

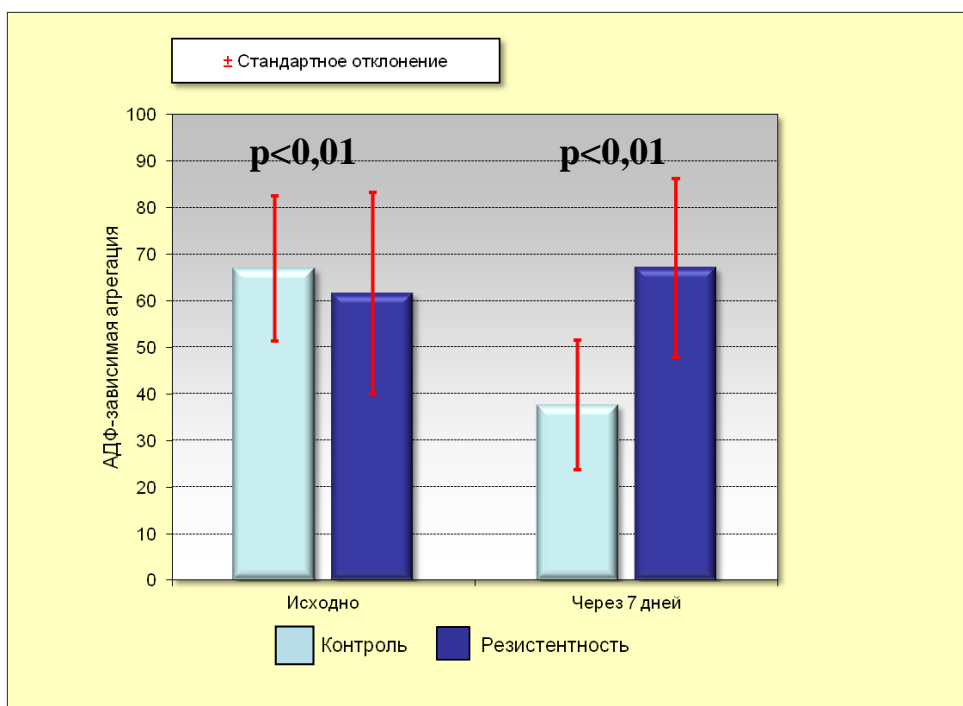


Рисунок 8. Динамика АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов, чувствительных и резистентных к терапии клопидогрелем

При подробном анализе различных групп (таб. 5) оказалось, что пациенты с острым коронарным синдромом более чувствительны к терапии антиагрегантными препаратами, чем стабильные пациенты с мультифокальным поражением артерий, в том числе коронарных (43% против 56,8%, $p < 0,01$). Кроме того, внутри группы ОКС у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (ИМспST) остаточная реактивность тромбоцитов на фоне терапии клопидогрелем оказалась выше, чем у пациентов с инфарктом миокарда без подъема сегмента ST (ИМбпST) и нестабильной стенокардией (НС) (48,8% против 38,4%, $p < 0,01$).

Пациенты, страдающие сахарным диабетом 1-го и 2-го типа менее чувствительны к антиагрегантной терапии, чем пациенты без диабета (51,6% против 42,5%, $p < 0,01$).

Таблица 5

Клинико-демографическая характеристика пациентов

Показатель	Исходная АДФ-агрегация	р	АДФ-агрегация через 7 дней	р
Пол:				
-мужчины	65±17,6%	}p=0,5	44,7±20,8%	}p=0,5
-женщины	66,7±17,3%		46,6±18,6%	
Возраст:				
-до 60 лет	66,8±16,8%	}p=0,3	45,3±21,2%	}p=0,9
-после 60 лет	64,5±18,1%		45,3±19,2%	
Диагноз:				
-ОКСспST	67±16,9%	}p=0,2	48,8±20,7%	}p<0,01
-ОКСбпST/НС	63,3±17,3%		38,4±15,7%	
-МФА	68,4±21,1%	}p=0,4 (ОКС против МФА)	58,6±24,5%	}p<0,01 (ОКС против МФА)
Статус курения:				
-курающие		}p=0,7	46,1±23,1%	}p=0,6
-некурающие	66,2±18,3%		44,7±17,8%	
Ожирение:				
-с ожирением	65,2±16,9%	}p=0,6	47,4±20,9%	}p=0,3
-без ожирения	64,7±18,0%		44,3±19,7%	
Сахарный диабет	65,9±17,3%			

(1 и 2 типа): -с диабетом -без диабета	65,6±18,4% 65,6±17,1%	}p=0,9	51,6±21,9% 42,5±18,7%	}p<0,01
Гипертоническая болезнь (1, 2 и 3 степени): -с ГБ -без ГБ	66,3±17,8% 62,8± 16,0%	}p=0,2	46,2±20,4% 41,8±19,1%	}p=0,2
Холестерин крови, ммоль/л: -менее 5,5 -более 5,5	65,4±18,6% 65,8±15,4%	}p=0,9	44,6±18,5% 45,3±20,8%	}p=0,6

На рисунках 9 - 14 продемонстрирована взаимосвязь показателя исходной АДФ-агрегации с различными клиническими состояниями. Не получено достоверной связи ни одного из клинико-демографических показателей (нозологическая форма, пол, артериальная гипертония, статус курения, масса тела и нарушение углеводного обмена) с показателем исходной агрегации пациентов. При сравнении анализа вышеперечисленных групп пациентов они были однородны по нозологическим признакам.



Рисунок 9. Исходная АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов у пациентов с различными нозологическими формами

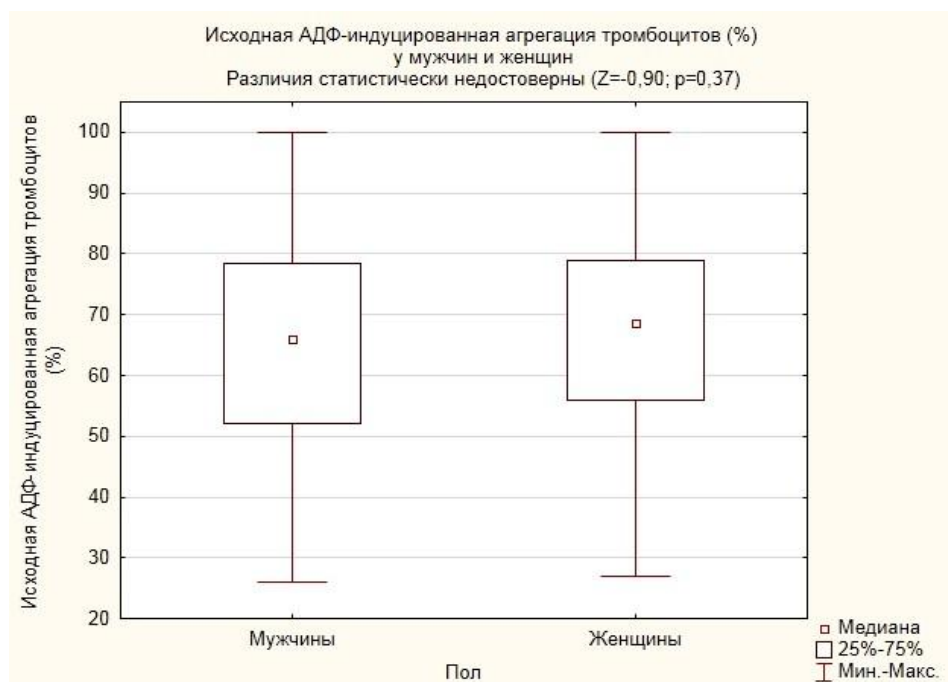


Рисунок 10. Исходная АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов в зависимости от пола

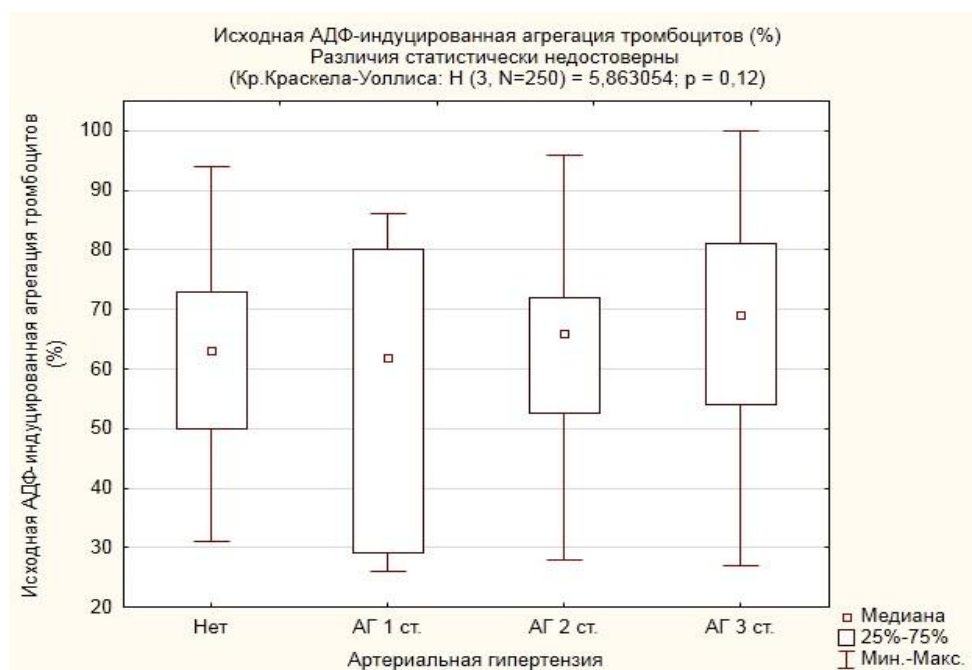


Рисунок 11. Исходная АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов и степень АГ



Рисунок 12. Исходная АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов и статус курения

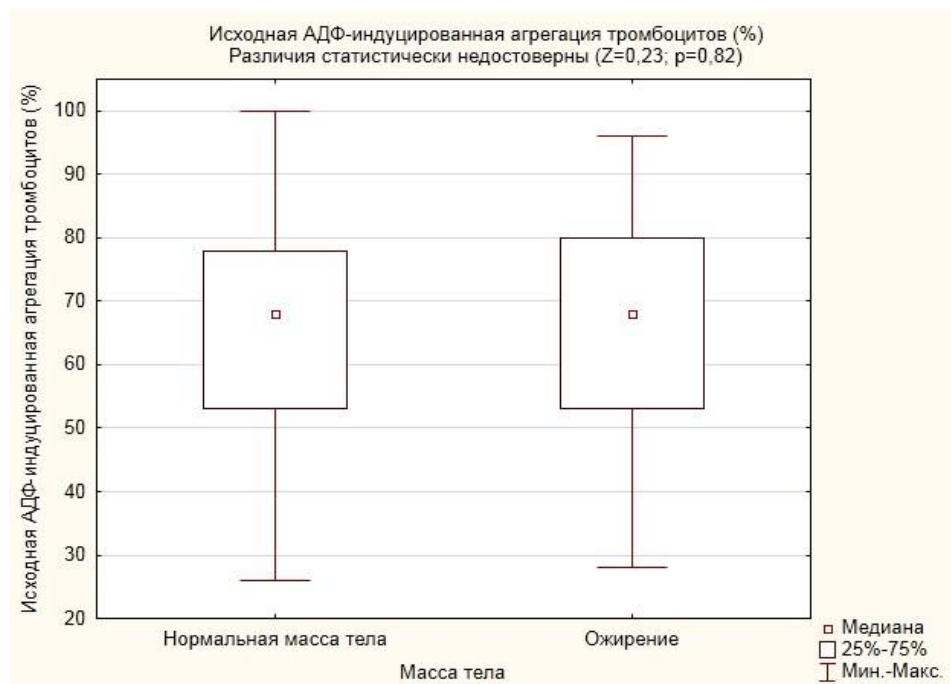


Рисунок 13. Исходная АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов и масса тела

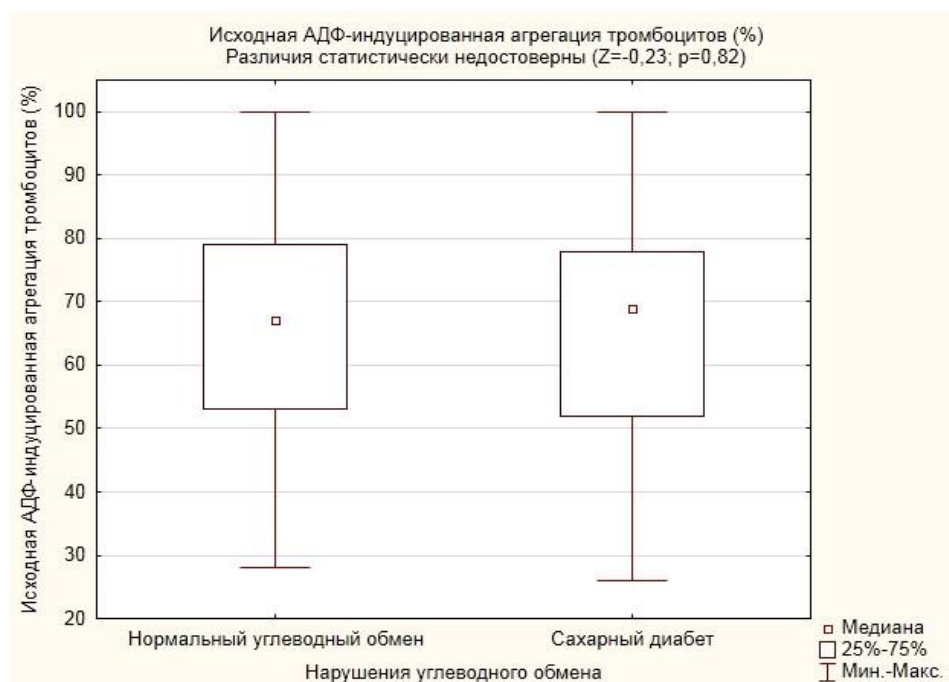


Рисунок 14. Исходная АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов и нарушения углеводного обмена

При анализе взаимосвязи различных факторов с показателем АДФ-агрегации тромбоцитов через 7 дней постоянного приема клопидогреля было выявлено, что она достоверно связана с нозологической формой пациентов при поступлении. Так, ниже всего уровень агрегации был у пациентов с ИМбпСТ и нестабильной стенокардией, затем – пациенты с ИМспСТ и самый высокий уровень оказался у пациентов с мультифокальным атеросклеротическим поражением артерий, $p<0,001$ (рисунок 15).

Не выявлено взаимосвязи пола, степени артериальной гипертонии, статуса курения и массы тела с показателем АДФ-агрегации тромбоцитов через 7 дней приема клопидогреля (рисунок 16,17,18, 19).

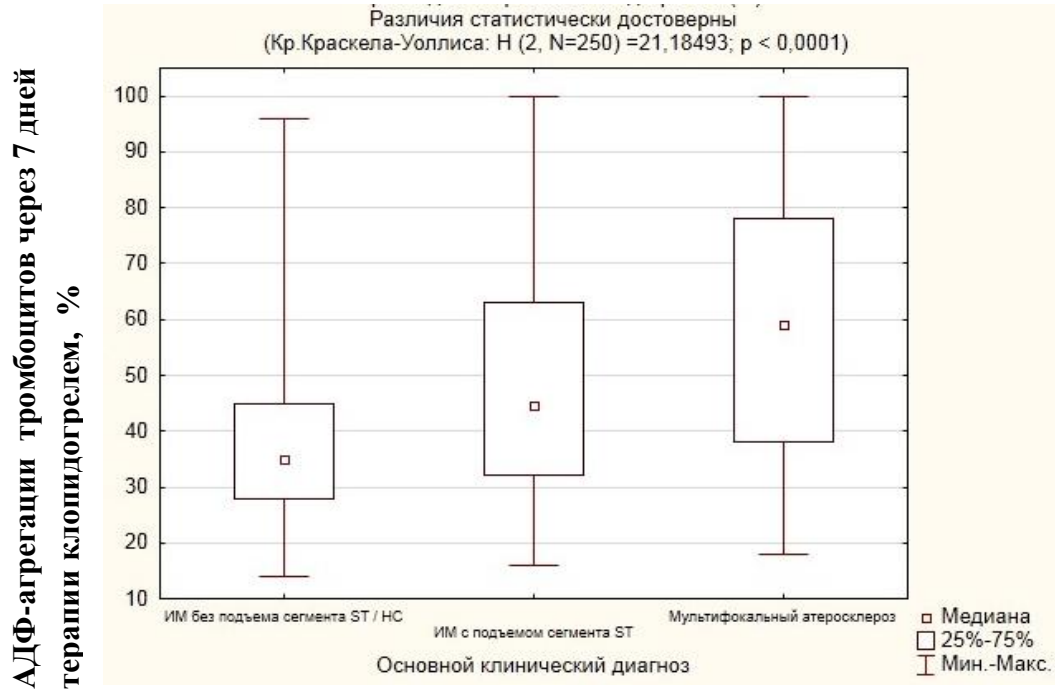


Рисунок 15. Зависимость АДФ- индуцированной агрегации тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем и нозологической формы пациентов



Рисунок 16. Зависимость АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем от пола

АДФ-агрегация тромбоцитов через 7 дней
терапии клопидогрелем, %

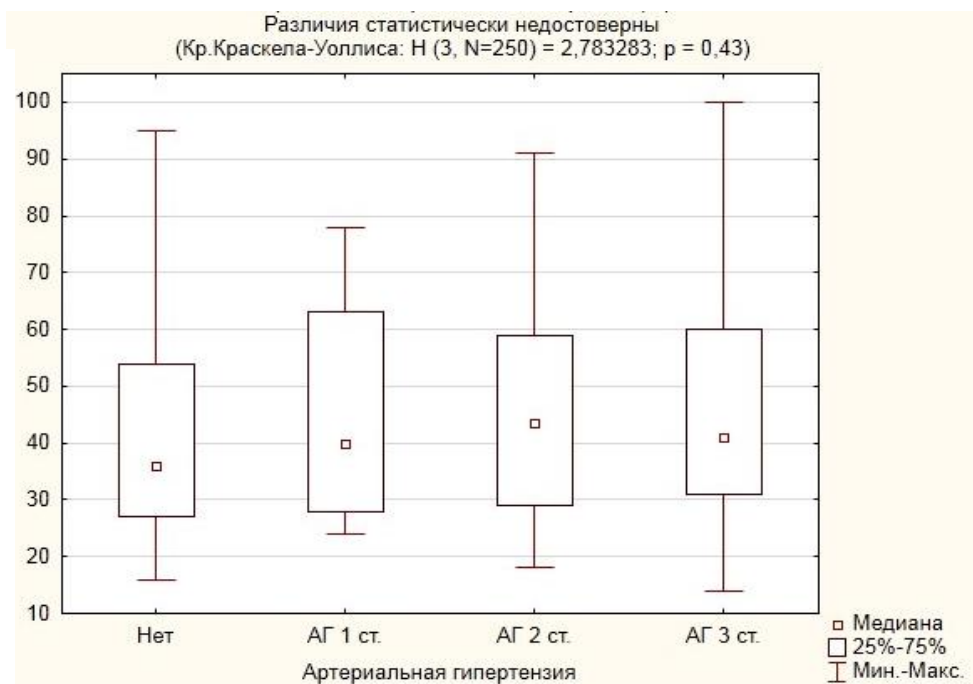


Рисунок 17. Зависимость АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем от степени АГ

АДФ-агрегация тромбоцитов через 7 дней
терапии клопидогрелем, %

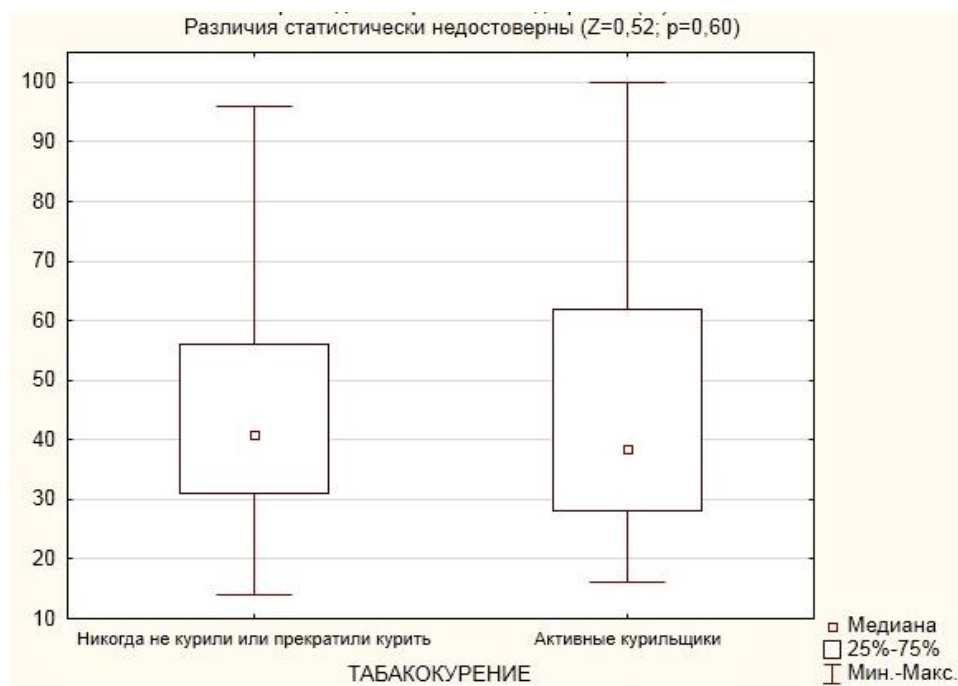


Рисунок 18. Зависимость АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем от статуса курения

АДФ-агрегация тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем, %



Рисунок 19. Зависимость АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем с массой тела

На рисунке 20 видно, что АДФ-агрегация через 7 дней приема клопидогреля зависит от статуса углеводного обмена. Пациенты, страдающие сахарным диабетом 1-го и 2-го типов, имели достоверно более высокий уровень АДФ-агрегации, чем пациенты с нормальным углеводным обменом, $p=0,001$.

АДФ-агрегация тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем, %

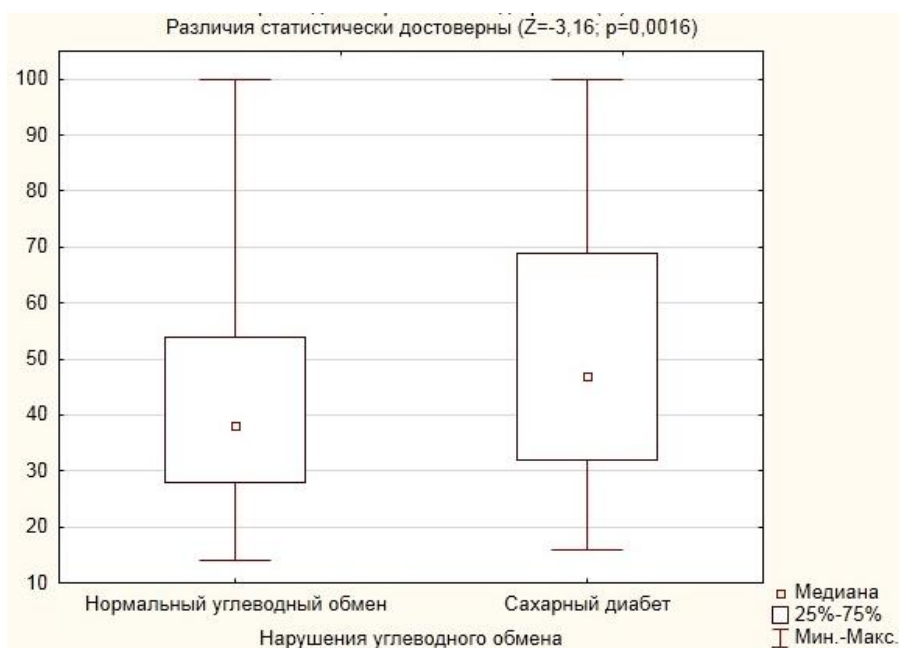


Рисунок 20. Зависимость АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем со статус углеводного обмена

Количество факторов риска развития ИБС не связано ни с уровнем исходной АДФ-агрегации тромбоцитов (рисунок 21), ни с агрегацией через 7 дней приема клопидогреля (рисунок 22).

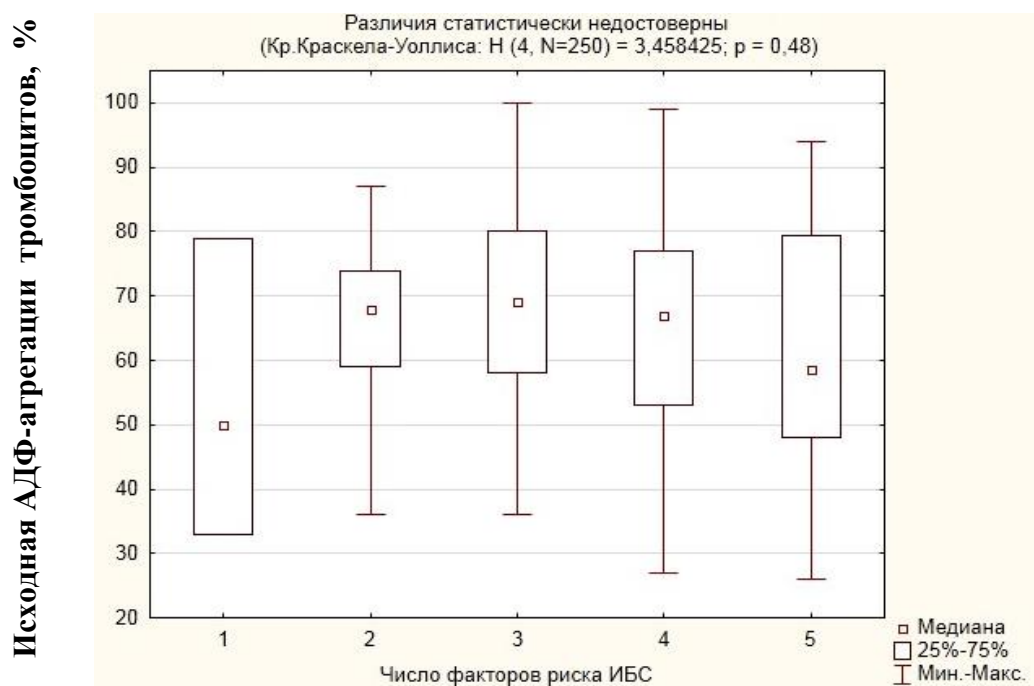


Рисунок 21. Исходная АДФ-индуцированная агрегация и факторы риска ИБС

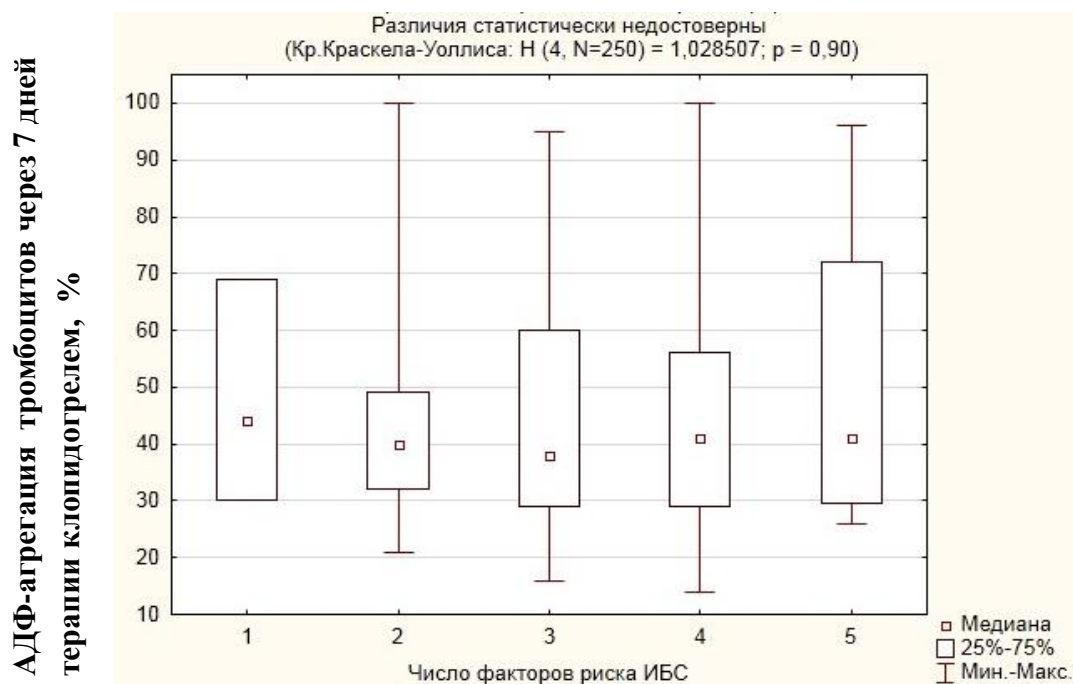


Рисунок 22. АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем и факторы риска ИБС

3.2. ОЦЕНКА СВЯЗИ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ С РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ К КЛОПИДОГРЕЛЮ

Согласно принятому критерию резистентности выявлено 65 (26%) пациентов, резистентных к терапии клопидогрелем.

