Российский кардиологический журнал 2021;26(6):4442
doi:10.15829/1560-4071-2021-4442
https://russjcardiol.elpub.ru

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ
ISSN 1560-4071 (print)
ISSN 2618-7620 (online)

Молекулярно-метаболические особенности изменения чувствительности тромбоцитов к антитромбоцитарной терапии у больных с ишемической болезнью сердца до и после коронарного шунтирования

Гончаров М. Д.[1,2], Гринштейн Ю. И.[2], Савченко А. А.[2,3], Косинова А. А.[2]

Цель. Изучить особенности продукции активных форм кислорода (АФК) тромбоцитами у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) до и после коронарного шунтирования (КШ) в зависимости от их чувствительности к ацетилсалициловой кислоте (АСК) на фоне монотерапии АСК и двойной антитромбоцитарной терапии (ДАТТ) (АСК+клопидогрел).

Материал и методы. В исследование включено 104 пациента с ИБС (64 на монотерапии АСК, 40 на ДАТТ). С 1 дня после операции КШ они принимали 100 мг/сут. кишечнорастворимой формы АСК, в группе пациентов на ДАТТ клопидогрел назначался на 2-3 сут. после КШ. Все измерения проводили до операции, в 1 сут. и на 8-10 сут. после операции. Контрольная группа — 36 здоровых доноров. Резистентность к АСК определяли при уровне оптической агрегации тромбоцитов с арахидоновой кислотой ≥20% хотя бы в одной точке наблюдения. Оценивали спонтанную и АДФ-индуцированную хемилюминесценцию (ХЛ) тромбоцитов с люминолом и люцигенином по параметрам: время выхода на максимум интенсивности (Tmax), максимальная интенсивность (Imax), площадь (S) под кривой ХЛ и отношение S индуцированной ХЛ к S спонтанной ХЛ.

Результаты. 71 пациент с ИБС оказался чувствительным к АСК (чАСК) (46 на монотерапии АСК и 25 на ДАТТ), 3 оказались резистентными (рАСК) на протяжении всего исследования (1 на монотерапии АСК и 2 на ДАТТ), а чувствительность еще 30 (17 на монотерапии АСК и 13 на ДАТТ) в разные периоды наблюдения менялась. По сравнению с контрольной группой у чАСК повышены значения многих показателей ХЛ тромбоцитов на протяжении всего исследования, в группе рАСК (монотерапия АСК) выше оказалось Tmax до КШ, а в группе рАСК (терапия АСК+клопидогрел) выше оказались Imax и S в первые сут. после КШ, Imax на 8-10 сут. после КШ. По сравнению с чАСК у рАСК (монотерапия АСК) значения показателей S, Imax до КШ, Imax после КШ, Imax и S на 8-10 сут. после КШ оказались достоверно ниже, а у рАСК (терапия АСК+клопидогрел) оказались ниже лишь значения Tmax на 8-10 сут. после КШ.

Заключение. У пациентов с ИБС в зависимости от чувствительности к АСК, от антитромбоцитарной терапии после КШ различается метаболическая активность тромбоцитов по продукции АФК. У чАСК синтез АФК выше, чем у здоровых лиц, у рАСК на монотерапии АСК тромбоциты продуцируют уровни АФК ниже, чем у чАСК. Операция КШ и добавление к терапии АСК клопидогрела приводит к повышенной продукции АФК у рАСК в послеоперационном периоде.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, клопидогрел, ацетилсалициловая кислота, резистентность, активные формы кислорода, тромбоцит.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта: № 18-415-243003 “Персонификация антитромбоцитарной терапии пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) в зависимости от уровня экспрессии гена Р-селектина, выраженности межклеточного взаимодействия и воспаления”.

[1]Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии, Красноярск; [2]Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск; [3]Федеральный исследовательский центр Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, обособленное подразделение НИИ медицинских проблем Севера, Красноярск, Россия.

Гончаров М. Д.* — соискатель, кафедра терапии Института последипломного образования; врач лабораторной диагностики, ORCID: 0000-0001-5583-7412, Гринштейн Ю. И. — д.м.н., профессор, зав. кафедрой терапии Института последипломного образования, ORCID: 0000-0002-4621-1618, Савченко А. А. — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии, ORCID: 0000-0001-5829-672X, Косинова А. А. — к.м.н., ассистент, кафедра терапии Института последипломного образования, ORCID: 0000-0002-7412-2516.

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author): adimax07@mail.ru

АДФ — аденозиндифосфат, АКШ — аортокоронарное шунтирование, АСК — ацетилсалициловая кислота, АФК — активные формы кислорода, ИБС — ишемическая болезнь сердца, КШ — коронарное шунтирование, МКШ — маммарокоронарное шунтирование, рАСК — резистентные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, ХЛ — хемилюминесценция, чАСК — чувствительные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, ЦОГ — циклооксигеназа, Tmax — время выхода на максимум интенсивности хемилюминесценции, Imax — максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, S — площадь под кривой хемилюминесценции.