Остаточная реактивность тромбоцитов в различных подгруппах не зависит от первоначальной дозы клопидогреля: 600 (при чрескожных коронарных вмешательствах), 300 или 75 мг. Прием аторвастатина ($p=0,4$) и омепразола ($p=0,3$) не оказывает влияния на эффективность антиагрегантной терапии.

Кроме того, такие показатели как пол, статус курения, масса тела и количество факторов риска развития ИБС также не связаны с остаточной реактивностью тромбоцитов (рисунок 23, 24, 25, 26).

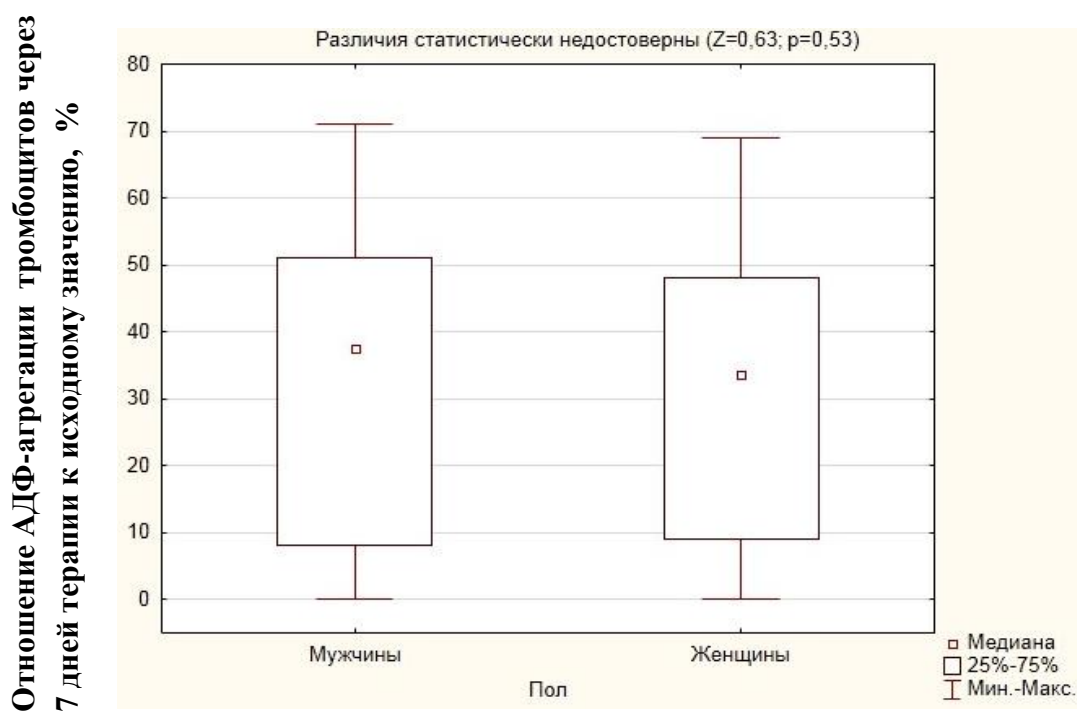


Рисунок 23. Зависимость резистентности к терапии клопидогрелем от пола

При анализе взаимосвязи статуса курения с резистентностью к терапии клопидогрелем не получено достоверного влияния в различных группах (таблица 6). Так, среди некурящих 25,8% и курящих пациентов 25% оказались

резистентными, и несколько больше (31,8%) – среди пациентов, бросивших табакокурение в прошлом, $p=0,8$.

Таблица 6.

Статус курения и резистентность к клопидогрелю

Статус курения	Средняя АДФ-агрегация	Число больных	Количество (доля) резистентных, n
Некурящие	32,24±21,02	124	32 (25,8%)
Курящие	32,19±22,09	104	26 (25%)
Бросили	30,00±24,1	22	7 (31,8%)
Всего	32,02±21,6	250	65 (26%)

При попытке объединить пациентов в две группы: некурящие и курящие в настоящий момент, также не было получено достоверного различия (рисунок 24).

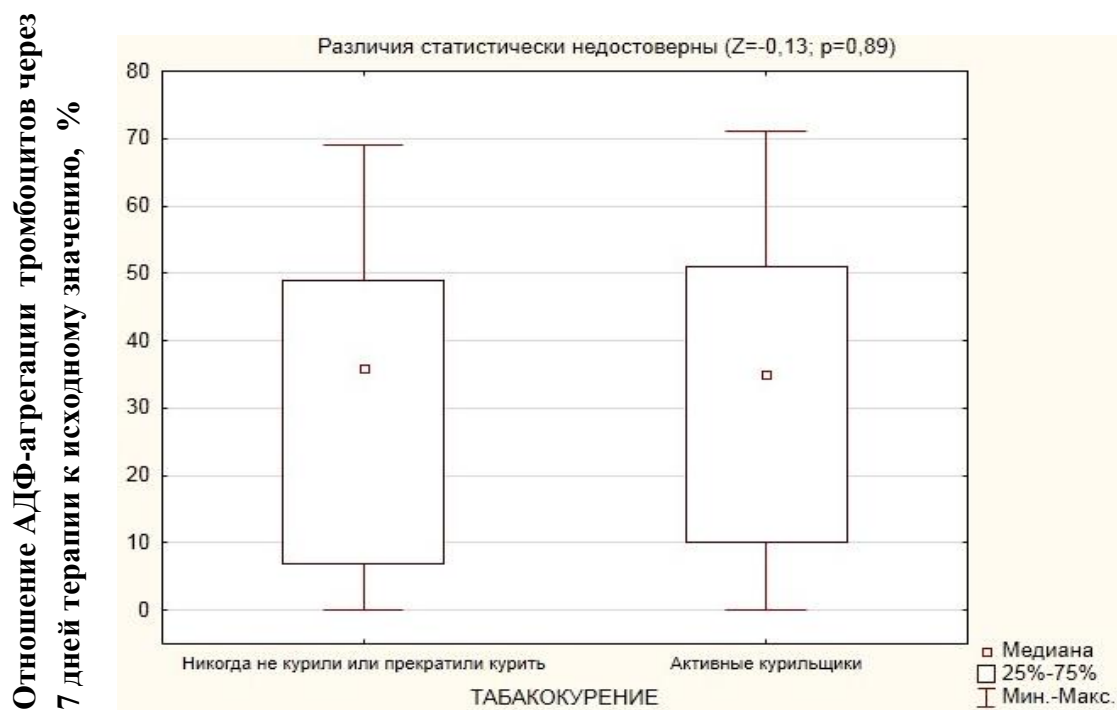


Рисунок 24. Резистентность к терапии клопидогрелем и статус курения

Отношение АДФ-агрегации тромбоцитов через 7 дней терапии к исходному значению, %

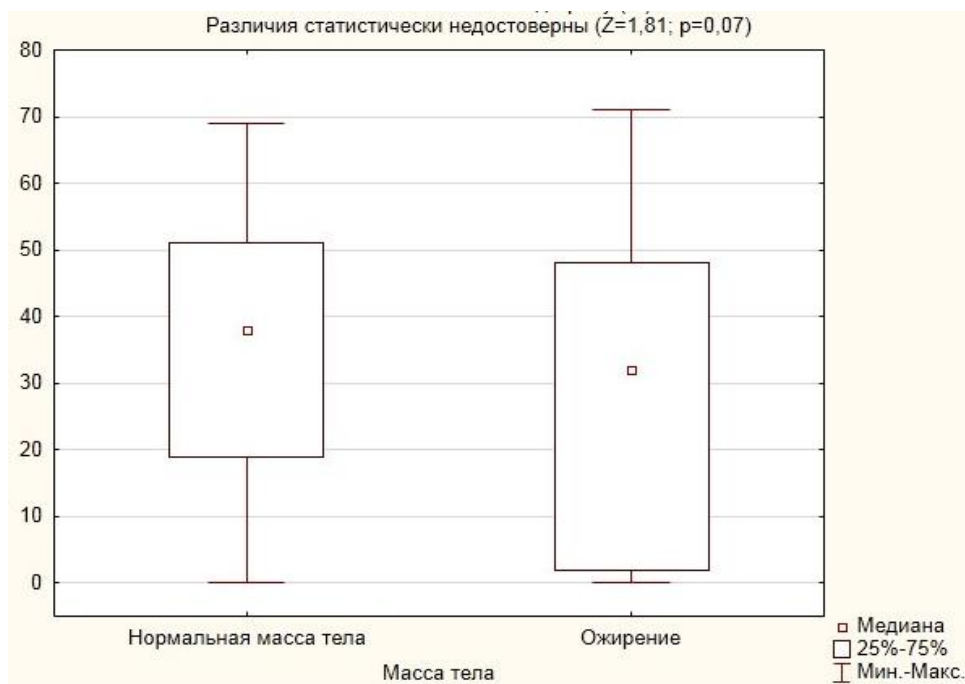


Рисунок 25. Резистентность к терапии клопидогрелем и масса тела

Отношение АДФ-агрегации тромбоцитов через 7 дней терапии к исходному значению, %

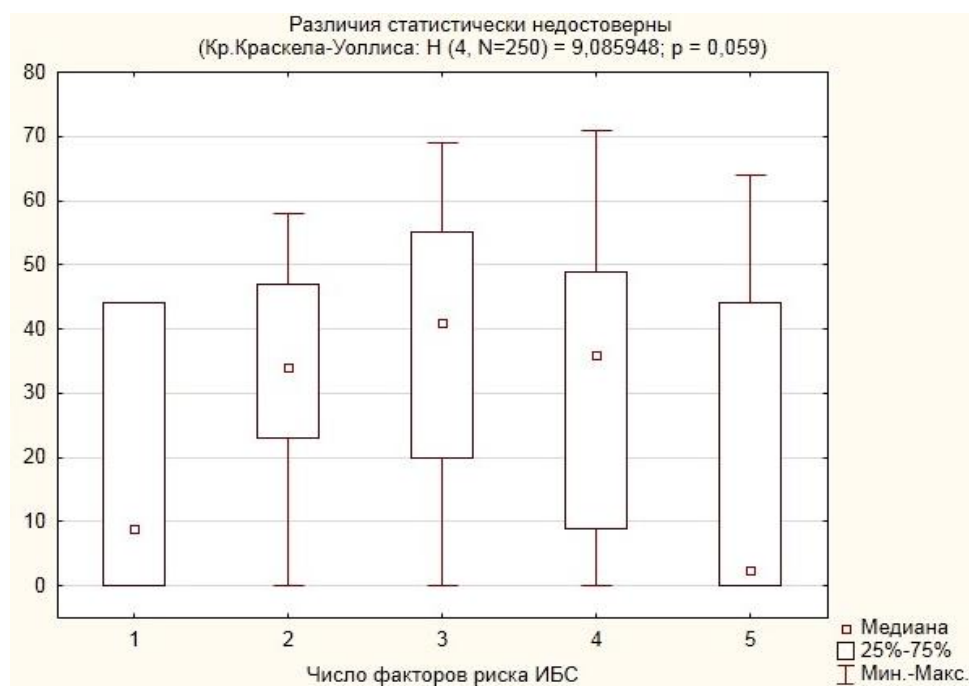


Рисунок 26. Резистентность к терапии клопидогрелем и факторы риска развития ИБС

Аналогично с показателем АДФ-агрегации через 7 дней терапии клопидогрелем, нами была получена взаимосвязь нозологической формы пациентов с резистентностью к клопидогрелю (таблица 7). Среди пациентов с

ИМбпST или нестабильной стенокардией 15,5% оказались резистентными к терапии, с ИМспST – 30,9% и с МФА – 47,6%, $p < 0,05$. Таким образом, у относительно стабильных пациентов с МФА выявлена высокая остаточная реактивность тромбоцитов на фоне антиагрегантной терапии, при сравнении с пациентами с ОКС (рисунок 27).

Таблица 7.

Нозология и резистентность к клопидогрелю

Нозологическая форма пациентов	Средняя АДФ-агрегация	Число больных	Количество (доля) резистентных, n
ИМбпST/НС	38,27±20,2	103	16 (15,5%)
ИМспST	28,82±21,3	126	39 (30,9%)
МФА	20,62±22,6	21	10 (47,6%)
Всего	32,02±21,6	250	65 (26%)

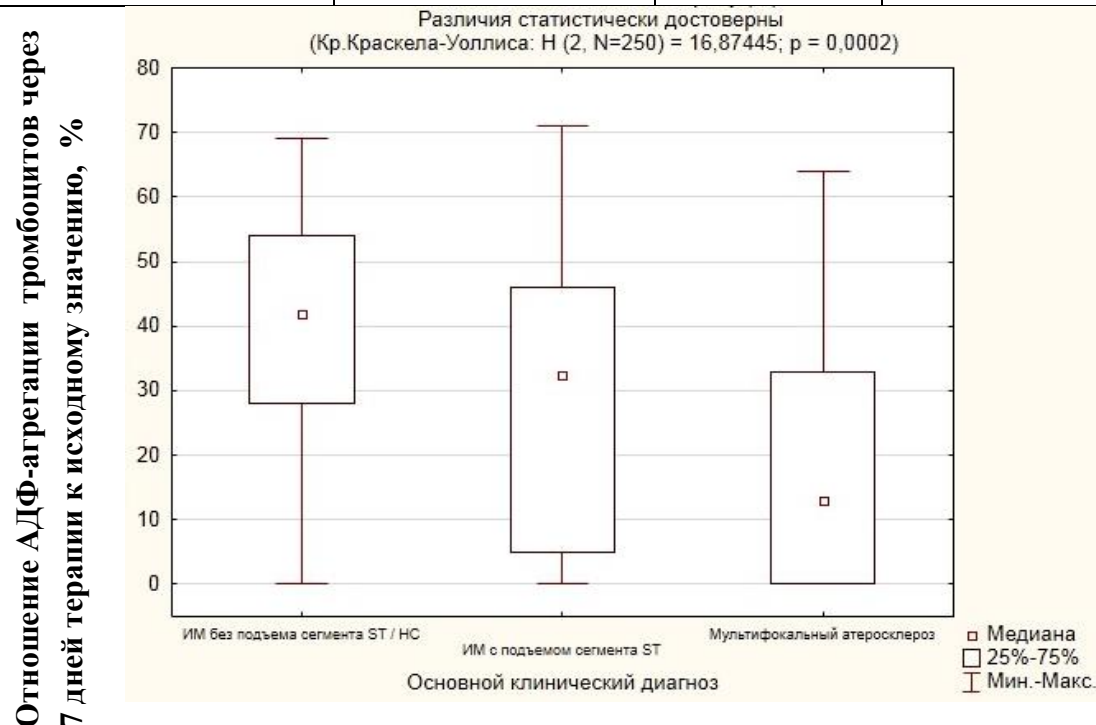


Рисунок 27. Резистентность к терапии клопидогрелем и нозология

Статус углеводного обмена также взаимосвязан с чувствительностью к терапии клопидогрелем (таблица 8 и рисунок 28): среди пациентов без СД только 19,6% оказались резистентными, в то время как, среди пациентов, страдающих СД 1-го и 2-го типов - 40,3%, $p < 0,001$.

Таблица 8.

Статус углеводного обмена и резистентность

Статус углеводного обмена	Средняя АДФ-агрегация	Число больных	Количество (доля) резистентных, n
Без диабета	35,58±20,7	173	34 (19,6%)
СД 2го типа	24,67±21,6	77	31 (40,3%)
Всего	32,02±21,6	250	65 (26%)

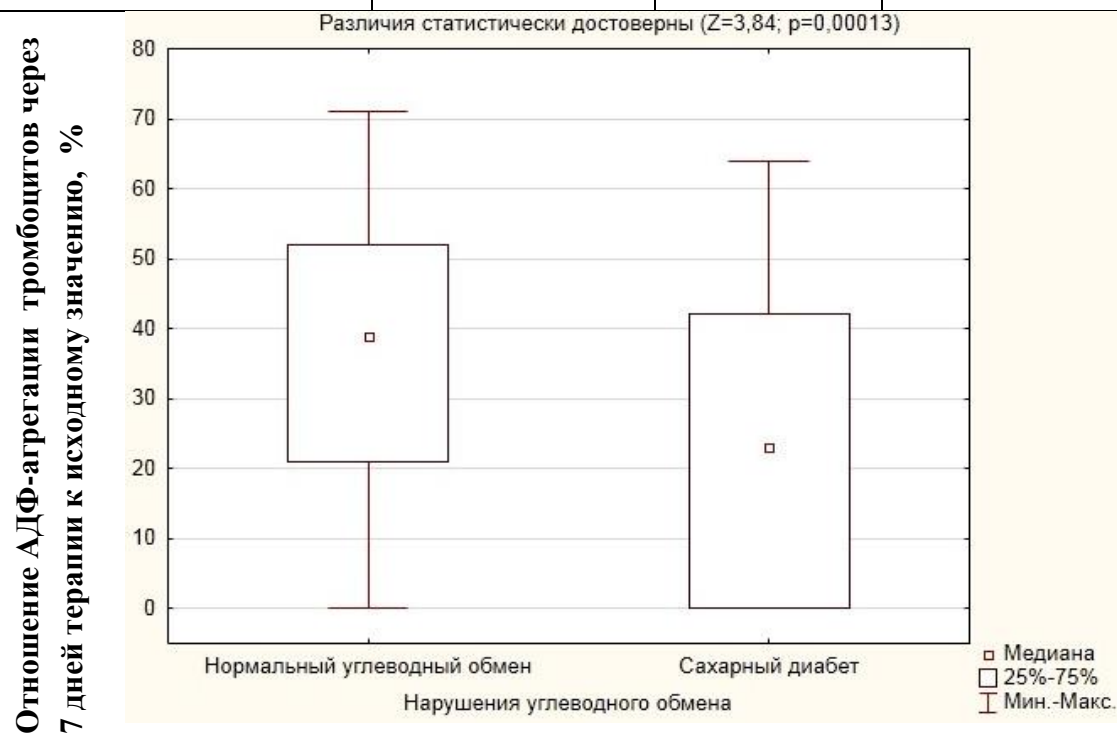


Рисунок 28. Резистентность к терапии клопидогрелем и статус углеводного обмена

3.3. ОЦЕНКА СВЯЗИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ С РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ К ТЕРАПИИ КЛОПИДОГРЕЛЕМ

Были изучены полиморфизмы генов, участвующих во всасывании клопидогреля (АВСВ1), метаболизме (СУР2С9 и СУР2С19), рецепторной чувствительности Р2У12 и ген тромбоксан-синтетазы (ТВХАС1). Выявлена распространенность вышеперечисленных генов и влияние их полиморфизмов на остаточную реактивность тромбоцитов на фоне приема клопидогреля и риск возникновения сердечно-сосудистых событий.

3.3.1. ОЦЕНКА СВЯЗИ ТРАНСПОРТНОГО ГЕНА АВСВ1 С РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ

В исследуемой популяции пациентов проанализированы частоты СС, СТ и ТТ генотипов АВСВ1 гена. СС генотип выявлен у 51 (20,4%) пациента, СТ у 121 (48,4%) и ТТ у 78 (31,2%). Не выявлено достоверной взаимосвязи различных генотипов транспортного гена с показателем исходной агрегации, агрегацией через 7 дней и резистентностью к терапии клопидогремом (рисунок 29, 30 и 31).

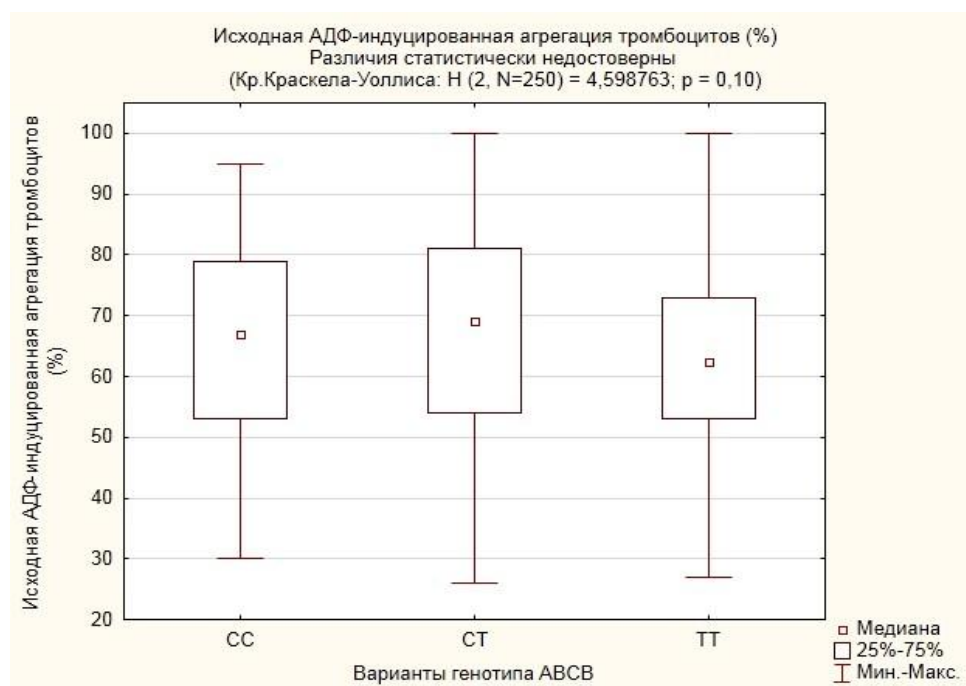


Рисунок 29. Исходная АДФ-агрегация тромбоцитов и генотип АВСВ1 гена

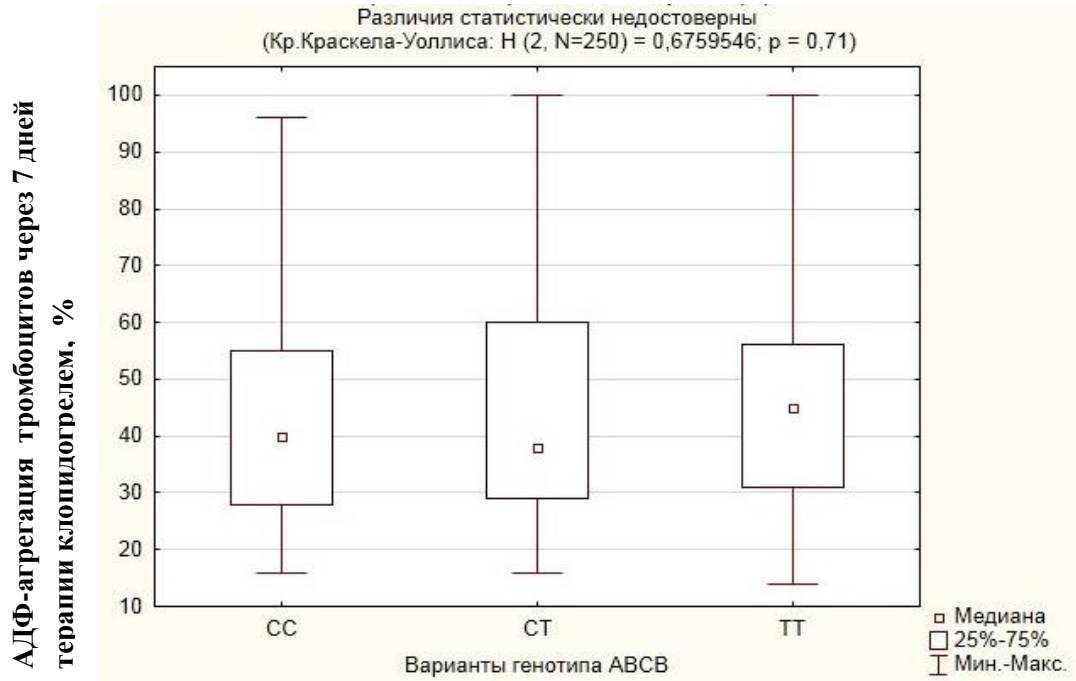


Рисунок 30. АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем и генотип ABCB1 гена

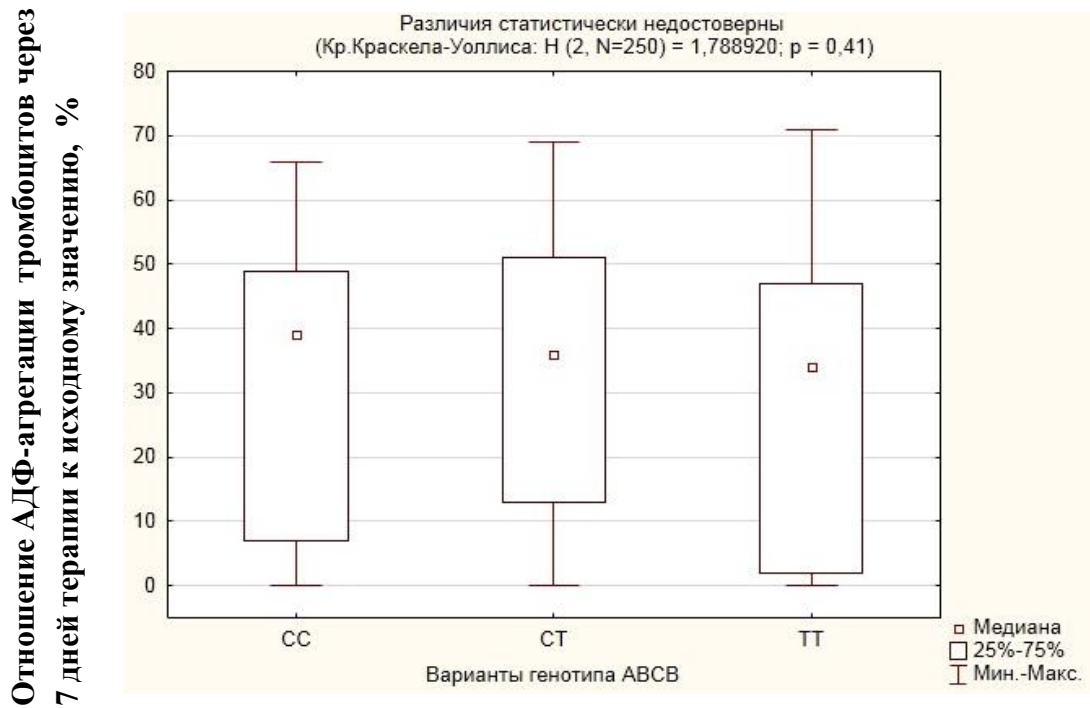


Рисунок 31. Резистентность к терапии клопидогрелем и генотип ABCB1 гена

3.3.2. ОЦЕНКА СВЯЗИ ГЕНОВ СИСТЕМЫ ЦИТОХРОМА P-450: CYP2C9 И CYP2C19 С РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ

Среди пациентов, включенных в исследование у большинства (68,4%) выявлен *1*1 вариант CYP2C9 гена, остальные варианты были распределены неравномерно (таблица 9).

Таблица 9.

Распространенность различных генотипов CYP2C9 гена

Генотип CYP2C9 гена	Количество (доля) пациентов, n
*1*1	171 (68,4%)
*1*2	49 (19,6%)
*1*3	23 (9,2%)
*2, *3	2 (0,8%)
*2*2	4 (1,6%)
*3*3	1 (0,4%)

Согласно исследованиям, проведенным ранее известно, что в отношении влияния на АДФ-агрегацию *1*2, *1*3, *2 - *3, *2*2 и *3 *3 варианты могут быть объединены как аллели с утратой функции CYP2C9 гена. Таким образом, генотипы у наших пациентов были распределены следующим образом: 171 (68,4%) пациент с *1*1 «диким типом» и 79 (31,6%) пациентов с аллелем с утратой функции.

Не выявлено взаимосвязи различных генотипов CYP2C9 гена с показателем исходной АДФ-агрегации, агрегацией через 7 дней и резистентностью к терапии клопидогрелем (рисунок 32, 33 и 34).



Рисунок 32. Исходная АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов и генотип CYP2C9 гена

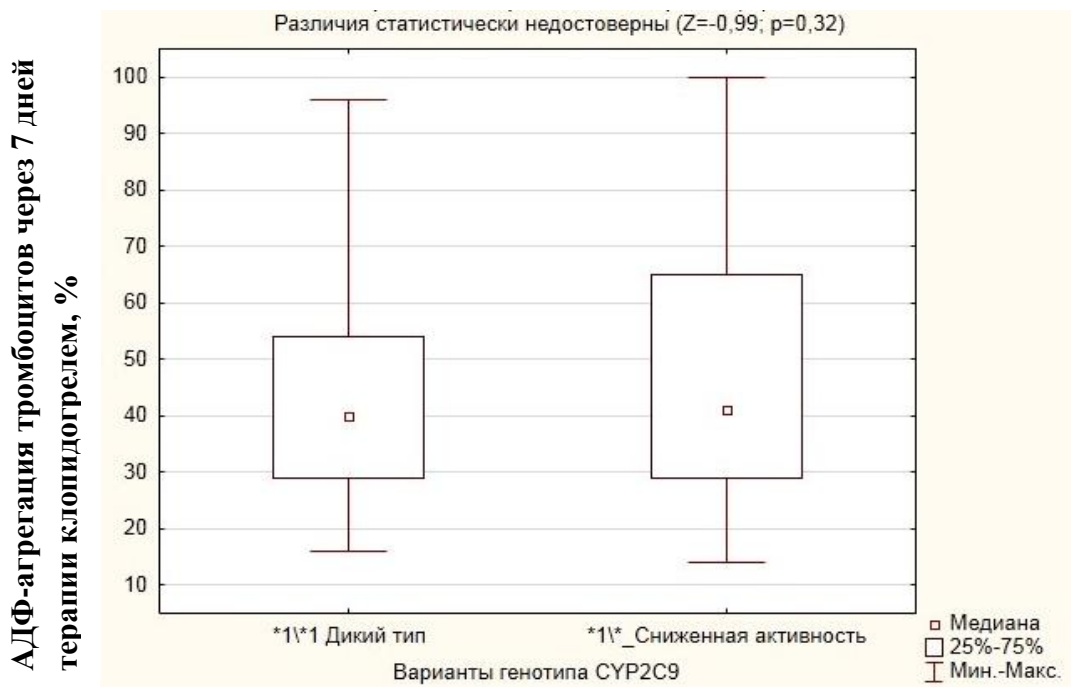


Рисунок 33. АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем и генотип CYP2C9 гена



Рисунок 34. Резистентность к клопидогрелю и генотип CYP2C9 гена

«Медленный вариант» или AA генотип CYP2C19*2 цитохрома P-450 выявлен у 9 (3,6%) пациентов, GA у 51 (21,7%) и GG у 186 (74,7%). AA генотип CYP2C19 гена достоверно ($p<0,05$) связан с показателем АДФ-агрегации через 7 дней терапии клопидогрелем (рисунок 36). При этом не выявлена зависимость между различными генотипами CYP2C19 гена и показателем исходной агрегации и возникновением резистентности (рисунок 35 и 37).

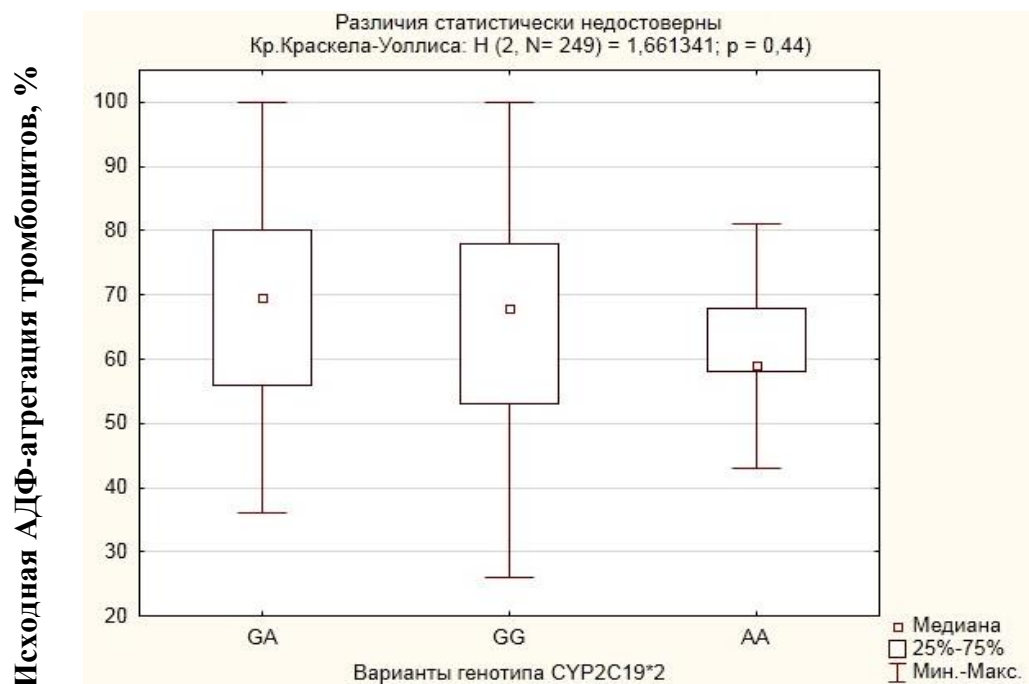


Рисунок 35. Исходная АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов и генотип CYP2C19 гена

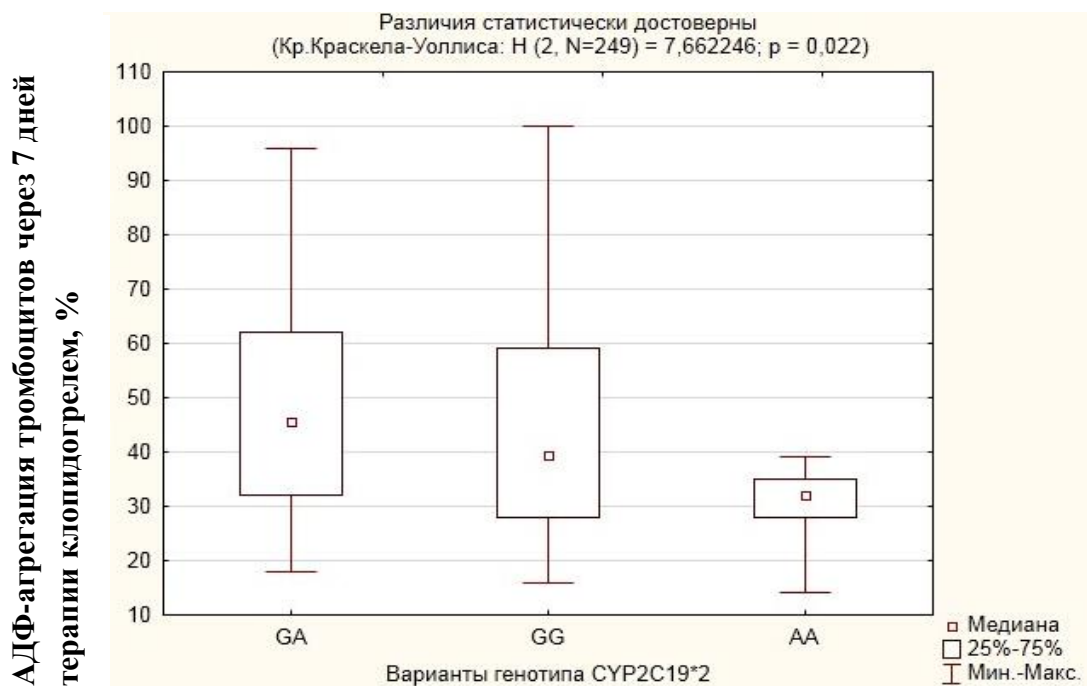


Рисунок 36. АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем и генотип CYP2C19 гена

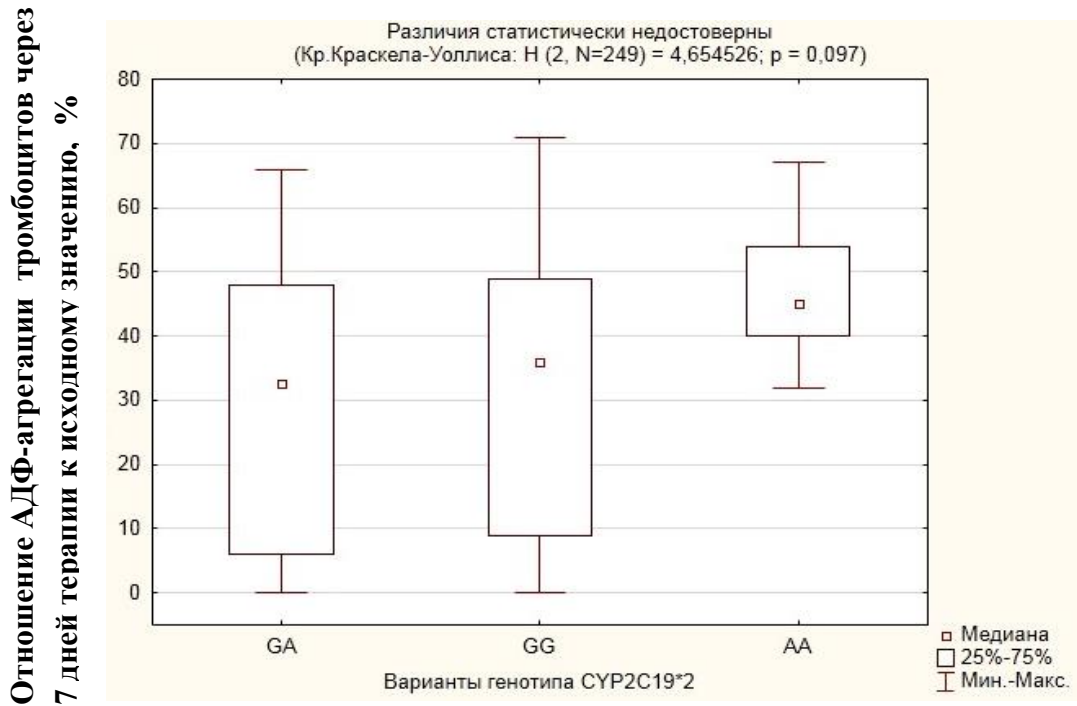


Рисунок 37. Резистентность к клопидогрелю и генотип CYP2C19 гена

Однако при объединении пациентов с GG и GA генотипами и анализе их с пациентами с AA генотипом получена достоверная взаимосвязь последнего с остаточной реактивностью тромбоцитов на фоне терапии клопидогрелем (рисунок 38).



Рисунок 38. Резистентность к клопидогрелю генотип CYP2C19 гена

3.3.3. ОЦЕНКА СВЯЗИ ГЕНА РЕЦЕПТОРНОЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К КЛОПИДОГРЕЛЮ P2Y12 С РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ

Распространенность GG генотипа P2Y12 рецепторного гена в популяции исследованных пациентов составила 97,3% и 2,7% пациентов с GT генотипом. Не выявлено ни одного пациента с гомозиготным аллелем T.

Не было получено связи различных генотипов P2Y12 гена как с показателем исходной агрегации (рисунок 39) и агрегацией через 7 дней (рисунок 40), так и с возникновением резистентности к терапии клопидогрелем (рисунок 41).

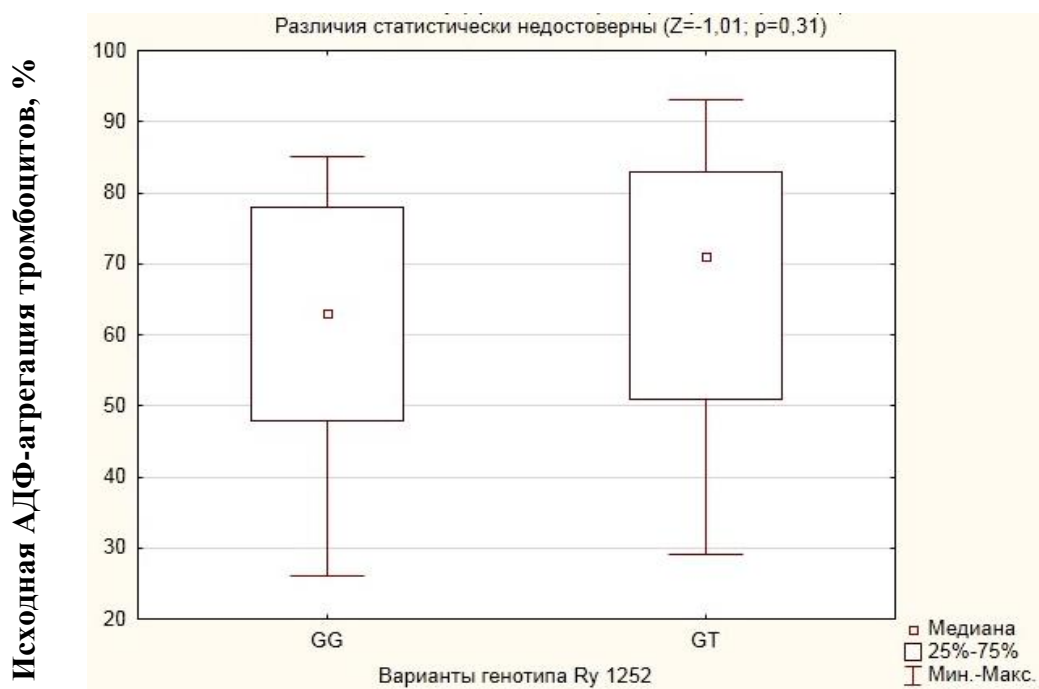


Рисунок 39. Исходная АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов и генотип P2Y12 гена

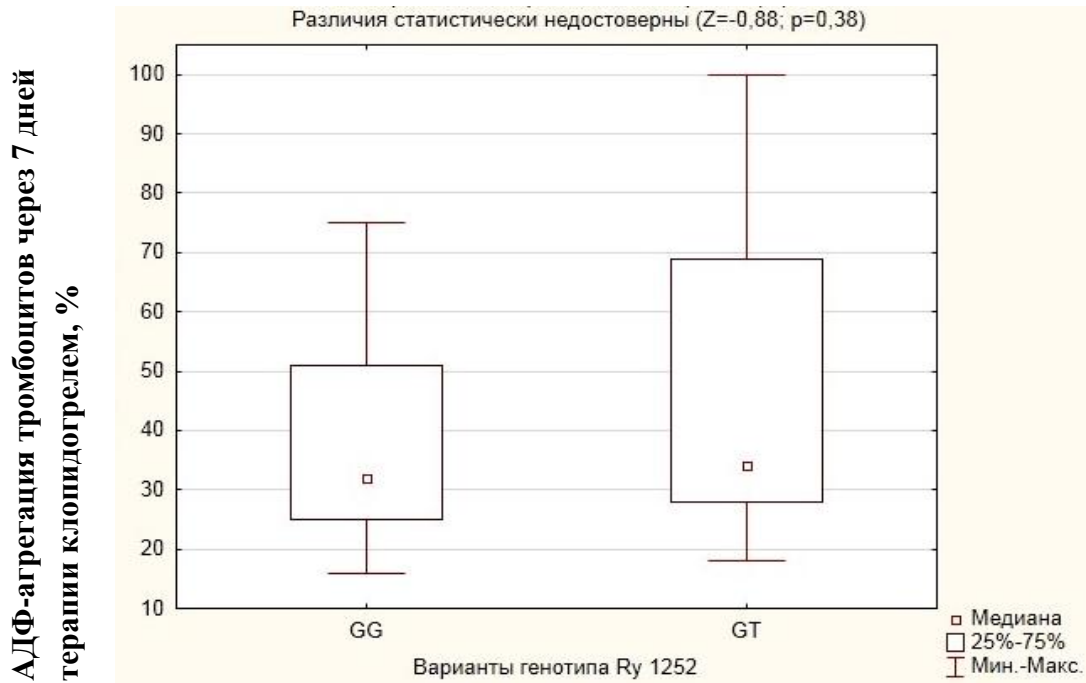


Рисунок 40. АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем и генотип P2Y12 гена



Рисунок 41. Резистентность к клопидогрелю и генотип P2Y12 гена

3.3.4. ОЦЕНКА СВЯЗИ ГЕНА ТРОМБОКСАН-СИНТЕТАЗЫ С ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬЮ К ТЕРАПИИ КЛОПИДОГРЕЛЕМ

Распространенность различных вариантов гена тромбосан-синтетазы *TBXAS1* была распределена следующим образом: AA генотип выявлен у 23 (9,2%) пациентов, AT - у 104 (41,8%) и TT – у 122 (49%) пациентов.

Не была выявлена взаимосвязь вышеперечисленных генотипов с показателем исходной АДФ-агрегацией тромбоцитов (рисунок 42).

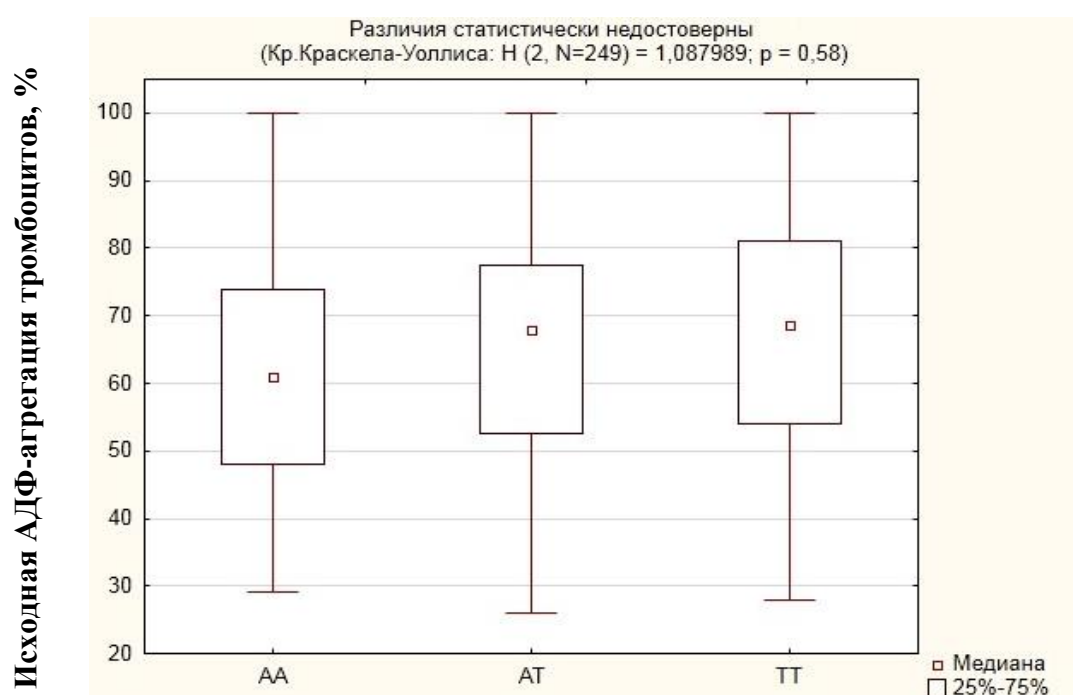


Рисунок 42. Исходная АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов и генотип *TBXAS1*

В то же время, AA генотип *TBXAS1* достоверно связан с агрегацией тромбоцитов через 7 дней и резистентностью к терапии клопидогрелем. Так, у пациентов с AA генотипом выявлена низкая остаточная реактивность тромбоцитов на фоне терапии клопидогрелем, в то время как у пациентов с AT и TT генотипами – высокая остаточная реактивность тромбоцитов (рисунок 43 и 44).

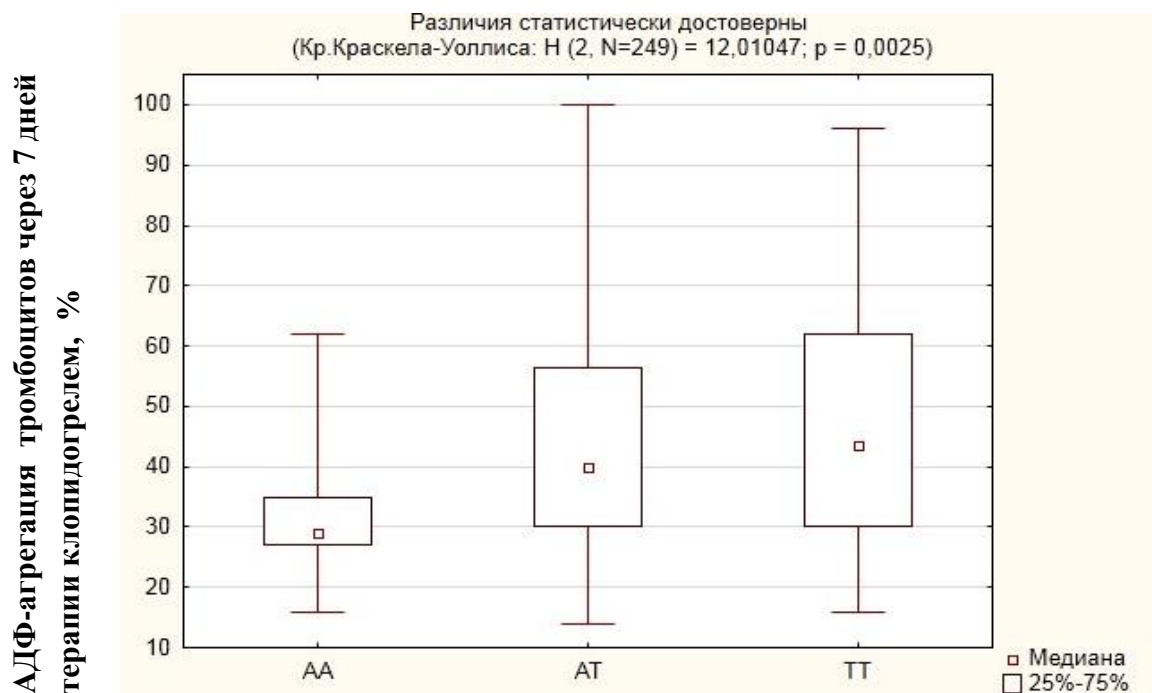


Рисунок 43. АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем и генотип *TBXAS1*

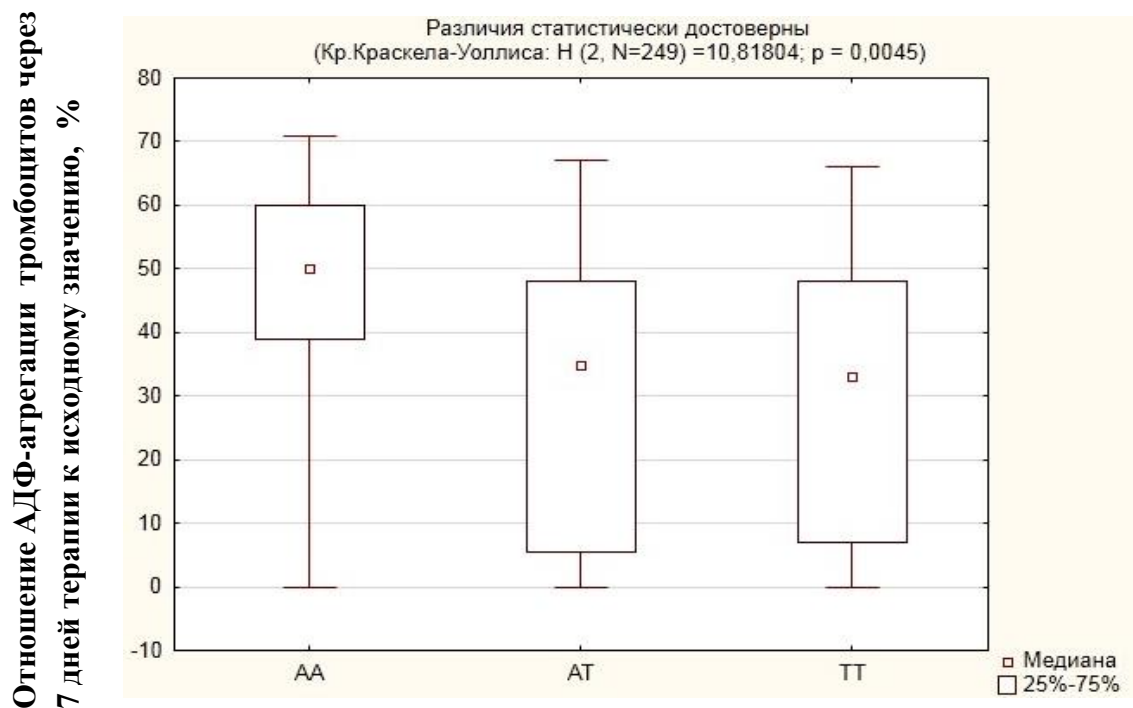


Рисунок 44. Резистентность к клопидогрелю и генотип *TBXAS1*

С учетом полученных данных, подтверждающих взаимосвязь различных генотипов *CYP2C19* гена и гена тромбоксан-синтетазы *TBXAS1* с агрегацией через 7 дней и резистентностью, проанализировано возможное влияние сочетания

этих генотипов. Пациенты были разделены на следующие группы: CYP2C19*2 GG+TBXAS1 AA, CYP2C19*2 GAAA+TBXAS1 AA, CYP2C19*2 GG+TBXAS1 ATTT и CYP2C19*2 GAAA+TBXAS1 ATTT.

Не было получено достоверной взаимосвязи различных сочетаний генотипов с показателем исходной АДФ-агрегации (рисунок 45).

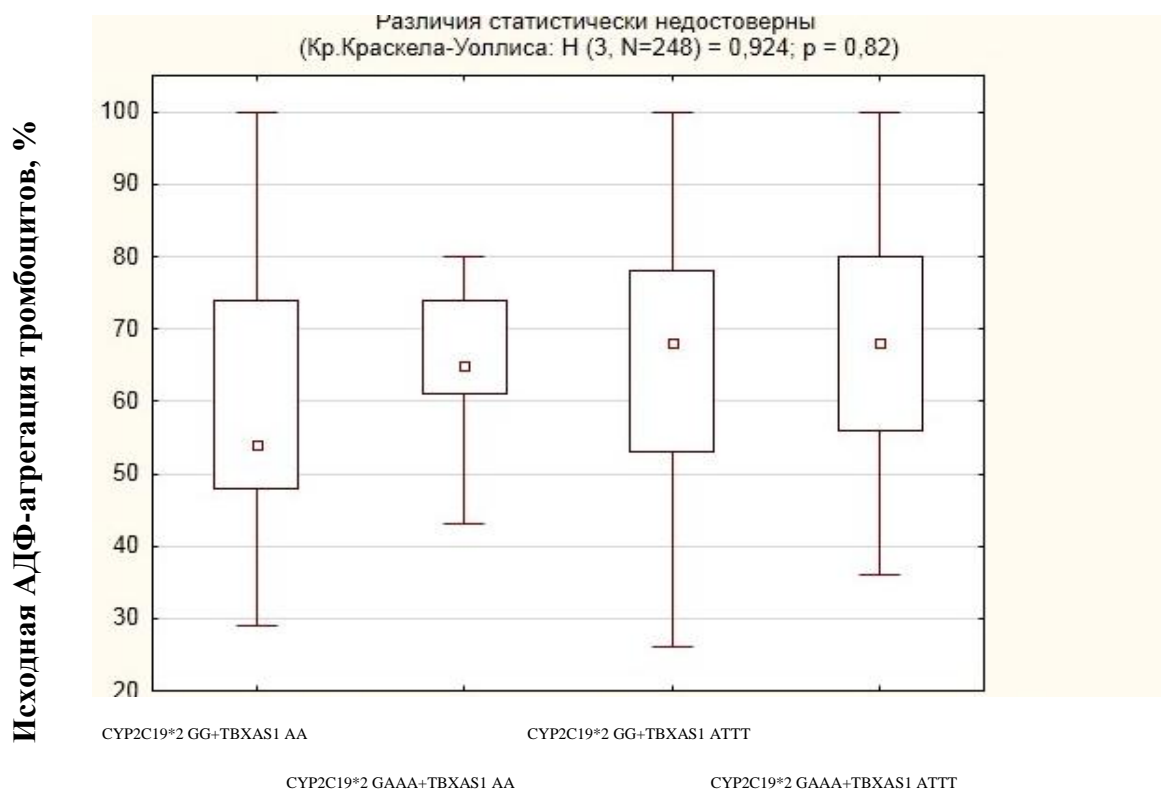


Рисунок 45. Исходная АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов при сочетании генотипов CYP2C19 и TBXAS1 генов

Однако при анализе показателя АДФ-агрегации через 7 дней и резистентности выявлено достоверное различие между вышеперечисленными группами генотипов. Пациенты, имеющие сочетание CYP2C19*2 GAAA+TBXAS1 AA имели самый низкий уровень остаточной агрегации на фоне терапии клопидогрелем ($p < 0,01$) и среди них достоверно ($p < 0,01$) было меньше всего резистентных пациентов (рисунок 46, 47).

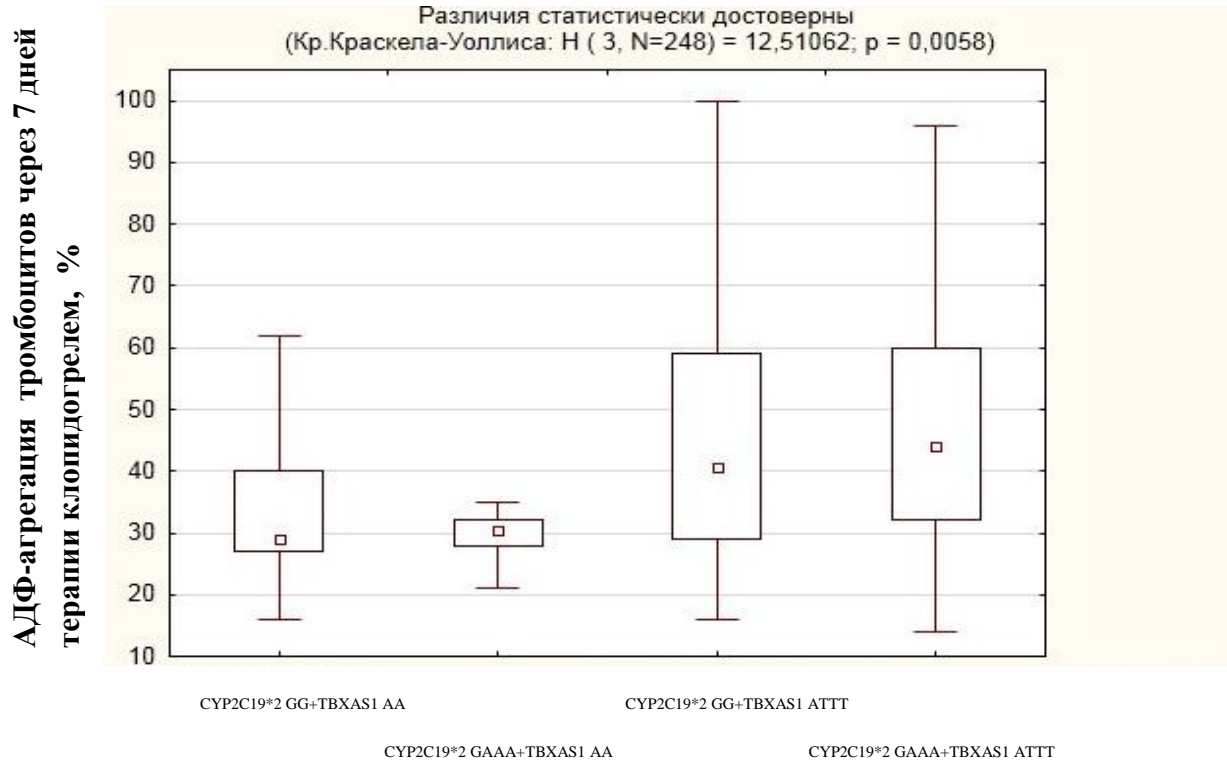


Рисунок 46. АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем при сочетании генотипов CYP2C19 и TBXAS1 генов



Рисунок 47. Резистентность к клопидогрелю и сочетание генотипов CYP2C19 и TBXAS1 генов

Для оценки взаимосвязи клинических и генетических факторов с остаточной реактивностью тромбоцитов выполнен многофакторный анализ. На первом этапе при однофакторном анализе (ANOVA) выявлены следующие факторы, влияющие на остаточную реактивность тромбоцитов: нозологическая форма, статус углеводного обмена и генотип тромбоксан-синтетазы.

При включении вышеуказанных трех показателей в многофакторный дисперсионный анализ (MANOVA) они достоверно сохраняют самостоятельную значимость.

3.4. ОЦЕНКА СВЯЗИ РАЗЛИЧНЫХ ФАКТОРОВ С РИСКОМ ВОЗНИКНОВЕНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

За 12 месяцев наблюдения выявлено 38 (15,2%) случаев ПКТ, среди которых 10 (4%) случаев смертельного исхода; за период наблюдения в 18 месяцев количество случаев ПКТ у пациентов возросло до 51 (20,4%), среди которых 11 (4,4%) смертей.

Было доказано, что возникновение сердечно-сосудистых событий (сердечно-сосудистая смерть, развитие нефатального инфаркта миокарда, случаи ранней постинфарктной стенокардии и тромбоз стента), достоверно чаще возникает у пациентов, резистентных к терапии клопидогрелем ($p < 0,0001$).

При расчете динамики агрегации через 7 дней терапии клопидогрелем (см. главу материалы и методы) пациенты были разделены на резистентных и чувствительных. Риск возникновения первичной конечной точки (ПКТ) достоверно был выше в группе резистентных пациентов. Так, средний показатель снижения АДФ-агрегации через 7 дней у пациентов без первичной конечной точки был $33,7 \pm 21\%$, в то время как у пациентов с ПКТ – $7,7 \pm 15,7\%$. Среди 212 пациентов без сердечно-сосудистых событий за 12 месяцев наблюдения, 52 (22%) оказались резистентными к терапии клопидогрелем, а среди 38 пациентов с

первичной конечной точкой – 13 (81,2%) были нечувствительны к антитромбоцитарной терапии (таблица 10).

Таблица 10.

Резистентность и ПКТ

Первичная конечная точка	Средняя АДФ-агрегация	Число больных	Количество (доля) резистентных, n
Пациенты без ПКТ	33,7±21%	212	52 (22%)
Пациенты с ПКТ	7,7±15,7%	38	13 (81,2%)
Всего	32,0±21,6%	250	65 (26%)

В ходе анализа была установлена достоверная ($p < 0,0001$) взаимосвязь остаточной реактивности тромбоцитов на фоне терапии клопидогрелем с риском возникновения ПКТ в течение 12 месяцев наблюдения (рисунок 48).

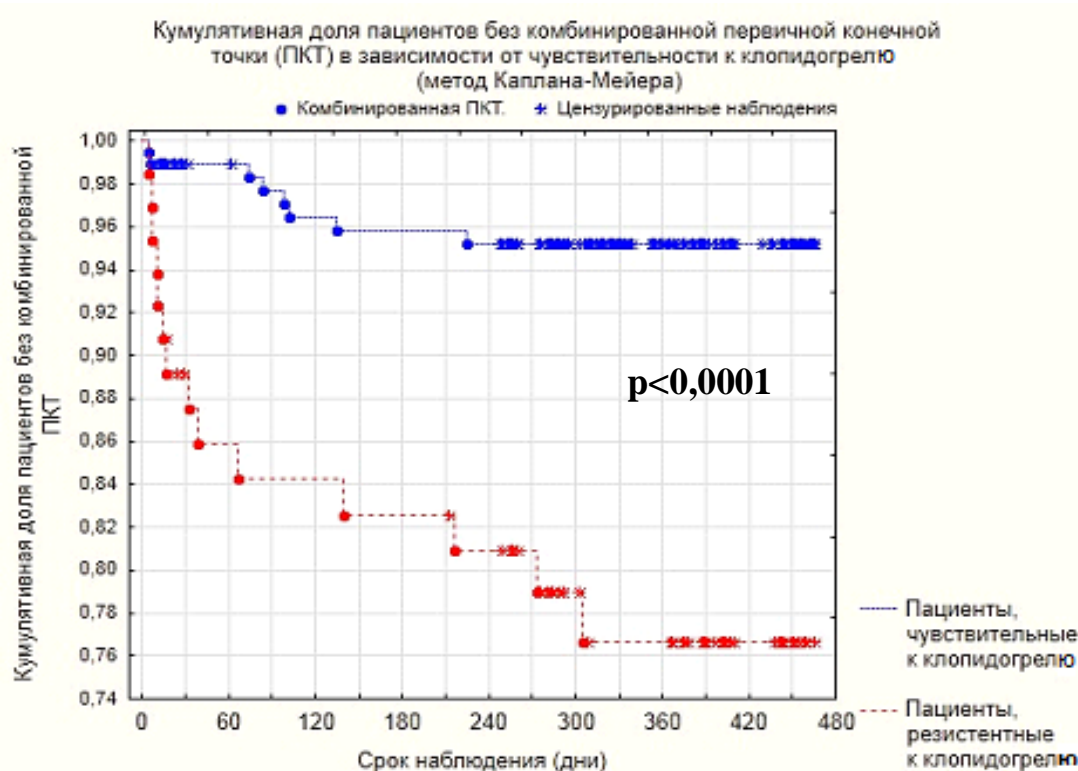


Рисунок 48. Оценка связи резистентности с риском возникновения ПКТ в течение 12 месяцев наблюдения

При анализе сердечно-сосудистых исходов в течение 12 месяцев в различных клинико-демографических подгруппах не была получена достоверная взаимосвязь ни с нозологической формой пациентов (рисунок 49), ни с полом (рисунок 50), ни со статусом курения (рисунок 51) или с массой тела (рисунок 52).

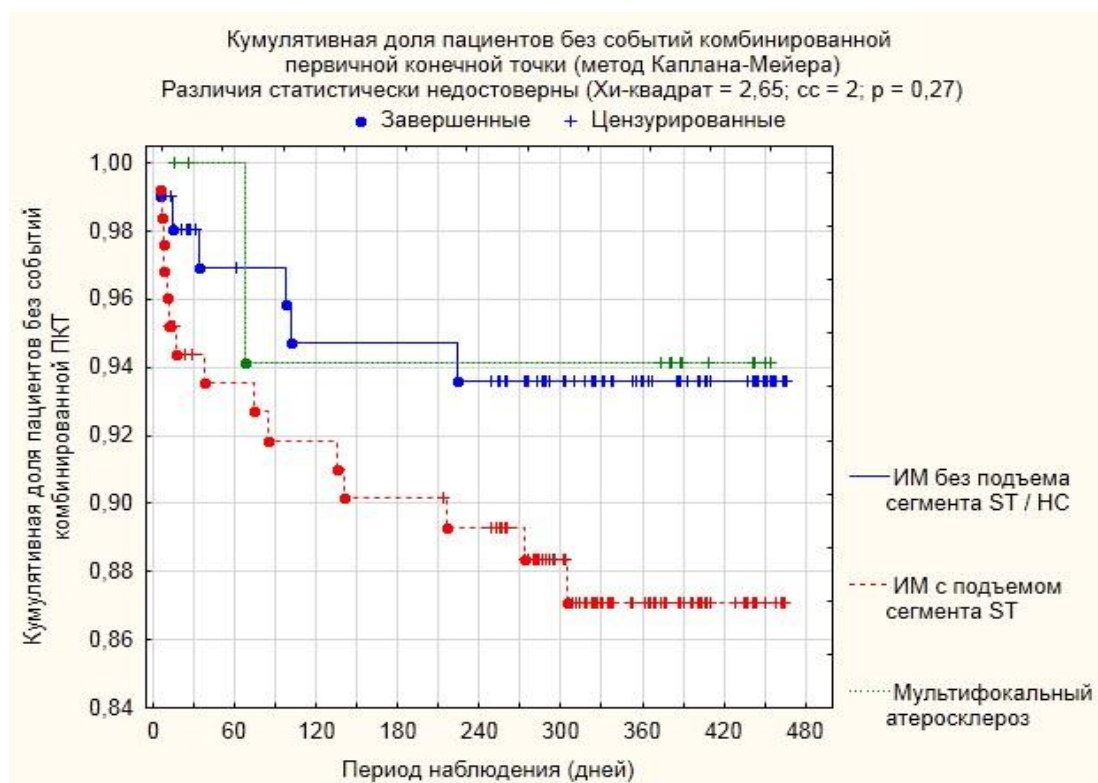


Рисунок 49. Оценка связи нозологической формы с риском возникновения ПКТ

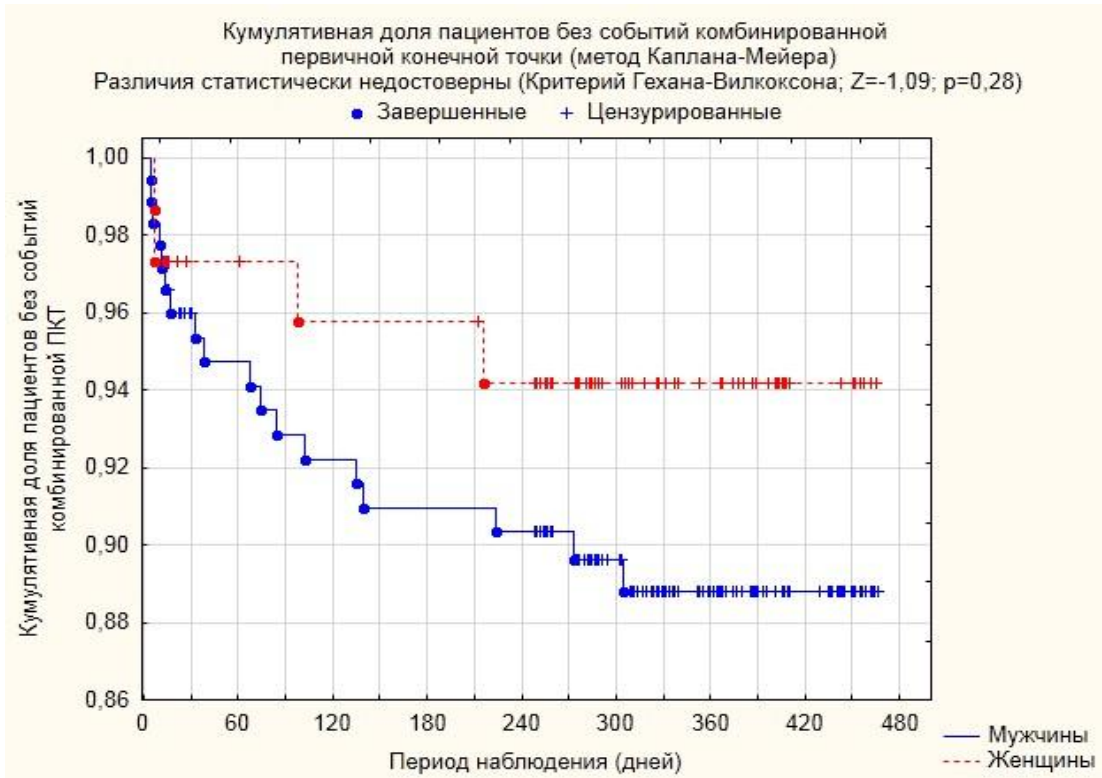


Рисунок 50. Оценка связи пола с риском возникновения ПКТ

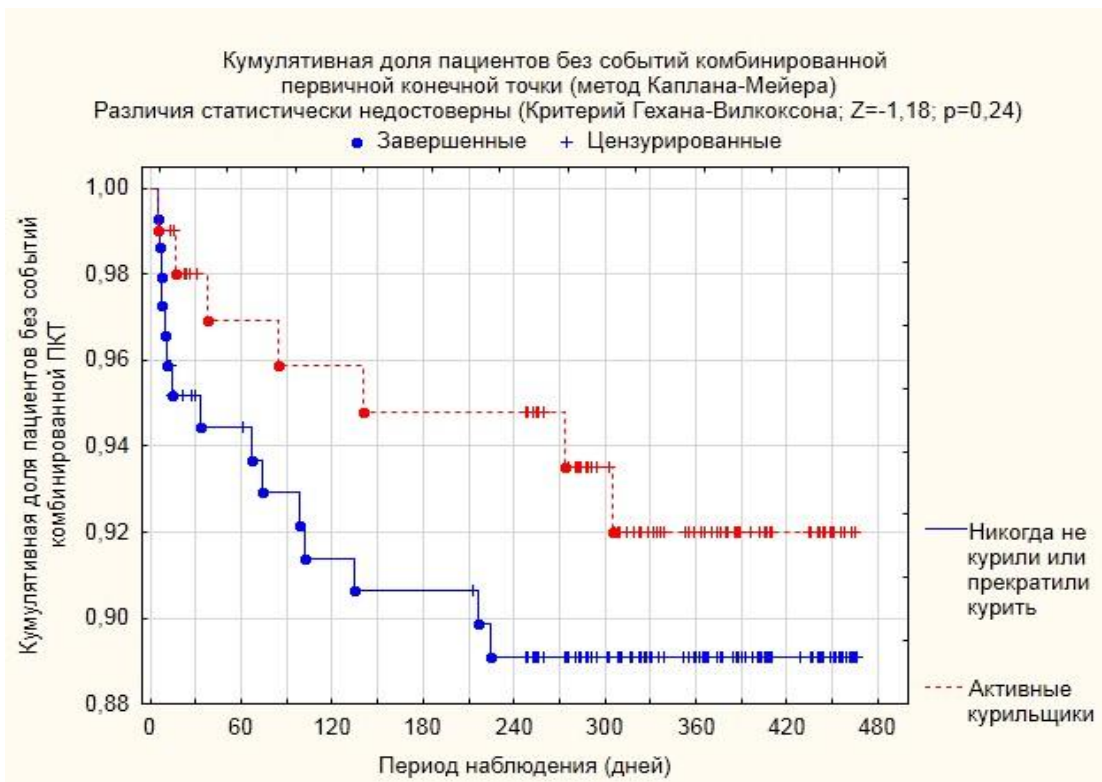


Рисунок 51. Оценка связи статуса курения с риском возникновения ПКТ

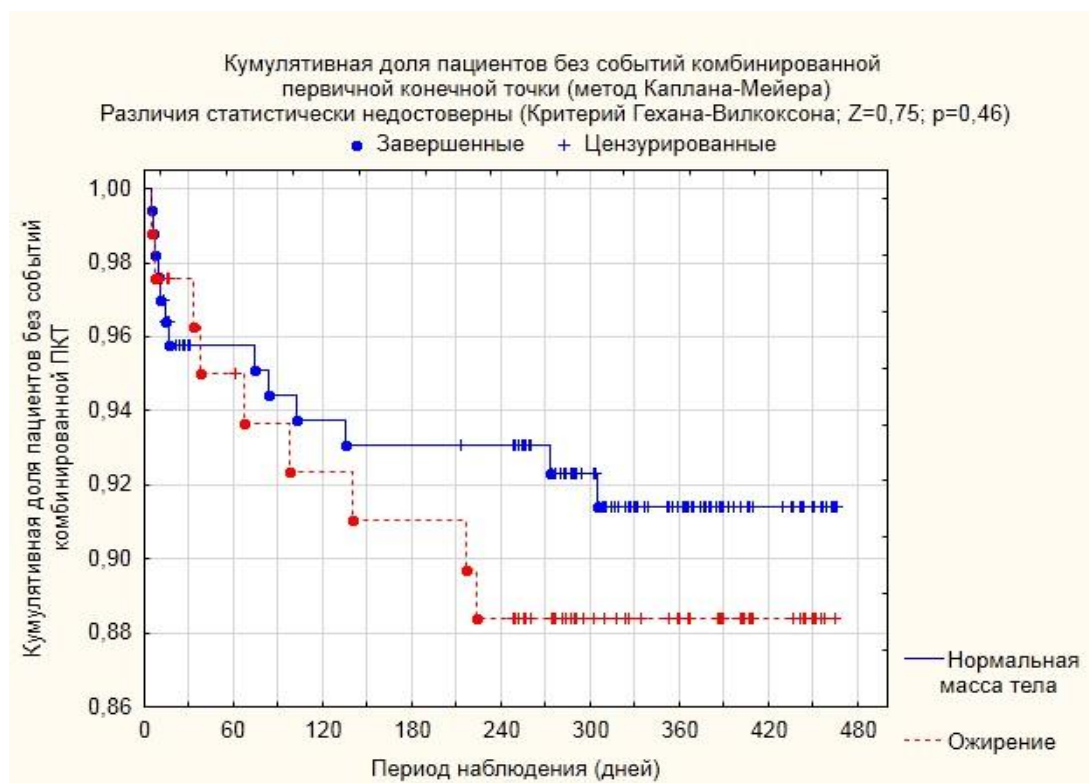


Рисунок 52. Оценка связи массы тела с риском возникновения ПКТ

Как с агрегацией тромбоцитов через 7 дней и резистентностью, так и с риском возникновения ПКТ в течение 12 месяцев связан статус углеводного обмена, $p=0,049$. У пациентов с нормальным углеводным обменом достоверно реже возникали сердечно-сосудистые события, чем у пациентов, страдающих сахарным диабетом (рисунок 53).

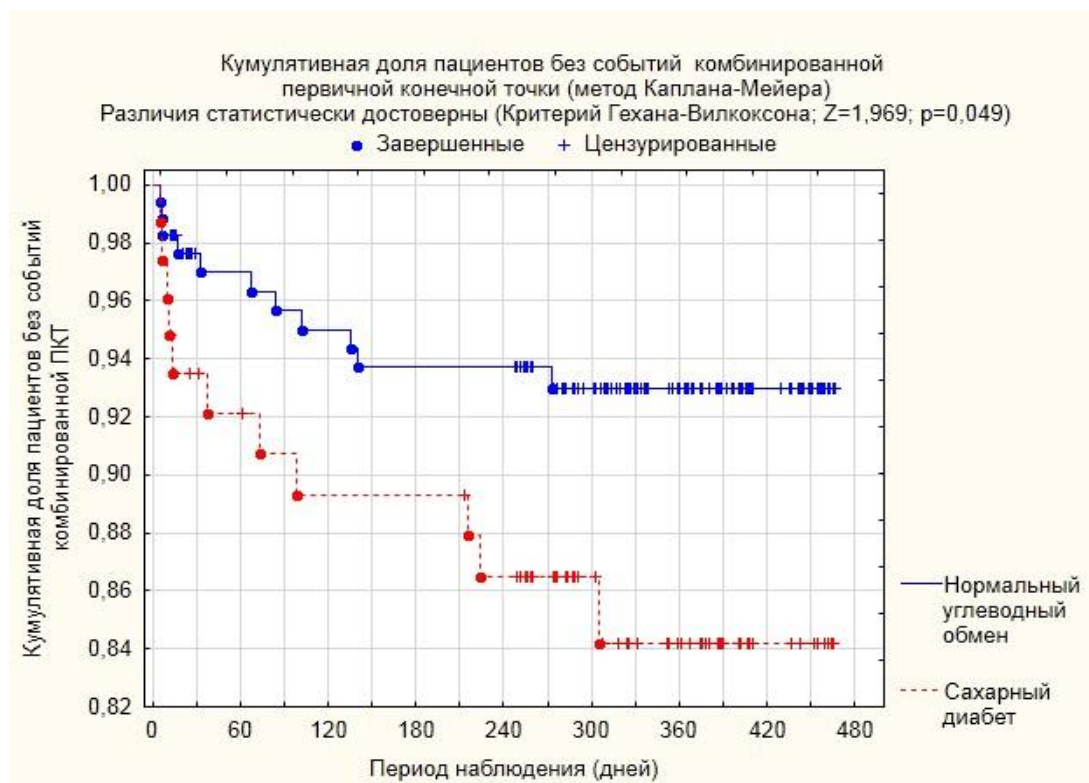


Рисунок 53. Оценка связи статуса углеводного обмена с риском возникновения ПКТ за 12 месяцев

Такая же тенденция достоверно ($p=0,04$) сохранялась и при анализе сердечно-сосудистых событий за 18 месяцев наблюдения (рисунок 54).

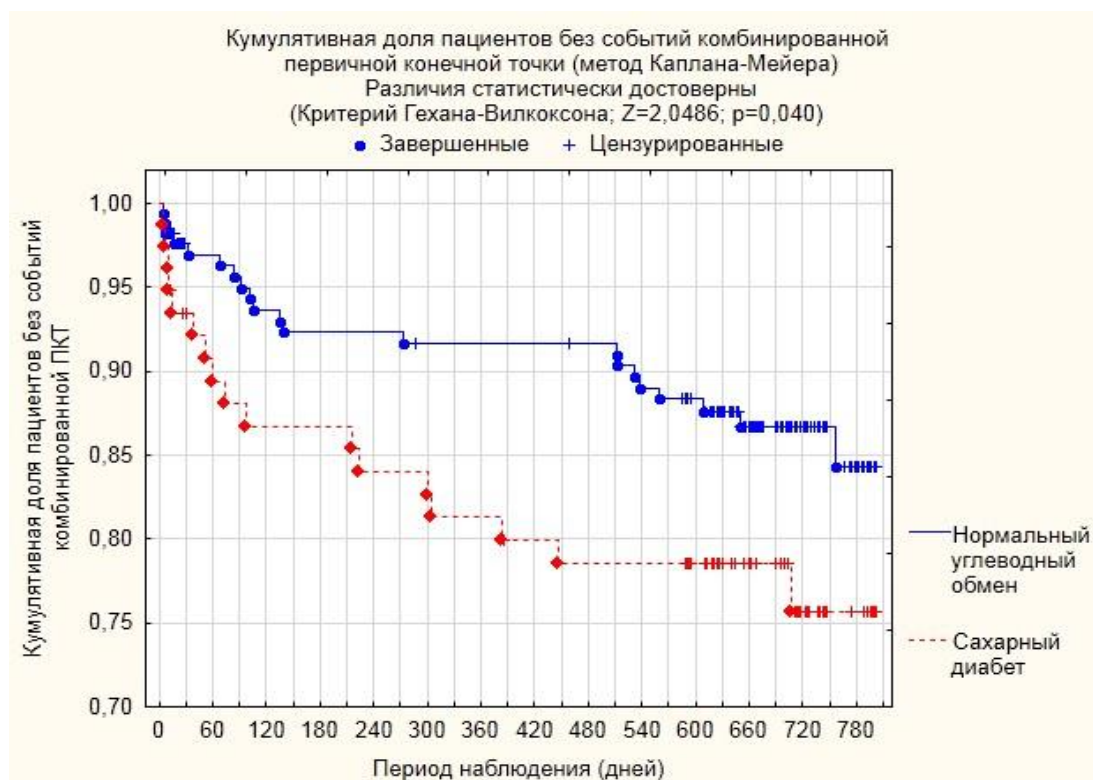


Рисунок 54. Оценка связи статуса углеводного обмена с риском возникновения ПКТ за 18 месяцев

При анализе с помощью регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса, установлено, что риск развития ПКТ на 56,1% ниже у пациентов с отсутствием нарушений углеводного обмена по сравнению с пациентами с сахарным диабетом (отношение рисков [HR] = 0,439, 95% ДИ 0,194-0,996; $p=0,049$).

В данном исследовании было показано, что различные генотипы ABCB1 гена достоверно не ассоциированы с риском развития сердечно-сосудистых событий в течение года (рисунок 55).

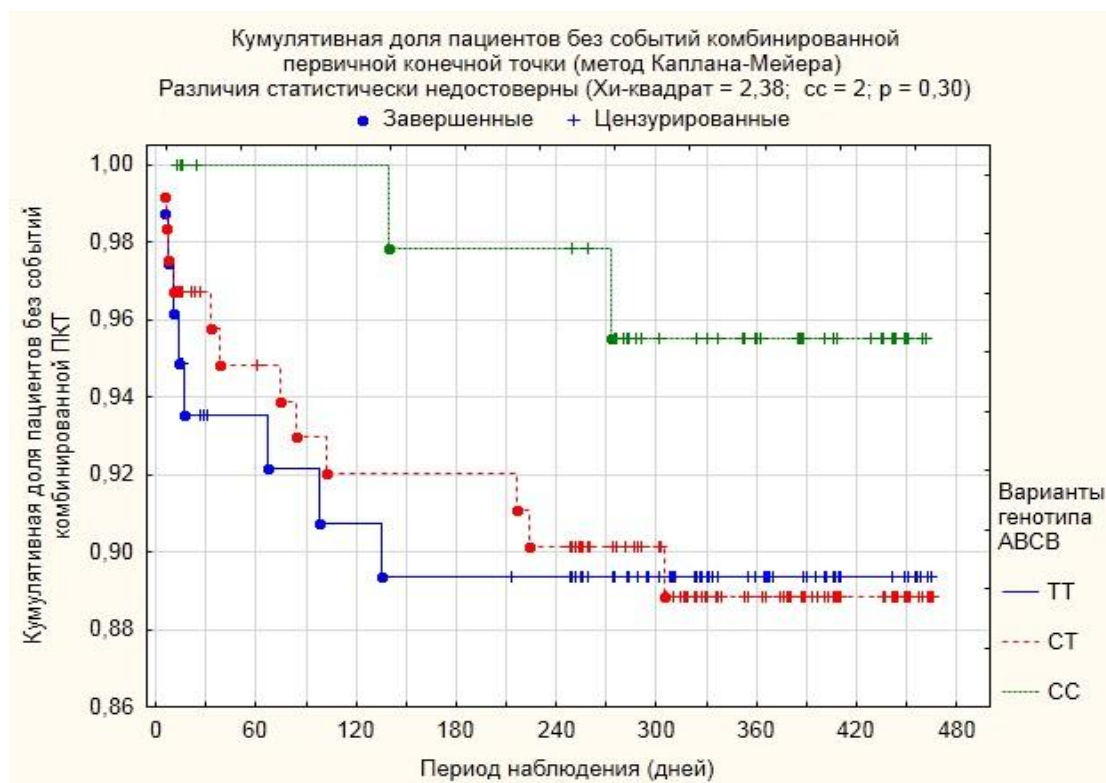


Рисунок 55. Оценка связи генотипа ABCB1 гена с риском возникновения ПКТ за 12 месяцев

Наличие аллеля с утратой функции CYP2C9 гена достоверно ассоциировано с риском развития первичной конечной точки, $p=0,046$. Так среди пациентов с *1/*1 «диким» типом CYP2C9 гена 93% были без сердечно-сосудистых событий, в то время как среди пациентов с аллелем с утратой функции только 84,6% пациентов (рисунок 56).

Такая же тенденция на уровне достоверности $p<0,05$ сохранялась при анализе риска возникновения ПКТ за 18 месяцев наблюдения (рисунок 57).

При анализе с помощью регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса, установлено, что риск развития ПКТ достоверное ниже у пациентов с «диким» типом генотипа CYP2C9 по сравнению с пациентами со сниженной активностью CYP2C9 (отношение рисков [HR] = 0,437, 95% ДИ 0,193-0,991; $p=0,048$).

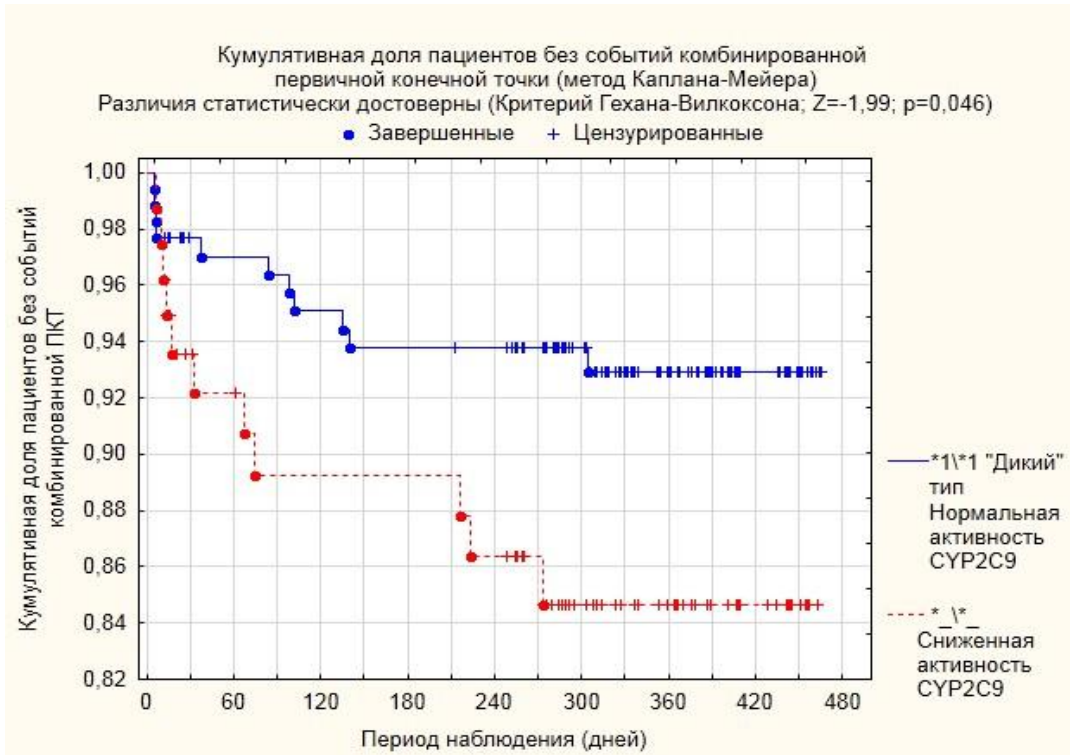


Рисунок 56. Оценка связи генотипа CYP2C9 гена с риском возникновения ПКТ за 12 месяцев

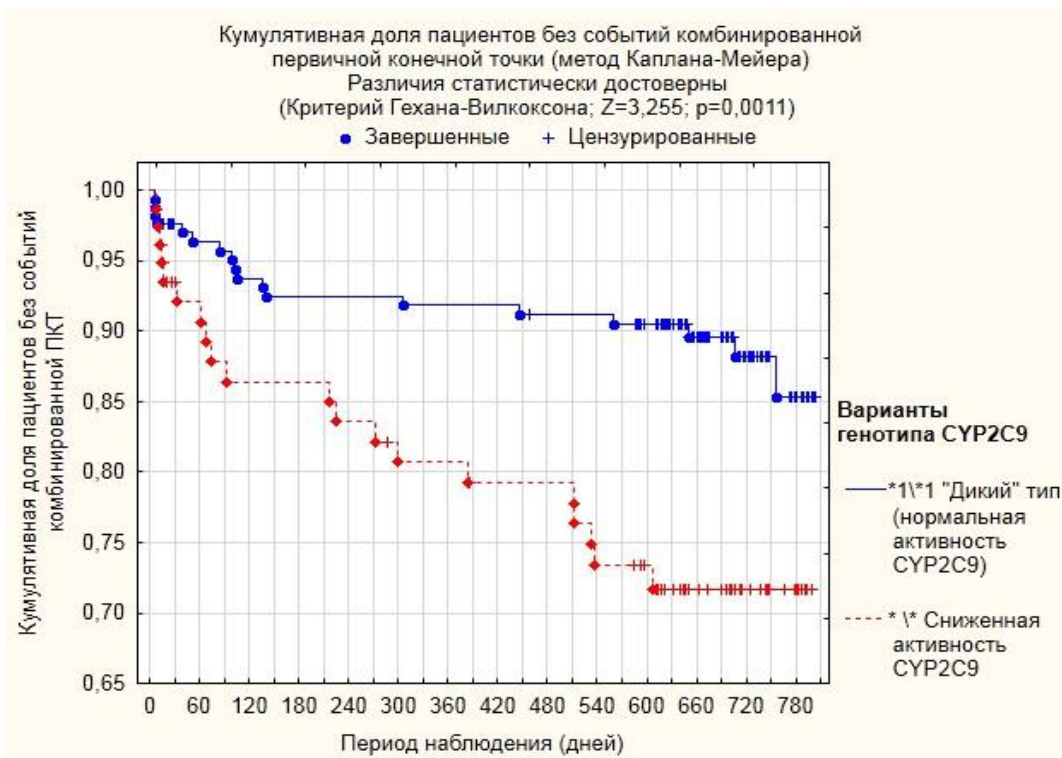


Рисунок 57. Оценка связи генотипа CYP2C9 гена с риском возникновения ПКТ за 18 месяцев

Широко известный факт взаимосвязи медленного варианта AA генотипа CYP2C19 гена с риском развития сердечно-сосудистых событий, не получил достоверного отражения в нашей работе из-за небольшого количества данного генотипа в популяции исследуемых пациентов: AA генотип CYP2C19*2 цитохрома P-450 выявлен только у 9 (3,6%) пациентов.

Не была получена достоверная взаимосвязь GG или GT генотипа P2Y12 гена с риском развития сердечно-сосудистых событий за 12 месяцев наблюдения (рисунок 58).

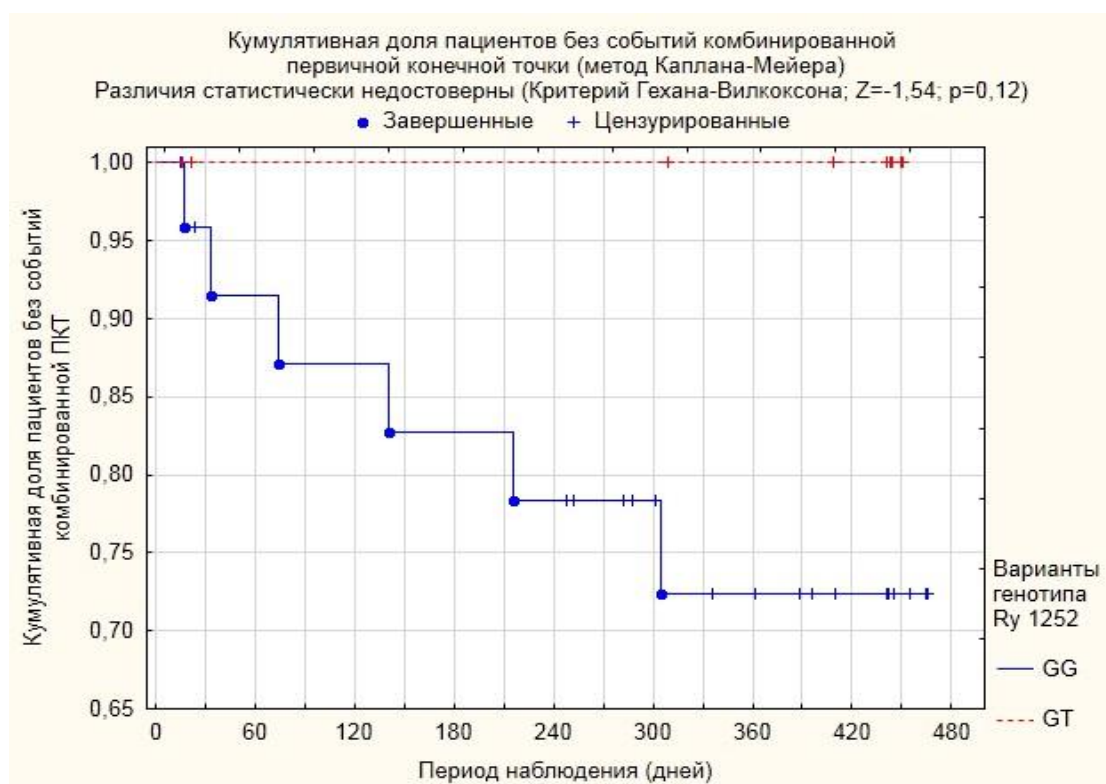


Рисунок 58. Оценка связи генотипа P2Y12 гена с риском возникновения ПКТ

При анализе сердечно-сосудистых исходов за 12 месяцев наблюдения не выявлено достоверной ($p=0,11$) связи AA или TT генотипа гена тромбосан-синтетазы с риском возникновения первичной конечной точки.

Через 18 месяцев было получено достоверное различие ($p<0,05$) между пациентами с AA и AT-TT генотипами TBXAS1 в отношении риска возникновения первичной конечной точки (рисунок 59). Абсолютный риск

возникновения сердечно-сосудистых событий у пациентов с АТ и ТТ генотипами *TBXAS1* гена составляет 14,2 %, в то время как, у пациентов с АА генотипом – 0%. Расчет относительного риска между данными группами невозможен в связи с тем, что в группе пациентов с АА генотипом не было ни одного сердечно-сосудистого события.

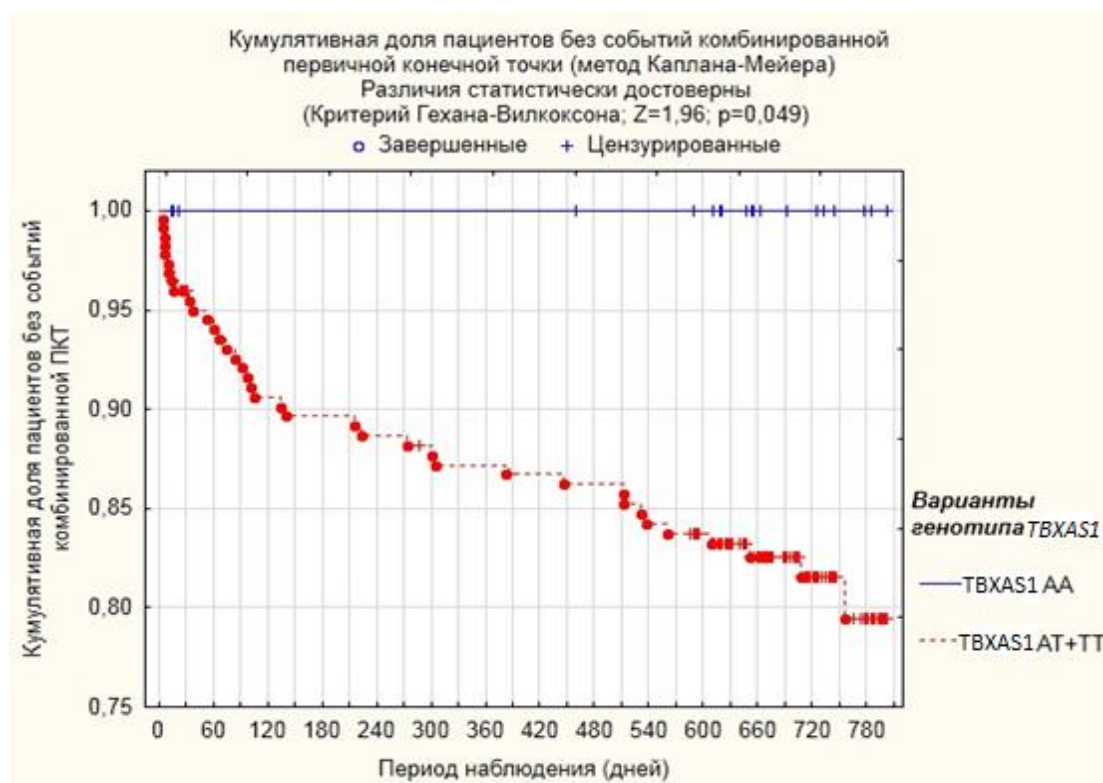


Рисунок 59. Оценка связи генотипов гена тромбоксан-синтетазы с риском возникновения ПКТ за 18 месяцев

При попытке различных комбинаций клинико-демографических показателей и генетических вариантов пациентов, была получена достоверная связь только касательно генотипов *CYP2C9* гена и *TBXAS1* с риском возникновения ПКТ за 12 и 18 месяцев наблюдения.

Анализ сердечно-сосудистых событий за 12 месяцев у пациентов с различным генотипом CYP2C9 гена и статусом курения (рисунок 60) показал, что среди никогда не куривших пациентов с аллелем с утратой функции самый низкий процент пациентов без ПКТ (73%) по сравнению (93%) с курильщиками, имеющими такой же генотип, $p < 0,05$. Такая же тенденция сохраняется и в течение 18 месяцев наблюдения (рисунок 61).

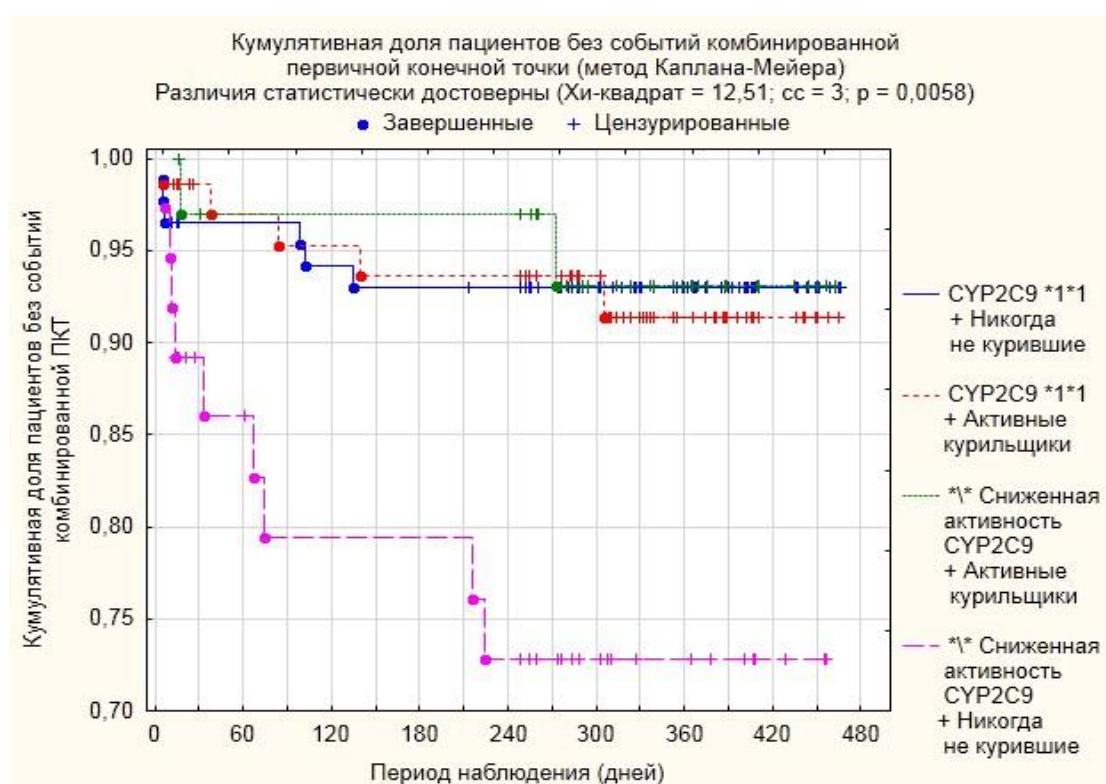


Рисунок 60. Оценка риска возникновения ПКТ за 12 месяцев при сочетании генотипов CYP2C9 гена и статуса курения

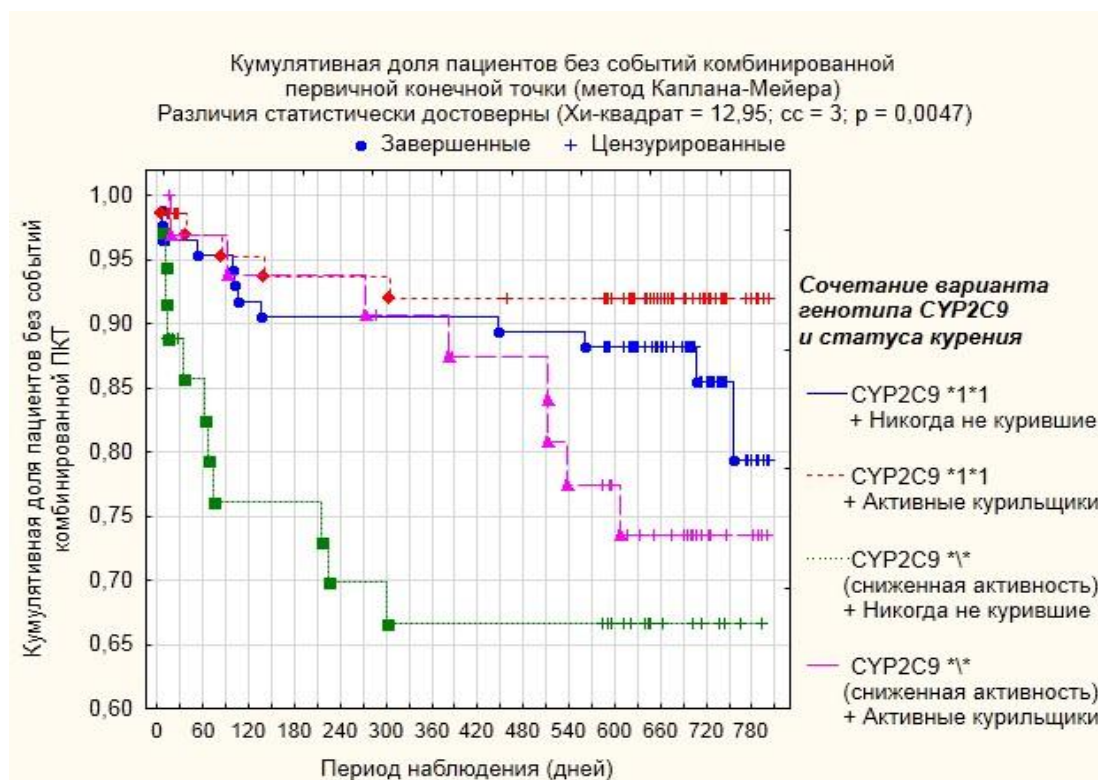


Рисунок 61. Оценка риска возникновения ПКТ за 18 месяцев при сочетании генотипов CYP2C9 гена и статуса курения

Сердечно-сосудистые события у пациентов с «диким» типом CYP2C9 гена и нормальным углеводным обменом за 12 месяцев, возникали в 5,7% случаев, а у пациентов, страдающих сахарным диабетом – в 12%. У пациентов с аллелем с утратой функции CYP2C9 гена без диабета доля пациентов без ПКТ составила 89%, в то время как у пациентов с сахарным диабетом всего 75%, $p < 0,05$ (рисунок 62).

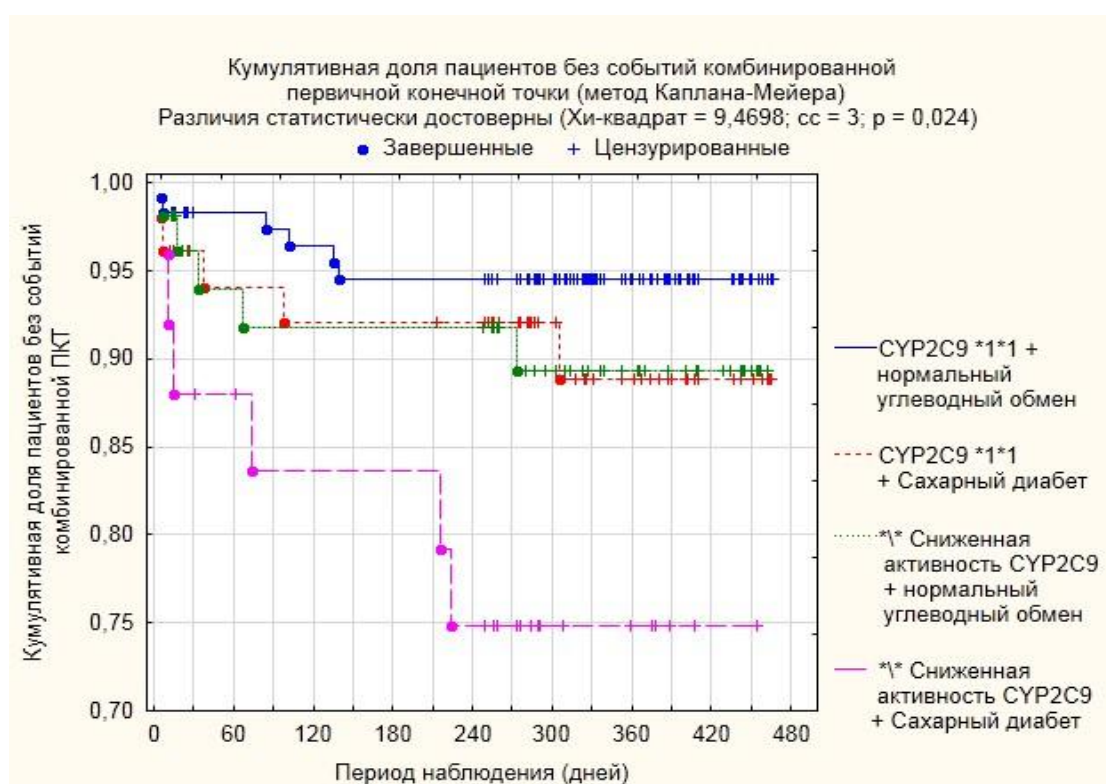


Рисунок 62. Оценка риска возникновения ПКТ за 12 месяцев при сочетании генотипа CYP2C9 гена и статуса углеводного обмена

Такая же тенденция сохранялась и за период наблюдения в 18 месяцев: доля пациентов без случаев ПКТ среди больных с аллелем с утратой функции *2*3 CYP2C9 гена, страдающих сахарным диабетом составила всего 63%, $p=0,001$ (рисунок 63).

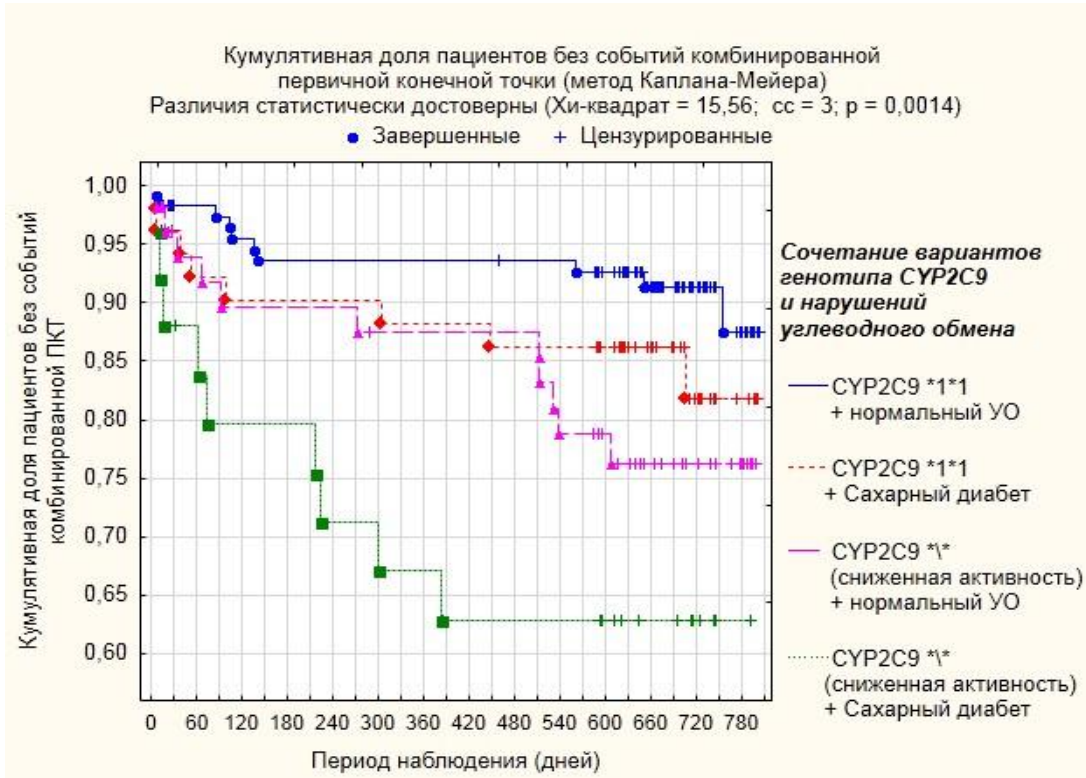


Рисунок 63. Оценка риска возникновения ПКТ за 18 месяцев при сочетании генотипа CYP2C9 гена и статуса углеводного обмена

Вне зависимости от количества факторов риска развития ИБС, доля пациентов без сердечно-сосудистых исходов за 12 месяцев наблюдения среди больных с аллелем с потерей функции CYP2C9 гена была ниже 82,5%-88%, чем среди пациентов с «диким» типом 91-96%, $p=0,09$. Аналогичные данные были получены и за 18 месяцев, но с увеличением периода наблюдения различия стали достоверными, $p<0,05$ (рисунок 64).

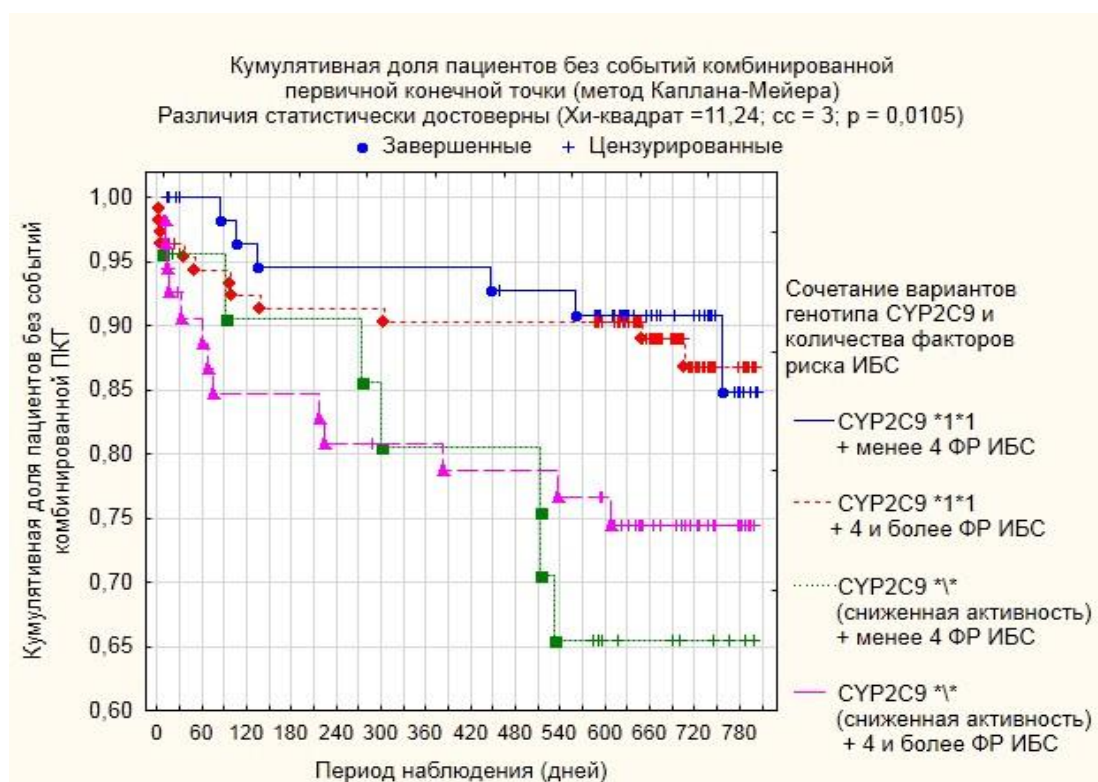


Рисунок 64. Оценка риска возникновения ПКТ за 18 месяцев при сочетании генотипа CYP2C9 гена и количества факторов риска развития ИБС

В данном исследовании выявлено, что пациенты с AA генотипом TBXAS1 гена в 100% случаев не имели ПКТ вне зависимости от комбинации со статусом углеводного обмена, курением или количеством факторов риска развития ИБС.

Так у пациентов с AA генотипом гена TBXAS1 и нормальным углеводным обменом или страдающих сахарным диабетом доля пациентов без сердечно-сосудистых событий за 18 месяцев (рисунок 65) составила 100%, в то время как у

пациентов с ТТ генотипом и нормальным углеводным обменом 79%, а страдающих сахарным диабетом 71%, $p=0,056$.

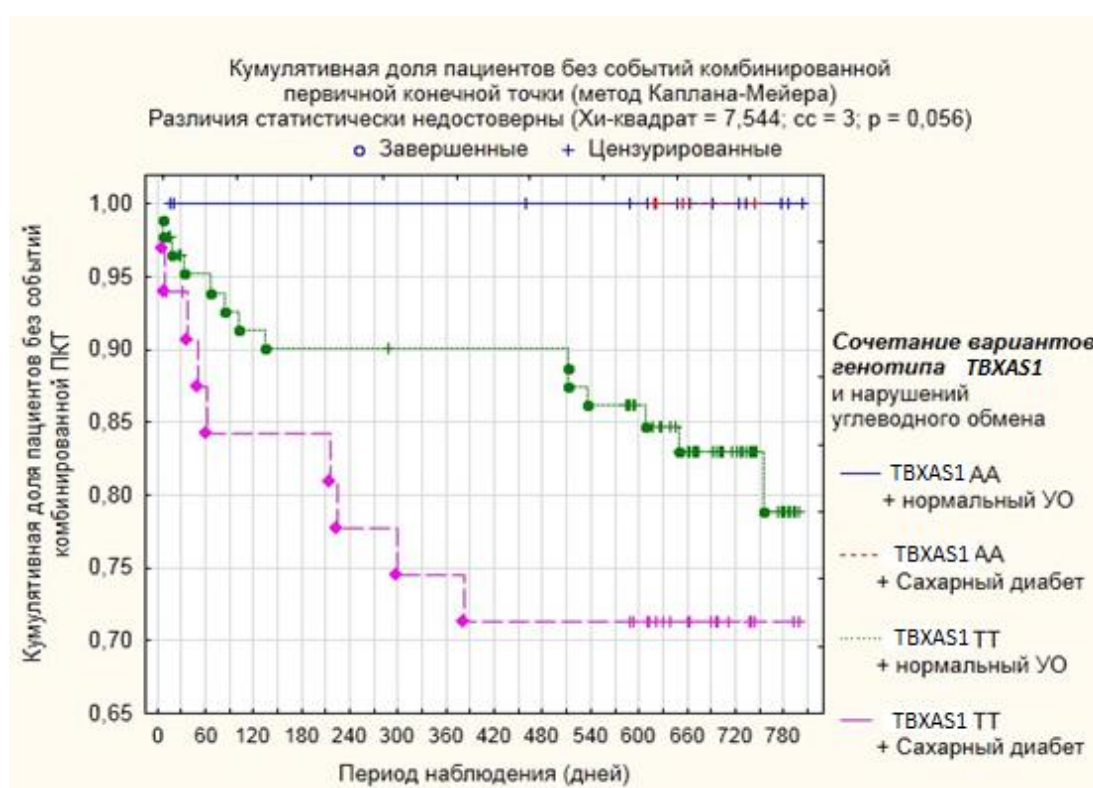


Рисунок 65. Оценка риска возникновения ПКТ за 18 месяцев при сочетании генотипа TBXAS1 и статуса углеводного обмена

Как курящие пациенты, так и не курящие с АА генотипом TBXAS1 не имели сердечно-сосудистых исходов в течение 18 месяцев наблюдения. Случаи ПКТ среди пациентов с ТТ генотипом, которые курили составила 18%, а среди не куривших пациентов 35%, $p=0,09$ (рисунок 66).

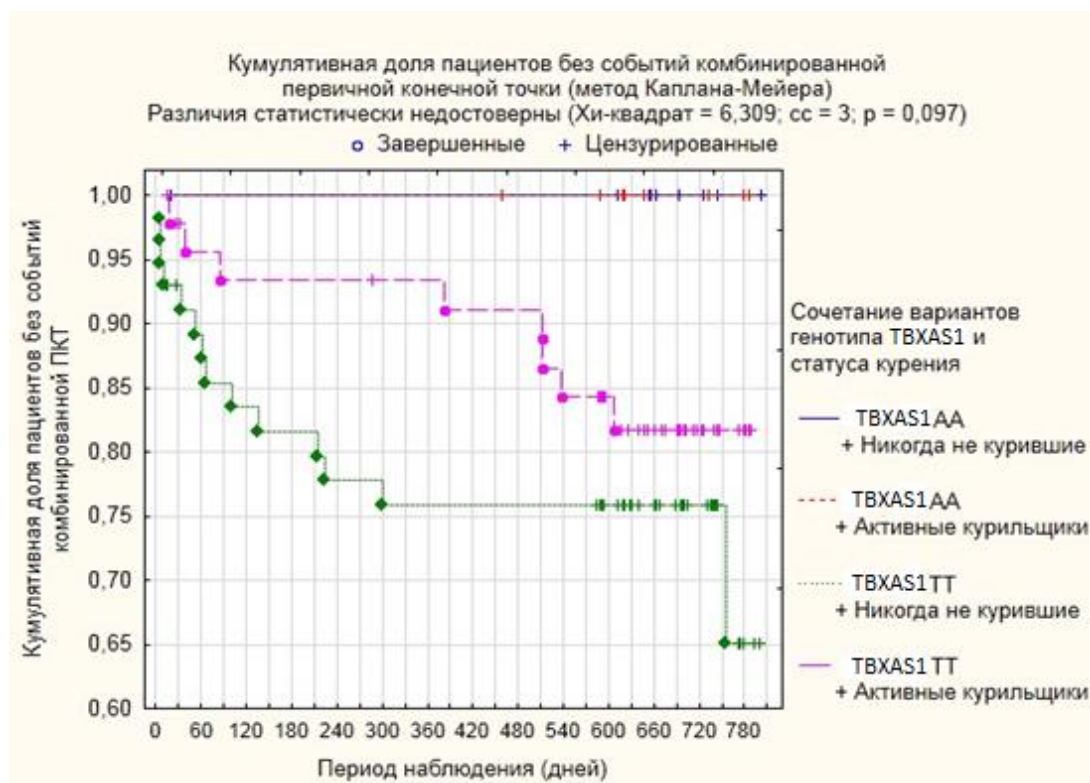


Рисунок 66. Оценка риска возникновения ПКТ за 18 месяцев при сочетании генотипа TBXAS1 и статуса курения

Вне зависимости от количества факторов риска ИБС пациенты с AA генотипом TBXAS1 не имели ни одного сердечно-сосудистого исхода, в то время как доля пациентов без ПКТ с TT генотипом составила 75% при наличии менее 4 факторов риска и 77% имея 4 и более факторов риска развития ИБС, $p=0,18$ (рисунок 67).

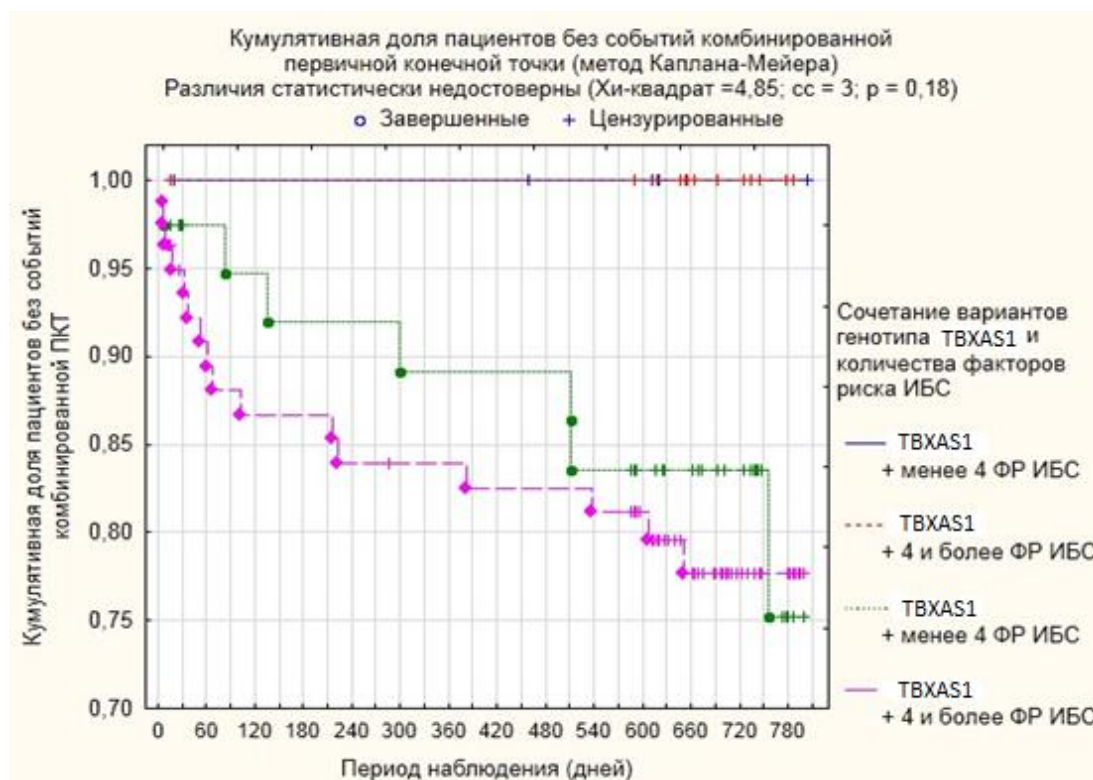


Рисунок 67. Оценка риска возникновения ПКТ за 18 месяцев при сочетании генотипа TBXAS1 и количества факторов риска ИБС

При анализе комбинаций различных генотипов двух наиболее значимых генов CYP2C9 и TBXAS1 было выявлено, что больше всего (79) в исследуемой популяции пациентов с *1*1 диким типом CYP2C9 и TT генотипом TBXAS1. Основные комбинации представлены в таблице 11.

Таблица 11.

Сочетание генотипов TBXAS1 и CYP2C9 генов, $p=0,5$

CYP2C9	TBXAS1 1A/A	TBXAS1 1A/T	TBXAS1 1T/T	Число пациентов, n
*1*1	19	72	79	170
*1*2	3	23	23	49
*1*3	1	7	15	23
*2, *3	0	0	2	2
*3*3	0	1	0	1
*2*2	0	1	3	4
Всего	23	104	122	249

Доля пациентов без случаев ПКТ с АА генотипом ТВХАС1 независимо от варианта СYP2C9 гена составила 100%. У пациентов с АТ-ТТ генотипами ТВХАС1 гена и *1*1 СYP2C9 генотипом сердечно-сосудистые события за 12 месяцев возникали у 8% пациентов, а при сочетании АТ-ТТ с генотипом со сниженной активностью СYP2C9 – у 16%, $p=0,12$.

Такая же закономерность в отношении риска возникновения ПКТ наблюдалась и в течение 18 месяцев наблюдения, но с увеличением периода наблюдения различия стали достоверными, $p<0,05$ (рисунок 68).

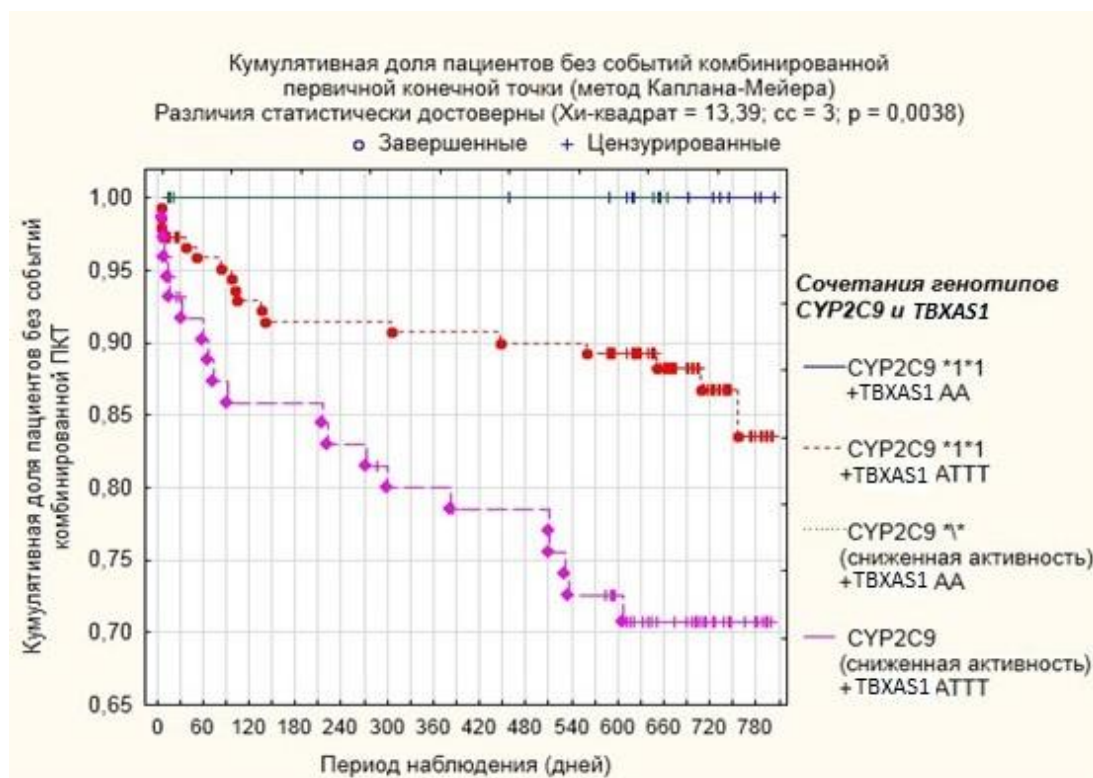


Рисунок 68. Оценка риска возникновения ПКТ за 18 месяцев при сочетании генотипов ТВХАС1 и СYP2C9 генов

Анализ комбинаций различных генотипов генов ТВХАС1 и СYP2C9*2 представлен в таблице 12. Больше всего (94) пациентов были с ТТ генотипом ТВХАС1 и GG генотипом СYP2C9*2 гена, $p=0,9$.

Таблица 12.

Сочетание генотипов TBXAS1 и CYP2C19*2 генов

TBXAS1 A/T	CYP2C19*2 GA	CYP2C19*2 GG	CYP2C19*2 AA	Число пациентов, n
AA	5	17	1	23
AT	25	74	4	103
TT	24	94	4	122
Всего	54	185	9	248

Риск возникновения сердечно-сосудистых событий при комбинации генотипов TBXAS1 и CYP2C19*2 генов зависит только от наличия AA генотипа гена тромбоксан-синтетазы. У пациентов с GG и GA-AA CYP2C19*2 гена в сочетании с AA генотипом TBXAS1 не зарегистрировано ни одного случая ПКТ. Доля пациентов без сердечно-сосудистых событий среди пациентов с AT-TT TBXAS1 и GA-AA CYP2C19*2 составила 92%, а среди пациентов с AT-TT TBXAS1 и GG CYP2C19*2 генотипом – 88,4%, $p=0,4$ (рисунок 69).

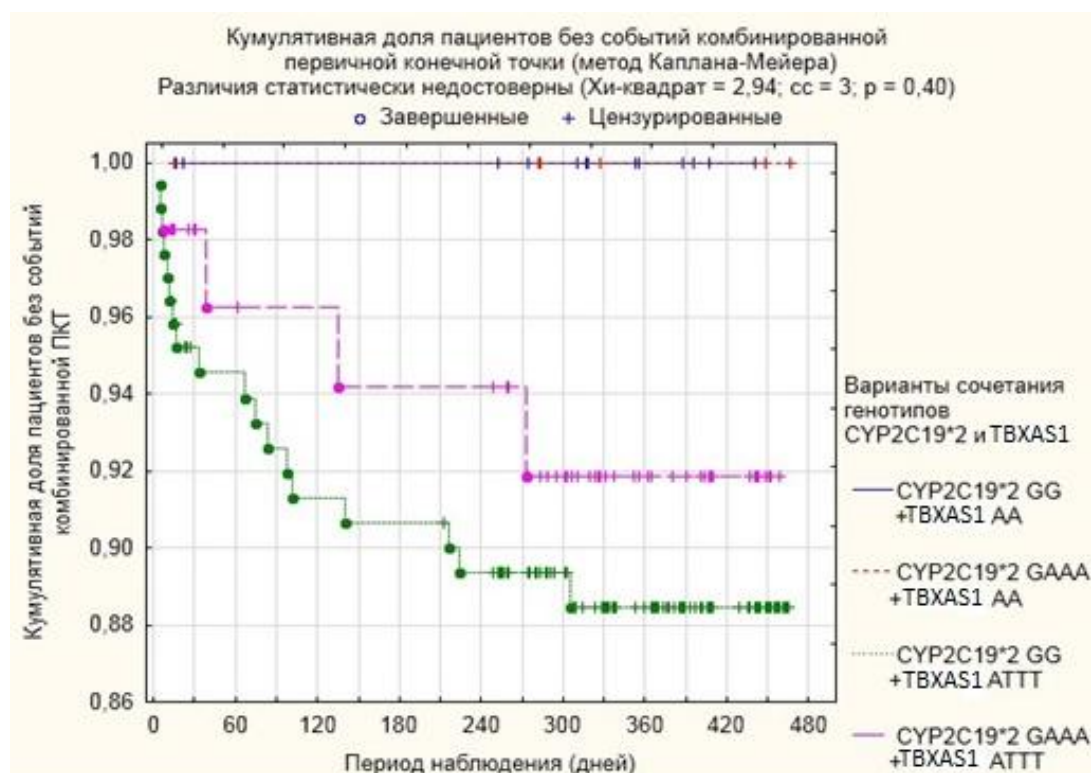


Рисунок 69. Оценка риска возникновения ПКТ за 12 месяцев при сочетании генотипов TBXAS1 и CYP2C19*2 генов

ГЛАВА IV. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

4.1. ДИНАМИКА АДФ-ИНДУЦИРОВАННОЙ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ НА ФОНЕ ТЕРАПИИ КЛОПИДОГРЕЛЕМ

На фоне терапии клопидогрелем через 7 суток наблюдалось достоверное снижение средней агрегации тромбоцитов с 65,6% до 45,3%.

При планировании данного исследования за критерий резистентности был принят уровень дельта агрегации $\leq 10\%$, индуцированной АДФ в концентрации 5мкМ. Согласно данному критерию в исследуемой популяции выявлено 65 (26%) пациентов, резистентных к клопидогрелю.

При сравнении полученных данных с зарубежными исследованиями была выявлена значительная вариабельность количества резистентных пациентов от 5 до 45%. Однако при отборе исследований с аналогичным критерием резистентности получены схожие результаты: Gurbel и соавт. – 31%, Matetzky и соавт. – 25%. В диссертационных работах российских исследователей так же получены подобные данные: Айнетдинова Д.Х. – 18,2-24,1%, Фролова Н.С. – 28% и Ахмедярова Л.Б. – 32,5%.

Уровень исходной АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов чувствительных к терапии клопидогрелем составил 67%, а у резистентных пациентов - 62%. Агрегация через 7 дней у чувствительных пациентов снизилась до 37%, в то время как у резистентных повысилась до 67%.

При сравнении агрегации тромбоцитов у пациентов с различными нозологическими формами было выявлено достоверное повышение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов через 7 дней терапии клопидогрелем у больных с ОКС по сравнению с пациентами, страдающими мультифокальным атеросклерозом. Кроме того, внутри группы ОКС пациенты с ОКС с подъемом сегмента ST оказались более резистентны к терапии клопидогрелем, чем

пациенты с ОКС без подъема сегмента ST и нестабильной стенокардией (48,8% против 38,4%, $p < 0,01$).

Эти данные совпадают с некоторыми исследованиями, проведенными ранее на российской популяции пациентов с ОКС. Так в работе Д.Х. Айнетдиновой резистентность к клопидогрелю в группе пациентов с ОКС с подъемом сегмента ST составила 24,1%, а среди пациентов с ОКС без подъема ST – 18,2%. Однако, в исследовании Н.С. Фроловой не было получено различий по частоте выявления резистентности в группах ОКСспSTи ОКСбпST.

При анализе взаимосвязи уровня агрегации тромбоцитов через 7 дней и нарушений углеводного обмена был выявлен достоверно более высокий уровень остаточной АДФ-индуцированной агрегации у лиц, страдающих сахарным диабетом. Аналогичные данные были получены сразу в нескольких исследованиях [2,17].

Нами было выявлено, что динамика АДФ-индуцированной агрегации не зависит от таких факторов риска развития ИБС, как пол, курение, артериальная гипертония и ожирение. Однако в исследовании Д.Х. Айнетдиновой была выявлена взаимосвязь между ожирением и резистентностью к клопидогрелю: в группе больных с ОКСспST резистентность у пациентов с ожирением заметно выше, чем у пациентов без ожирения (47,6% против 10,9%, $p < 0,05$). В этом же исследовании не было получено влияния курения и артериальной гипертонии на риск возникновения резистентности.

4.2. КЛИНИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К КЛОПИДОГРЕЛЮ

В мировой литературе называется множество факторов, влияющих на возникновение резистентности к терапии клопидогрелем (см. Главу материалы и методы, рисунок 5). В нашей работе анализ клинических факторов в однородных группах пациентов, влияющих на феномен возникновения резистентности, выявил достоверную зависимость от нозологической формы пациентов, статуса углеводного обмена и количества факторов риска развития ИБС.

Среди пациентов с ИМбпST или нестабильной стенокардией 15,5% оказались резистентными к терапии, с ИМспST – 30,9% и с МФА – 47,6%, $p < 0,05$. Аналогичные нашим, данные были получены в работах А.Л. Комарова у стабильных пациентов с ИБС [10] и Е.В. Мороз по изучению резистентности к пероральным антитромбоцитарным препаратам перед стентированием у больных со стабильными формами ИБС [11]. А.Л. Комаров показал, что у стабильных больных ИБС на фоне повышенного образования фибрина происходит увеличение фибринолитической активности, что препятствует дополнительному снижению остаточной реактивности тромбоцитов на фоне терапии клопидогрелем. В работе Е.В. Мороз резистентность к клопидогрелю составила 56%. Таким образом, можно предположить, что стабильные пациенты с мультифокальным атеросклерозом артерий менее чувствительны к терапии клопидогрелем, чем пациенты с ОКС.

Неоднократно в различных исследованиях было доказано, что пациенты, страдающие СД 1-го и 2-го типов, чаще оказывались нечувствительными к терапии клопидогрелем. Так в исследовании Д.Х. Айнетдиновой [2] у больных с ОКСспST и с сахарным диабетом резистентность к клопидогрелю достигала 55,6% против 18,4% у пациентов без нарушений углеводного обмена, $p = 0,049$. Е.В. Мороз [11] в своей работе также показала влияние нарушений углеводного обмена на риск возникновения резистентности к клопидогрелю (66,7% случаев

против 27,4%, $p=0,02$). Lepantalo и соавт. также доказали связь низкого ответа на терапию клопидогрелем с высоким уровнем гликозилированного гемоглобина у пациентов с сахарным диабетом [37].

В данном исследовании в очередной раз подтвердилось влияние статуса углеводного обмена на резистентность к терапии клопидогрелем: среди пациентов без СД только 19,6% оказались резистентными, в то время как, среди пациентов, страдающих СД 1-го и 2-го типов - 40,3%, $p<0,001$.

Для оценки взаимосвязи клинических факторов с остаточной реактивностью тромбоцитов выполнен многофакторный анализ. На первом этапе при однофакторном анализе (ANOVA) выявлены следующие факторы, влияющие на остаточную реактивность тромбоцитов: нозологическая форма и статус углеводного обмена.

При включении вышеуказанных показателей в многофакторный дисперсионный анализ (MANOVA) они достоверно сохраняют самостоятельную значимость.

Таким образом, отмечен высокий уровень остаточной реактивности тромбоцитов на фоне терапии клопидогрелем у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Мультифокальное атеросклеротическое поражение артерий наряду с наличием сахарного диабета являются предикторами возникновения феномена резистентности.

4.3. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ И РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К ТЕРАПИИ КЛОПИДОГРЕЛЕМ

Исследованы гены, влияющие на всасывание (транспортный ген ABCB1), метаболизм (CYP2C9 и CYP2C19 гены системы цитохрома P-450), рецепторную чувствительность тромбоцитов (P2Y12) и ген тромбоксан-синтетазы (TBXAS1). Из большого количества исследованных полиморфизмов генов на феномен резистентности достоверно влияет AA генотип CYP2C19*2 цитохрома P-450, так как он замедляет превращение клопидогреля, являющегося пролекарством в его активный метаболит и AT-TT генотипы TBXAS1. У пациентов с AA генотипом CYP2C19*2 гена был достоверно более высокий уровень АДФ-агрегации через 7 дней приема клопидогреля. При противопоставлении двух групп (AA против GA/GG), была получена достоверная связь AA генотипа с риском возникновения резистентности к антитромбоцитарным препаратам.

Не получено достоверной связи полиморфизмов транспортного ABCB1, CYP2C9 системы цитохрома P-450 и рецепторного P2Y12 генов ни с уровнем исходной агрегации и через 7 дней приема клопидогреля, ни с возникновением резистентности. В исследовании А.Л. Комарова также не было получено взаимосвязи полиморфизма ABCB1 гена с исходами терапии клопидогрелем [10].

Во многих отечественных и зарубежных исследованиях полученные данные противоречили друг другу: одни исследования доказывали влияние вышеперечисленных генов на резистентность к антитромбоцитарным препаратам, другие – нет. Однако большое количество исследований подтверждает данные, полученные нами в отношении генотипа CYP2C19*2.

Так, в мета-анализе, проведенном Mega J et al., изучалось влияние увеличенной дозы клопидогреля на агрегацию тромбоцитов у пациентов с AA генотипом или так называемой аллели с утратой функции CYP2C19 гена. Было показано, что среди пациентов со стабильной ИБС увеличение дозы клопидогреля до 225 мг в

сутки у гетерозигот (AG) по генетическому варианту CYP2C19*2 позволяет достигнуть уровня реактивности тромбоцитов, которые наблюдаются при стандартной дозе 75 мг у пациентов с GG генотипом. Однако у гомозигот (AA) по CYP2C19*2 увеличение дозы до 300 мг в сутки не приводит к сопоставимой с GG генотипом степени ингибирования тромбоцитов [71].

Резистентность у пациентов с А аллелем с утратой функции CYP2C19*2 гена хорошо изучена в отношении риска тромбоза стентов. В исследовании 2485 пациентов, подвергшихся чрескожному коронарному вмешательству после нагрузочной дозы 600 мг, было выявлено увеличение количества тромбоза стентов у пациентов с AA генотипом CYP2C19*2 по сравнению с GG генотипом «дикого» типа CYP2C19*1 [83]. В исследовании TRITON-TIMI 38 было включено 1477 пациентов с острым коронарным синдромом, которым назначалась нагрузочная доза 300 мг клопидогреля, с последующим переходом на 75 мг в сутки. У пациентов с А аллелем с потерей функции CYP2C19 гена отмечалось трехкратное повышение риска тромбоза стентов [70].

После анализа полученных данных по генам, участвующим во всасывании, метаболизме и рецепторной чувствительности к клопидогрелю был продолжен научный поиск возможных механизмов, вызывающих резистентность к антитромбоцитарным препаратам. Так была предположена гипотеза влияния гена тромбоксан-синтетазы на чувствительность к антиагрегантам.

В 2005 г. Kim et. al. в исследовании связи тромбоксана A2 и аспириновой бронхиальной астмы выявили, что пациенты с AA генотипом TBXAS1 являются медленными метаболизаторами, то есть у них меньше вырабатывается тромбоксана A2 [63]. В 2009 году Sun et. al. доказали, что частота некардиоэмболического инсульта достоверно выше у пациентов с TT генотипом по сравнению с пациентами с AA генотипом TBXAS1, OR – 2,75, p=0,002 [94].

В 2010 году Fang и соавторы доказали взаимосвязь полиморфизма гена тромбоксан-синтетазы с развитием инфаркта миокарда: частота ТТ генотипа достоверно чаще встречалась в группе пациентов с инфарктом миокарда [45]. При регрессионном анализе было выявлено, что ТТ генотип гена тромбоксан-синтетазы, является независимым фактором риска развития инфаркта миокарда, что связано с повышенным уровнем тромбоксана А₂.

Затем Bhavaraju и соавт. доказали связь между АДФ Р₂Y₁₂ рецептором и продукцией тромбоксана А₂ [28]. Одним из наиболее важных паракринных медиаторов тромбоцита является аденозиндифосфат (АДФ). Он выделяется из плотных гранул при активации тромбоцита. Основные рецепторы тромбоцита к АДФ – Р₂Y₁ и Р₂Y₁₂ (соотношение их количества 1:2).

Прием клопидогреля здоровыми добровольцами в этом исследовании был связан с уменьшением уровня тромбоксана А₂. Это отчетливо показало, что активация Р₂Y₁₂ рецепторов – это один из важнейших путей, приводящий к продукции тромбоксана А₂ тромбоцитами.

Известно, что аденозиндифосфат (АДФ) является одним из наиболее важных паракринных медиаторов тромбоцита. АДФ через Р₂Y₁ и Р₂Y₁₂ рецепторы при помощи киназы, регулирующей уровень внеклеточного кальция и фосфолипазы А₂ запускает цикл арахидоновой кислоты с образованием тромбоксана А₂. Образование тромбоксана А₂ из эндопероксидов осуществляется тромбоксан-синтетазой. Секретируемые с началом активации тромбоцитов АДФ, серотонин и тромбоксан А₂, в свою очередь, активируют близлежащие тромбоциты, что запускает процесс тромбообразования в сосудах.

Таким образом, при анализе факторов, влияющих на повышение агрегации тромбоцитов и сужение сосудов с помощью тромбоксана А₂ при блокаде Р₂Y₁₂ рецепторов клопидогрелем и цикла арахидоновой кислоты ацетилсалициловой кислотой, можно предположить, что лимитирующим фактором является

«медленный» генотип АА тромбоксан-синтетазы. Под «медленным» генотипом подразумевается сравнительно более низкая активность фермента, кодируемого генотипом АА с превращением простагландина H₂ в тромбоксан, в сравнении с другими генотипами. У пациентов с «медленным» генотипом АА гена тромбоксан-синтетазы снижается выработка тромбоксана А₂. С учетом всего вышесказанного, схему метаболизма тромбоксана А₂ и факторы на него влияющие можно представить на рисунке 70.

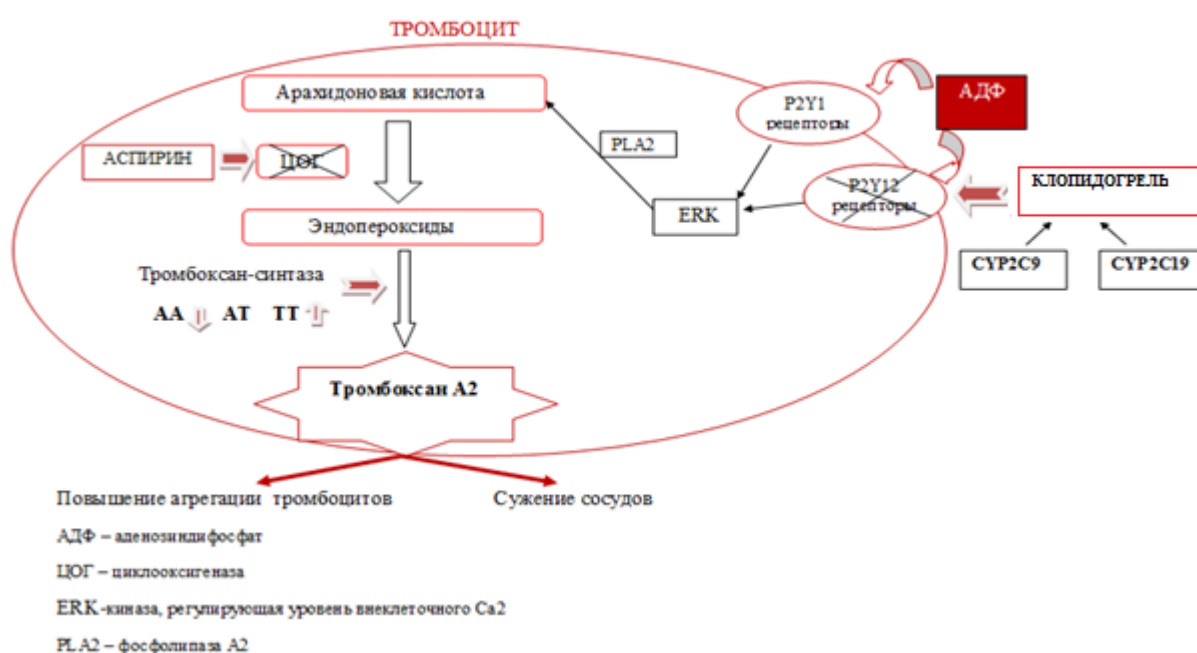


Рисунок 70. Факторы, влияющие на метаболизм тромбоксана А₂

В данном исследовании частота генотипов гена тромбоксан-синтетазы TBXAS1 была распределена следующим образом: 23 (9,2%) с АА генотипом, 104 (41,8%) с АТ и 122 (49%) – с ТТ генотипом.

Не была получена взаимосвязь различных генотипов TBXAS1 с показателем исходной агрегации. В то же время, АА генотип достоверно связан с агрегацией через 7 дней и резистентностью к клопидогрелю. Так, пациенты с АА генотипом оказались более чувствительны к терапии клопидогрелем, в то время как среди пациентов с АТ и ТТ генотипами было больше резистентных пациентов.

При анализе комбинаций различных генотипов было выявлено, что наличие сочетания CYP2C19*2 GAAA+TBXAS1 AA ассоциировано с низким уровнем остаточной агрегации на фоне терапии клопидогрелем, и среди них было меньше всего резистентных пациентов.

При анализе взаимосвязи полиморфизмов различных генов с резистентностью, была получена достоверная связь только касательно CYP2C19 и TBXAS1 генов.

4.4. ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РИСК ВОЗНИКНОВЕНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Сердечно-сосудистые события (сердечно-сосудистая смерть, развитие нефатального инфаркта миокарда, случаи ранней постинфарктной стенокардии и тромбоз стента) достоверно чаще возникают у пациентов, резистентных к терапии клопидогрелем.

За 12 месяцев наблюдения выявлено 38 (15,2%) случаев ПКТ, среди которых 10 (4%) случаев смертельного исхода; за период наблюдения в 18 месяцев количество случаев ПКТ у пациентов возросло до 51 (20,4%), среди которых 11 (4,4%) смертей.

Среди пациентов без сердечно-сосудистых событий за 18 месяцев наблюдения, 22% оказались резистентными к терапии клопидогрелем, а среди пациентов с первичной конечной точкой – 81,2%.

При анализе риска возникновения ПКТ в течение 12 месяцев наблюдения в различных клинико-демографических подгруппах не была получена достоверная взаимосвязь ни с нозологической формой пациентов, ни с полом, ни со статусом курения или с массой тела. Однако у пациентов с нормальным углеводным обменом достоверно ($p=0,049$) реже возникали сердечно-сосудистые события, чем у пациентов, страдающих сахарным диабетом. Среди пациентов, страдающих сахарным диабетом, за 12 месяцев у 16% зафиксированы случаи развития ПКТ, в то время как у пациентов с нормальным углеводным обменом только в 7% случаев.

При анализе с помощью регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса, установлено, что риск развития ПКТ на 56,1% ниже у пациентов с отсутствием нарушений углеводного обмена по сравнению с пациентами с сахарным диабетом (отношение рисков [HR] = 0,439, 95% ДИ 0,194-0,996; $p=0,049$).

Не было получено достоверной связи ТТ, ТС или СС генотипов ABCB1 гена и GG или GT генотипов P2Y12 гена с сердечно-сосудистыми событиями в течение года.

Широко известный факт взаимосвязи AA генотипа CYP2C19 гена с риском развития сердечно-сосудистых исходов, не получил достоверного отражения в нашей работе из-за небольшого количества данного генотипа в популяции наших пациентов: AA генотип CYP2C19*2 цитохрома P-450 выявлен у 9 (3,6%) больных.

Наличие аллеля с утратой функции CYP2C9 гена достоверно ассоциировано с риском развития первичной конечной точки.

При анализе с помощью регрессионной модели пропорциональных рисков Кокса, установлено, что риск развития ПКТ достоверно ниже у пациентов с «диким» типом генотипа CYP2C9 по сравнению с пациентами со сниженной активностью CYP2C9 (отношение рисков [HR] = 0,437, 95% ДИ 0,193-0,991; $p=0,048$).

При анализе сердечно-сосудистых событий в течение 12 месяцев наблюдения не была получена достоверная взаимосвязь AA или ТТ генотипов гена тромбоксан-синтетазы с риском возникновения первичной конечной точки.

Через 18 месяцев получено достоверное различие между пациентами с AA и AT-ТТ генотипами TBXAS1 в отношении риска возникновения первичной конечной точки. Более того, среди пациентов с AA генотипом по-прежнему не было ни одного сердечно-сосудистого события.

Интересные факты были получены в отношении статуса курения. Анализ сердечно-сосудистых событий у пациентов с различным полиморфизмом CYP2C9 гена и статусом курения достоверно показал, что среди никогда не куривших пациентов с аллелем с утратой функции выше процент ПКТ (27%) по сравнению (7%) с курильщиками, имеющими такой же генотип. Такая же

тенденция сохраняется и в течение 18 месяцев наблюдения. Влияние курения на риск возникновения сердечно-сосудистых событий на фоне приема клопидогреля обсуждается многими учеными. Однако данные различных исследований противоречивы. Так, при анализе ангиографических и клинических исходов Berger et al. показали, что курение положительно влияет на чувствительность к терапии клопидогрелем [26]. Среди активных курильщиков была реже смертность от сердечно-сосудистых заболеваний, но больше риск возникновения кровотечений, чего не наблюдалось у некурящих или куривших в прошлом пациентов. Этот феномен объясняется тем, что курение влияет на чувствительность тромбоцитов к клопидогрелю, путем активации цитохрома P-450 1A2 (CYP1A2), участвующего в метаболизме клопидогреля. Как известно, CYP1A2 участвует в превращении клопидогреля в его активный метаболит, тем самым усиливает его клинический эффект.

Доля пациентов без ПКТ среди имеющих «дикий» тип CYP2C9 гена с нормальным углеводным обменом за 12 месяцев составила 94,3%, а пациентов, страдающих сахарным диабетом – 88%. У пациентов с аллелем с утратой функции CYP2C9 гена без диабета, доля лиц без ПКТ составила 89%, в то время как у пациентов с сахарным диабетом всего 75%. Через 18 месяцев доля пациентов без ПКТ среди, имеющих аллель с утратой функции CYP2C9 гена и страдающих сахарным диабетом, составила всего 63%, что подтверждает доказанное ранее неблагоприятное влияние сахарного диабета на сердечно-сосудистые исходы.

В данном исследовании было выявлено, что пациенты с AA генотипом TBXAS1 гена в 100% случаев не имели ПКТ в течение 18 месяцев наблюдения вне зависимости от комбинации со статусом углеводного обмена, курением или количеством факторов риска ИБС.

Так, среди пациентов с AA генотипом гена TBXAS1 и нормальным углеводным обменом или страдающих сахарным диабетом не было

зафиксировано ни одного случая ПКТ за 18 месяцев наблюдения. В то время как среди пациентов с ТТ генотипом и нормальным углеводным обменом случаи ПКТ выявлены у 21%, а среди страдающих сахарным диабетом – у 29% пациентов.

Вне зависимости от количества факторов риска развития ИБС пациенты с АА генотипом ТВХАS1 не имели ни одного сердечно-сосудистого исхода. В то время как доля пациентов без ПКТ среди имеющих ТТ генотип составила 75%, при наличии менее 4 факторов риска, и 77% - имея 4 и более факторов риска развития ИБС, хотя эти данные оказались недостоверными.

Было выявлено также, что пациенты с АА генотипом ТВХАS1 независимо от варианта СYP2C9 гена не имели ни одного случая ПКТ за 18 месяцев наблюдения. Среди пациентов с АТ-ТТ генотипами ТВХАS1 гена и *1*1 СYP2C9 генотипом доля без ПКТ за 12 месяцев составила 92%, а при сочетании АТ-ТТ с генотипом со сниженной активностью – 84% (рисунок 71).

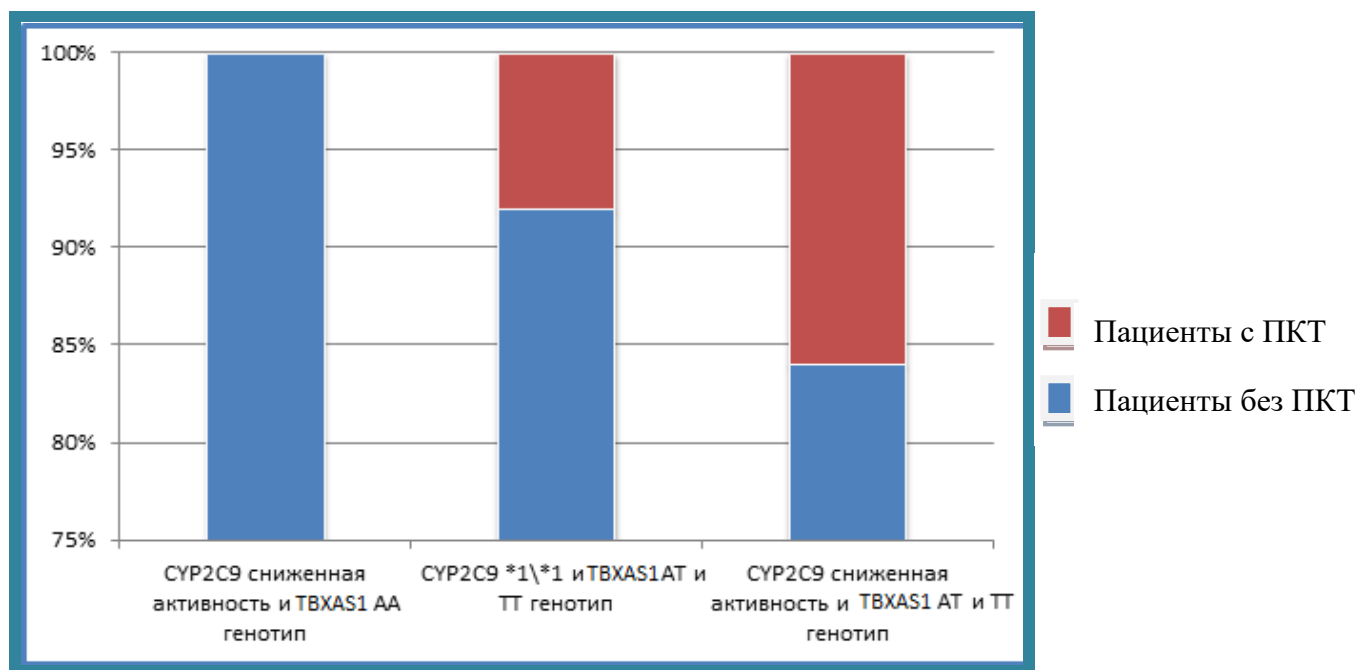


Рисунок 71. Риск возникновения ПКТ при сочетании генотипов СYP2C9 и ТВХАS1 генов

Таким образом, можно предположить, что наличие «медленного» А аллеля гена тромбоксан-синтетазы *TXAS1* является значимым протективным фактором при вторичной профилактике ИБС.

ВЫВОДЫ

1. Сердечно-сосудистые события (сердечно-сосудистая смерть, развитие нефатального инфаркта миокарда, случаи ранней постинфарктной стенокардии и тромбоз стента) достоверно ($p < 0,01$) чаще возникают у пациентов с высокой остаточной реактивностью тромбоцитов на фоне терапии клопидогрелем. На риск развития сердечно-сосудистых событий влияют статус углеводного обмена (отношение рисков = 0,439; 95% ДИ 0,194-0,996; $p = 0,049$) и генотип CYP2C9 (отношение рисков = 0,437; 95% ДИ 0,193-0,991; $p = 0,048$). Абсолютный риск возникновения сердечно-сосудистых событий у пациентов с АТ и ТТ генотипами TBXAS1 гена на 14,2 % выше по сравнению с пациентами с АА генотипом, которые в 100% случаев не имели первичные конечные точки.
2. Согласно принятому критерию резистентности (снижение АДФ-агрегации менее 10%) в исследуемой популяции выявлено 26% пациентов, резистентных к клопидогрелю. Показатель исходной АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов у пациентов чувствительных к терапии клопидогрелем составил 67%, а у резистентных пациентов - 62%. Агрегация через 7 дней у чувствительных пациентов достоверно ($p < 0,01$) снизилась до 37%, в то время как у резистентных достоверно ($p < 0,01$) повысилась до 67%.
3. При анализе клинических факторов в однородных группах пациентов выявлена достоверная взаимосвязь нозологической формы и статуса углеводного обмена с остаточной реактивностью тромбоцитов. Пациенты с ОКС более чувствительны к терапии антиагрегантными препаратами, чем стабильные пациенты с мультифокальным поражением артерий, в том числе коронарных (43% против 56,8%, $p < 0,01$). Пациенты, страдающие сахарным диабетом 1-го и 2-го типа менее чувствительны к антиагрегантной терапии, чем пациенты без диабета (51,6% против 42,5%, $p < 0,01$).
4. «Медленный» АА генотип CYP2C19*2 достоверно ассоциирован с АДФ-агрегацией через 7 дней приема клопидогреля и высоким риском

возникновения резистентности к клопидогрелю. Пациенты с АА генотипом гена тромбоксан-синтетазы *TBXAS1* оказались более чувствительны к терапии клопидогрелем, в то время как среди пациентов с АТ и ТТ генотипом было достоверно больше резистентных пациентов, $p < 0,01$. Не получено достоверного влияния на уровни исходной агрегации, агрегацию через 7 дней приема клопидогреля и на возникновение резистентности полиморфизмов транспортного *ABCB1*, *CYP2C9* системы цитохрома Р-450 и рецепторного *P2Y12* генов.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У пациентов с мультифокальным поражением артерий или с ОКС, страдающих сахарным диабетом 1-го или 2-го типа, представляется целесообразным проведение генетического тестирования для выявления лиц с высоким риском сердечно-сосудистых событий.
2. При наличии А/Т (rs 6962291) полиморфизма гена тромбоксан-синтетазы *TXAS1* и полиморфизмов Arg144Cys C430T экзон 3 *CYP2C9*2* и Ile359Leu A1075C экзон 7 *CYP2C9*3* гена системы цитохрома Р-450 назначение двойной антиагрегантной терапии аспирином и клопидогрелем может оказаться недостаточно эффективным.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертония

АД – артериальное давление

АДФ – аденозиндифосфат

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ИБС - ишемическая болезнь сердца

ИМТ – индекс массы тела

МФА - мультифокальный атеросклероз

ОКС - острый коронарный синдром

ОКСбпST - острый коронарный синдром без подъема сегмента ST на ЭКГ

ОКСспST - острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST на ЭКГ

ПКТ - первичная конечная точка

СМАД – суточное мониторирование артериального давления

СД - сахарный диабет

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ССС – сердечно-сосудистая система

ТВХАS1 - тромбоксан –синтетаза

цАМФ - циклический аденозинмонофосфат

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аверков, О.В. «Резистентность» к клопидогрелю и подходы к ее преодолению / О.В. Аверков // Фарматека. – 2008. - № 7. - С. 11 – 18.
2. Айнетдинова, Д.Х. Резистентность к антитромбоцитарным препаратам у больных с острыми коронарными синдромами: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.05 / Д.Х. Айнетдинова. – Москва, 2008. – С. 104.
3. Алехин, Е.К. Аспирин: новая жизнь старого лекарства / Е.К. Алехин // Соровский образовательный журнал. – 1999. - № 7.
4. Ахмедярова, Л.Б. Коронарное стентирование у больных ИБС и нарушение чувствительности к антиагрегантным препаратам: принципы диагностики и возможности медикаментозной коррекции: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.05 / Л.Б. Ахмедярова. – Москва, 2011. – С. 147.
5. Берштейн, Л.Л. Стандарты и перспективы антитромботической терапии при нестабильной стенокардии и инфаркте миокарда без подъема сегмента ST / Л.Л. Берштейн, С.А. Сайганов, Ю.Н. Гришкин // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2011. – 10, № 5 (61). – С. 255-262.
6. Блокаторы гликопротеиновых P₂Y₁₂/P₂U₁-рецепторов тромбоцитов при лечении острого коронарного синдрома и при чрескожных коронарных вмешательствах / Д.В. Фетцер, Д.В. Преображенский, Т.А. Батыралиев и др. // Тер. архив. – 2009. - № 1. – С. 84 - 87.
7. Бокерия, Л.А. Сердечно-сосудистая хирургия, 2007. Болезни и врожденные аномалии системы кровообращения / Л.А. Бокерия, Р.Г. Гудкова - Москва: Издательство НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2008. - 144 стр.
8. Бокерия, Л.А. Социально значимые болезни в Российской Федерации / Л.А. Бокерия, И.Н. Ступаков - Москва: Издательство НЦ ССХ им. А.Н. Бакулева РАМН, 2006. - 326 с.
9. Бокерия, Л.А. Тромбозы стентов с антипролиферативным покрытием в отдаленном периоде (состояние проблемы) / Л.А. Бокерия, Б.Г. Алесян,

- А.В. Абросимов // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. - 2009. - № 1. - С. 38 – 47.
10. Комаров А.Л. Факторы, определяющие прогноз и эффективность антитромбоцитарной терапии у больных хронической ишемической болезнью сердца: дис. ... док-ра. мед. наук: 14.01.05 / А.Л. Комаров. – Москва, 2012.
11. Мороз, Е.В. Резистентность к антитромбоцитарным препаратам (ацетилсалициловая кислота и клопидогрел) при стентировании коронарных артерий у больных со стабильными формами ИБС: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.05 / Е.В. Мороз - Москва, 2013. – С. 23.
12. Отчет Федеральной службы государственной статистики Российской Федерации за период с января по декабрь 2014 года [Электронный ресурс] – Режим доступа: [http://www.gks.ru/free doc/2014/demo/t3 3xls](http://www.gks.ru/free_doc/2014/demo/t3_3.xls).
13. Першуков, И.В. Тромбоз стентов, выделяющих лекарственные вещества, и его фармакологическая профилактика / И.В. Першуков, Т.А. Батыралиев // Кардиология. - 2007. - № 7. - С. 60 – 67.
14. Савченко, Е.А. Изменения в системе гемостаза и метаболизме тромбоцитов у больных с разными функциональными классами стенокардии / Е.А. Савченко, И.Ю. Гринштейн, А.А. Савченко // Сибирское медицинское обозрение. - 2009. - № 3. - С. 45-50.
15. Сулимов, В.А. Антитромботическая терапия при чрескожных коронарных вмешательствах / В.А. Сулимов // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. - 2008. - № 3. - С. 91 – 100.
16. Сычев Д.А. Оценка агрегации тромбоцитов в клинической практике / Д.А. Сычев, Д.А. Андреев, К.Б. Мирзаев // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2015. – 11, №1. – С. 85-91.
17. Фролова, Н.С. Прогностическое значение, механизмы развития и возможные способы преодоления резистентности к антиагрегантным

- препаратам (аспирин и клопидогрел) у больных с острым коронарным синдромом: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.05 / Н.С. Фролова. – Москва, 2010. – С. 133.
18. Absorption, metabolization, and antiplatelet effects of 300-, 600-, and 900-mg loading doses of clopidogrel: results of the ISAR-CHOICE Trial / N. Von Beckerath, D. Taubert, G. Pogatsa-Murray et al. // *Circulation* . – 2005. – Vol. 112, № 19. - P. 2946 - 2950.
 19. Acute effects of transluminal angioplasty in three experimental models of atherosclerosis / D. Faxon, V. Weber, C. Haudenschild et al. // *Arteriosclerosis*. - 1982. - Vol. 2, № 5. - P. 125 – 133.
 20. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST – segment elevation / M.S. Sabatine, C.P. Cannon, E. Braunwald et al, the CLARITY – TIMI - 28 Investigators // *N. Eng. J.Med.* - 2005. - Vol. 352. - P. 1179 – 1189.
 21. Angiolillo DJ., Fernandez-Ortiz A., Bernardo E., et al. Identification of low responders to 300-mg clopidogrel loading dose in patients undergoing coronary stenting // *Thromb. Res.* 2005. Vol. 115, № 1-2. - P. 101 – 108.
 22. Angiolillo, DJ. High clopidogrel loading dose during coronary stenting: effects on drug response and interindividual variability / DJ. Angiolillo // *European Heart Journal*. - 2004. - Vol. 25. - P. 1903 – 1910.
 23. Antiplatelet Trialist' Collaborative meta-analyse of randomized trials of antiplatelet therapy: prevention of death, myocardial infarction and stroke by prolonged antiplatelet therapy in high risk patients // *British Medical Journal*. – 2002. – Vol. 324. – P. 71 - 86.
 24. Antithrombotic Trialists (ATT) Collaboration. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomized trials // *Lancet*. - 2009. - Vol. 373. – P. 1849 – 1860.

25. Association of laboratory-defined aspirin resistance with a high risk of recurrent cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis / J.D. Snoep, M.M. Hovens, J.C. Eikenboom et al. // *Arch. Intern. Med.* - 2007. - Vol. 167. - P. 1593 – 1599.
26. Berger, J.S. Smoking, clopidogrel, and mortality in patients with established cardiovascular disease / J.S. Berger, D.L. Bhatt, S.R. Steinhubl // *Circulation.* - 2009. - Vol. 120, № 23. - P. 2337 – 2344.
27. Bhatt, D.L. Scientific and therapeutic advances in antiplatelet therapy / D.L. Bhatt, E.J. Topol // *Nature reviews.* – 2003. - Vol 2. - P. 15 – 28.
28. Bhavaraju, K. Antagonism of P2Y12 reduces physiological thromboxane levels / K. Bhavaraju, A. Georgakis, J. Jin // *Platelets.* – 2010. – Vol. 21, № 8. - P. 604-609.
29. Byung, Lae. Association of polymorphisms in thromboxane A2 receptor and thromboxane A synthase 1 with cerebral infarction in a Korean population Sun Ah Park1 / Lae Byung // *Science.* – 2004. - Vol. 296. - P. 539 - 541.
30. Cairns, J.A. Aspirin, sulfinpyrazone or both in unstable angina: results of Canadian Multicentre Trial / J.A. Cairns, M. Gent, J. Singer. // *N Engl J Med.* – 1985. – Vol. 313. – P. 1369.
31. CAPRIE Steering Committee – a randomized, blinded trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischemic events (CAPRIE) // *Lancet.* - 1996. - Vol. 348. - P. 1329 – 1339.
32. Chen, Z. Addition of clopidogrel to aspirin in 45 852 patients with acute myocardial infarction: randomized placebo-controlled trial / Z. Chen, L. Jiang, Y. Chen // *Lancet.* - 2005. - Vol. 366. - P. 1607 – 1621.
33. Clopidogrel resistance is associated with increased risk if recurrent events in patients with acute myocardial infarction / S. Matetzky, B. Shenkman V. Guetta et al. // *Circulation.* - 2004. - Vol. 109. - P. 3171 – 3175.
34. Comparison of ticagrelor with clopidogrel in patients with a planned invasive strategy for acute coronary syndromes (PLATO): a randomized double-blind

- study / C.P. Cannon, R.A. Harrington, S. James et al. // *Lancet*. – 2010. - Vol. 375 (9711). – P. 283 - 293.
35. Contribution of gene sequence variation of the hepatic cytochrome P-450 3A4 enzyme to variability in individual responsiveness to clopidogrel / DJ. Angiolillo, A. Fernandez-Ortiz, E. Bernardo, et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* - 2006. - Vol. 26. - P. 1895 – 1900.
36. Cuisset, T. High post-treatment platelet reactivity identify low-responders to dual antiplatelet therapy at increased risk of recurrent cardiovascular events after stenting for acute coronary syndrome / T. Cuisset, C. Frere, O. Quilici // *Thromb. Haemost.* - 2006. - Vol. 4. - P. 542 – 549.
37. CURE Investigators. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study / S. Mehta, S. Yusuf, R. Peters et al. // *Lancet*. - 2001. - Vol. 358, № 9281. - P. 527 – 533.
38. CURRENT-OASIS 7 trial investigators. Double-dose versus standard-dose clopidogrel and high-dose versus low-dose aspirin in individuals undergoing percutaneous coronary intervention for acute coronary syndromes (CURRENT-OASIS 7): a randomized factorial trial / S.R. Mehta, J.F. Tanguay, J.W. Eikelboom et al // *Lancet*. – 2010. – Vol. 376, № 9748. – P. 1233 -1243.
39. Cytochrome P450 genetic polymorphisms and the response to prasugrel: relationship to pharmacokinetic, pharmacodynamic, and clinical outcomes / J.L. Mega, S.L. Close, S.D. Wiviott et al. // *Circulation*. - 2009. – Vol. 119, № 19. - P. 2553 - 2560.
40. Daemen, J. Drug-eluting stent update 2007: part II: Unsettled issues / J. Daemen, P. Serruys // *Circulation*. - 2007. - Vol. 116, № 8. - P. 961 – 968.
41. De La Cruz, J.P. Effects of the selective inhibition of platelet thromboxane synthesis on the platelet-subendothelium interaction / J.P. De La Cruz, M.A. Villalobos, R. Escalante // *British Journal of Pharmacology*. – 2002. Vol. 137. – P. 1082 - 1088.

42. Dhatariya, K. Aspirin for everyone over 50? Do not forget aspirin resistance / K. Dhatariya // *BMJ*. - 2005. - Vol. 331, № 7509. - P. 161.
43. Effect of a high loading dose of clopidogrel on platelet function in patients undergoing coronary stent placement / I. Müller, M. Seyfarth, S. Rudiger, et al. // *Heart*. - 2001. - Vol. 85, № 1. - P. 92 – 93.
44. European Guidelines on cardiovascular disease in clinical practice (version 2012): the Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts) [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22763626>.
45. Fang Y. Association of Rs10487667 genetic polymorphism of thromboxane synthase with myocardial infarction in Uigur population of Xinjiang / Yu Fang, Yi Xue, Za Zhi // *Heart*. - 2010 Nov. – Vol. 44, № 11. – P. 1032 - 1036.
46. Ferguson, A. Aspirin and Clopidogrel Response Variability / A. Ferguson // *Tex. Heart Inst. J.* – 2008. – Vol. 35, № 3. – P. 313–320.
47. Gabriel Steg, Ph. Acute Myocardial Infarction in patients presenting with ST-segment elevation (Management of). European Society of Cardiology [Электронный ресурс] / Ph. Gabriel Steg, K. James Stefan – Режим доступа: <http://www.escardio.org/GUIDELINES-SURVEYS/ESC-GUIDELINES/Pages/acs-st-segment-elevation.aspx>.
48. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events / T. Simon, C. Verstuyft, M. Mary-Krause et al. // *N. Engl. J. Med.* - 2009. - Vol. 360. - P. 363 – 375.
49. Gladding, P. The Pharmacogenetics and Pharmacodynamics of Clopidogrel Response: An Analysis From the PRINC (Plavix Response in Coronary Intervention) Trial / Patrick Gladding, Mark Webster, Irene Zeng // *J. Am. Coll. Cardiol. Interv.* – 2008. - № 1. – P. 620 - 627.

50. Gregory, G.P. The CURE trial: using clopidogrel in acute coronary syndromes without ST segment elevation / G.P. Gregory, D.L. Bhatt // *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. – 2002. – Vol. 69. – P. 377 - 385.
51. Gurbel, P.A. Clopidogrel resistance? / P.A. Gurbel, U.S. Tantry // *Thromb. Research*. - 2007. - Vol. 120. - P. 311 – 321.
52. Gurbel, P. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity / P. Gurbel, K. Bliden, B. Hiatt // *Circulation*. - 2003. - Vol. 107, № 23. - P. 2908 - 2913.
53. Gurbel, P. Durability of platelet inhibition by clopidogrel / P. Gurbel, K. Bliden // *Am. J. Cardiol*. - 2003. - Vol. 91, № 9. - P. 1123 - 1125.
54. Gurbel, P. Failure of clopidogrel to reduce platelet reactivity and activation following standard dosing in elective stenting: implication for thrombotic events and restenosis / P. Gurbel, W. Samara, K. Bliden // *Platelets*. - 2004. - Vol. 15, № 2. - P. 95 – 99.
55. Hankey, G.L. Aspirin resistance / G.L. Hankey, J. Eikelboom // *Lancet*. - 2006. - Vol. 367. - P. 606 – 617.
56. Impact of Pglycoprotein on clopidogrel absorption / D. Taubert, N. Von Beckerach, G. Grimberg, et al. // *Clin. Pharmacol. Ther*. - 2006. - Vol. 80. - P. 486 – 501.
57. Influence of aspirin resistance on platelet function profiles in patients on long-term aspirin and clopidogrel after percutaneous coronary intervention / DJ. Angiolillo, A. Fernandez-Ortiz, E. Bernardo, et al. // *Am. J. Cardiol*. - 2006. - Vol. 97, № 1. - P. 38 – 43.
58. Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology / W. Kulickowski, A. Witkowski, L. Polonski, et al. // *European Heart Journal*. - 2009. - Vol. 30. – P. 426 - 435.

59. ISIS – 2 (Second international Study of Infarct survival) collaborative Group. Randomized trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both or neither among 17187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS -2 // *Lancet*. – 1988. - № 2. – P. 349 - 360.
60. Jack, D. A significant drug-metabolizing role for CYP3A5? / D. Jack et al. // *Drug Metabolism & Disposition*. - 2003. - Vol. 31, № 12. - P. 1526 – 1530.
61. Jarvis, G.E. Platelet aggregation: turbidimetric measurements / G.E. Jarvis // *Methods Mol. Biol.* – 2004. - Vol. 272. - P. 65 – 76.
62. Kamala, Bhavaraju. Antagonism of P2Y12 reduces physiological thromboxane levels / Kamala Bhavaraju, Alexander Georgakis, Jianguo Jin // *Platelets*. – 2010. – Vol. 21, № 8. – P. 604-609.
63. Kim, S.H. Association of thromboxane A2 receptor gene polymorphism with the phenotype of acetyl salicylic acid-intolerant asthma / S.H. Kim, J.H. Choiw, H.S. Park // *Clin. Exp. Allergy*. - 2005. - Vol. 35. - P. 585–590.
64. Lau, W. Atorvastatin reduces the ability of clopidogrel to inhibit platelet aggregation: a new drug-drug interaction / W. Lau, L. Waskell, P. Watkins // *Circulation*. - 2003. - Vol. 107, № 1. - P. 32 - 37.
65. Lepantalo, A. Limited early antiplatelet effect of 300 mg clopidogrel in patients with aspirin therapy undergoing percutaneous coronary interventions / A. Lepantalo, K. Virtanen, J. Heikkil // *Eur. Heart J.* – 2004. – Vol. 25. – P. 476 – 483.
66. Libby, P. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk strategies assessment / Peter Libby et al. // Part I. *Circulation*. – 2003. – Vol. 108. – P. 1664 - 1672.
67. Long-term endothelial dysfunction after coronary artery stenting / P. Caramori, V. Lima, P. Seidelin et al. // *JACC*. - 1999. - Vol. 34, № 6. - P. 1675 – 1679.
68. Matetzky, S. The genetic basis of platelet responsiveness to clopidogrel / S. Matetzky, P. Fefer // *Thromb. Haemost.* - 2011. - Vol. 106. - P. 203 – 210.

69. McNicol, A. Platelets and anti-platelet therapy / A. McNicol, S. J. Israels // *Pharmacol. Sci.* - 2003. - Vol. 93, № 4. - P 381 - 396.
70. Mega, J.L. Cytochrome P450 polymorphisms and response to clopidogrel / J.L. Mega, S.L. Close, S.D. Wiviott // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 360. – P. 354 - 362.
71. Mega, J. «Increasing Clopidogrel Based on CYP2C19 Genotype in Patients with Cardiovascular Disease» [Электронный ресурс] / J. Mega et al. // *AHA Sci. sessions.* - Nov 16, 2011. – Режим доступа: http://my.americanheart.org/idc/groups/ahamah-public/@wcm/@sop/@scon/documents/downloadable/ucm_433744.
72. Michelson, A. Platelet function testing in cardiovascular diseases / A. Michelson // *Circulation.* - 2005. - Vol. 10. - P. 132 – 137 (Suppl. 1).
73. Montalescot, G. A randomized comparison of high clopidogrel loading doses in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: the ALBION (Assessment of the Best Loading Dose of Clopidogrel to Blunt Platelet Activation, Inflammation and Ongoing Necrosis) trial / G. Montalescot, G. Sideris, C. Meuleman // *JACC.* - 2006. - Vol. 48, №5. - P. 931 - 938.
74. Munger, M. Atherothrombosis: epidemiology, pathophysiology, and prevention / M. Munger, D. Hawkins // *J. Am. Pharm. Assos.* - 2004. - Vol. 44, № 2 (Suppl. 1). - P. S5 - S12.
75. Müller, I. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement / I. Müller, F. Besta, C. Schulz // *Thromb. Haemost.* - 2004. - Vol. 89. - P. 783 – 787.
76. Patrono, C. Platelet Activation and Inhibition in Unstable Coronary Syndromes / C. Patrono, G. Renda // *Am. J. Cardiol.* - 1997. - Vol. 80, № 5 A. - P 17E -20E.
77. Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in acute coronary syndromes: a meta-analysis of all major randomized clinical trials / E. Boersma, R.A. Harrington, D.J. Moliterno et al. // *Lancet.* – 2002. - Vol. 359. - P. 189-198.

78. Platelet inhibition by aspirin is diminished in patients during carotid surgery: a form of transient aspirin resistance? / D.A. Payne, C.I. Jones, P.D. Hayes et al. // *Thromb. Haemost.* – 2004. - Vol. 92. - P. 89 - 96.
79. Peto, R. Randomized trial of prophylactic daily aspirin in British mail doctors / R. Peto et al. // *BMJ.* – 1988. – Vol. 926. – P. 313 - 316.
80. Pharmacogenetic Testing for Clopidogrel Using, the Rapid INFINITI Analyzer Harvey White, Jamie Voss, John Ormiston // *JACC: Cardiovascular Intervention.* - 2009. - Vol. 2. – P. 11.
81. Protective effects of aspirin against acute myocardial infarction and death in men with unstable angina. Results of a Veterans Administration Cooperative Study / H.D. Lewis, J.W. Davis, D.G. Archibald et al. // *N. Engl. J. Med.* - 1983 Aug 18. – Vol. 309, № 7. – P. 396 – 403.
82. Randomized double-blind assessment of the ONSET and OFFSET of the antiplatelet effects of ticagrelor versus clopidogrel in patients with stable coronary artery disease: the ONSET/OFFSET study / P.A. Gurbel, K.P. Bliden, K. Butler et al. // *Circulation.* – 2009. – Vol. 120, № 25. – P. 2577-2785.
83. Ridker, P.M. A randomized trial of low-dose aspirin in primary prevention of cardiovascular disease in women / P.M. Ridker, N.R. Cook, I.M. Lee // *N. Engl. J. Med.* - 2005. - Vol. 352. - P. 1293 – 1304.
84. Rocca, B. Determinants of the interindividual variability in response to antiplatelet drugs / B. Rocca, C. Patrono // *J. Thromb. Haemost.* - 2005. - Vol. 3, № 8. - P. 1597 - 1602.
85. Saw, J. Lack of adverse clopidogrel-atorvastatin clinical interaction from secondary analysis of a randomized, placebo-controlled clopidogrel trial / J. Saw, S. Steinhubl, P. Berger // *Circulation.* - 2003. - Vol. 108, № 8. - P 921-924.
86. Serebruany, V. Statins do not affect platelet inhibition with clopidogrel during coronary stenting / V. Serebruany, A. Malinin, K. Callahan // *Atherosclerosis.* - 2001. - Vol. 159, № 1. - P. 239 - 241.

87. Sibbing, D. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention / D. Sibbing, J. Stegherr, W. Latz // *Eur. Heart J.* – 2009. – Vol. 30. – P. 916 - 922.
88. Siller-Matula, J.M. Pharmacokinetic, pharmacodynamic and clinical profile of novel antiplatelet drugs targeting vascular diseases / J.M. Siller-Matula, J. Krumphuber, B. Jilma // *Br. J. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 159, № 3 – P. 502 - 517.
89. Sirotkina, O. The new single nucleotide polymorphisms of ADP receptor P2Y12 gene affected platelet aggregation and myocardial infarction development were found in Russia / O. Sirotkina, A. Novikova, T. Vavilova // *J. Thromb. Haemost.* - 2005. - Vol. 3 (Suppl 1). - P. 0980.
90. Steering Committee of the Physician' Health Study Research Group. Final report of the aspirin component of the ongoing Physician' Health Study // *New England Journal of Medicine.* – 1989. - Vol. 321. – P. 129 - 135.
91. Steinhubl, S. Resistance to antiplatelet resistance is it justified? / S. Steinhubl, R. Charnigo, D. Moliterno // *JACC.* - 2005. - Vol. 42, № 11. - P. 1757 – 1758.
92. Stone, G. Long-term care after percutaneous coronary intervention: focus on the role of antiplatelet therapy / G. Stone, H. Aronow // *Mayo Clin. Proc.* - 2006. - Vol. 81, № 5. - P. 641 – 652.
93. Storey, R.F. Current Pharmaceutical Design – 2006 / R.F. Storey // *JACC.* – 2007. – Vol. 50. – P. 1844.
94. Sun, Ah. Association of polymorphisms in thromboxane A2 receptor and thromboxane A synthase 1 with cerebral infarction in a Korean population / Ah Sun, Lae Byung, Jeong Ho. // *BMB.* - 2009. - P. 200 – 205.
95. Taubert, D. Pharmacokinetics of clopidogrel after administration of a high loading dose / D. Taubert, A. Kastrati, S. Harlfinger // *Thrombosis Haemost.* - 2004. - Vol. 92, № 2. - P. 311 - 316.
96. The Medical Research Group Council's General Practice Research Framework. Thrombosis prevention trial of low intense oral anticoagulants with warfarin and

- low-dose aspirin in primary prevention of ischemic heart disease in men at increased risk // *Lancet*. - 1998. - Vol. 351. - P. 233 – 241.
97. Ticagrelor versus Clopidogrel in Patients with Acute Coronary Syndromes / L. Wallentin, R. C. Becker, A. Budaj et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2009. – Vol. 361, № 11. – P. 1045 - 1057.
98. Underuse of aspirin in a referral population with documented coronary artery disease / R. Califf, E. DeLong, T. Ostbye et al. // *Am. J. Cardiol.* - 2002. - Vol. 89, № 6. - P. 653 – 661.
99. Vessel, plaque, and lumen morphology after transluminal balloon angioplasty. Quantitative study in distended human arteries / R. Lyon, C. Zarins, C. Lu et al. // *Arteriosclerosis*. - 1987. - Vol. 7, № 3. - P. 306 - 314.
100. Wallentin, L.C. Aspirin after episode of instable coronary artery disease: long – term effects on the risk of myocardial infarction, occurrence of severe ischemia and necessity of revascularization / L.C. Wallentin, and RISC // *J. of American College of Cardiol.* – 1991. – Vol. 18. – P. 1587 – 1593.
101. Wenbin Z. The relationship between P2Y12 gene polymorphisms and clopidogrel resistance in patients with coronary heart disease / Zhang Wenbin, Chen Xiaoyan, Zhang Xinxia // *Heart*. – 2012. - Vol. 98. - P. 105.
102. Yee, D. Aggregometry detects platelet hyperreactivity in healthy individuals / D. Yee, C. Sun, A. Bergeron // *Blood*. - 2005. - Vol. 106, № 8. - P. 2723 - 2729.
103. Yong, G. Randomized trial comparing 600-with 300-mg loading dose of clopidogrel in patients with non-ST elevation acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention: results of the Platelet Responsiveness to Aspirin and Clopidogrel and Troponin Increment after Coronary intervention in Acute coronary Lesions (PRACTICAL) Trial / G. Yong, J. Rankin, L. Ferguson // *American Heart Association*. - 2009. - Vol. 157, № 1. - P. 601 - 609.