Рукопись получена 02.04.2021
Рецензия получена 12.05.2021
Принята к публикации 04.06.2021

CC BY 4.0

Для цитирования: Гончаров М. Д., Гринштейн Ю. И., Савченко А. А., Косинова А. А. Молекулярно-метаболические особенности изменения чувствительности тромбоцитов к антитромбоцитарной терапии у больных с ишемической болезнью сердца до и после коронарного шунтирования. *Российский кардиологический журнал*. 2021;26(6):4442. doi:10.15829/1560-4071-2021-4442

Molecular and metabolic characteristics of changes in the platelet sensitivity to antiplatelet therapy in patients with coronary artery disease before and after coronary artery bypass grafting

Goncharov M. D.[1,2], Grinshtein Y. I.[2], Savchenko A. A.[2,3], Kosinova A. A.[2]

Aim. To study the production of reactive oxygen species (ROS) by platelets in patients with coronary artery disease (CAD) before and after coronary artery bypass grafting (CABG), depending on their sensitivity to acetylsalicylic acid (ASA) as a part of ASA monotherapy and dual antiplatelet therapy (DAPT) (ASA+clopidogrel).

Material and methods. The study included 104 patients with CAD (ASA monotherapy, 64 patients; DAPT, 40 patients). From day 1 after CABG, they took 100 mg a day of enteric-coated ASA. In the DAPT group, clopidogrel was prescribed for 2-3 days after CABG. All measurements were performed before surgery, on the 1st day and days 8-10 after surgery. Control group consisted of 36 healthy donors. Resistance to ASA was determined at a level of optical platelet aggregation with arachidonic acid ≥20% at least at one observation point. The spontaneous and ADP-induced chemiluminescence (CL) of platelets with luminol and lucigenin was assessed according to the following parameters: time to

maximum intensity (Tmax), maximum intensity (Imax), area (S) under the CL curve, and the ratio of ADP-induced CL S to spontaneous CL S.

Results. Throughout the study, 71 patients with CAD were sensitive to ASA (sASA) (ASA monotherapy, 46 patients; DAPT, 25 patients), three patients — resistant (rASA) (ASA monotherapy, 1; DAPT, 2). Sensitivity of other 30 patients (ASA monotherapy, 17; DAPT, 13) changed in different follow-up periods. Compared to the control group, sASA patients had increased values of platelet CL parameters throughout the study, while in the rASA group (ASA monotherapy), Tmax was higher before CABG, and in the rASA group (ASA therapy+clopidogrel), Imax and S were higher on the first day after CABG, while Imax — on days 8-10 after CABG. Compared to sASA, the values of S and Imax before CABG, Imax after CABG, as well as Imax and S on the days 8-10 after CABG in rASA (ASA monotherapy) were significantly lower, while in rASA (ASA therapy+clopidogrel), only the Tmax values were lower on the 8-10 days after CABG.

Conclusion. In patients with CAD, depending on the sensitivity to ASA and antiplatelet therapy after CABG, the metabolic activity of platelets in terms of ROS production differs. In sASA patients, ROS synthesis is higher than in healthy individuals, while, in rASA patients (ASA monotherapy), platelets produce ROS levels lower than in sASA. CABG surgery and the addition of clopidogrel to ASA therapy leads to increased ROS production in rASA patients in the postoperative period.

Keywords: coronary artery disease, clopidogrel, acetylsalicylic acid, resistance, reactive oxygen species, platelet.

Relationships and Activities. The study was financially supported by the Russian Foundation for Basic Research, the Government of the Krasnoyarsk Krai, the Krasnoyarsk Regional Science Foundation within the research project № 18-415-243003 “Personification of antiplatelet therapy in patients with coronary artery disease (CAD), depending on the level of P-selectin gene expression, the activity of intercellular interaction and inflammation”.

[1]Federal Center for Cardiovascular Surgery, Krasnoyarsk; [2]V. F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk; [3]Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”, Research Institute for Medical Problems in the North, Krasnoyarsk, Russia.

Goncharov M. D.* ORCID: 0000-0001-5583-7412, Grinshtein Y. I. ORCID: 0000-0002-4621-1618, Savchenko A. A. ORCID: 0000-0001-5829-672X, Kosinova A. A. ORCID: 0000-0002-7412-2516.

*Corresponding author:
adimax07@mail.ru

Received: 02.04.2021 **Revision Received:** 12.05.2021 **Accepted:** 04.06.2021

For citation: Goncharov M. D., Grinshtein Y. I., Savchenko A. A., Kosinova A. A. Molecular and metabolic characteristics of changes in the platelet sensitivity to antiplatelet therapy in patients with coronary artery disease before and after coronary artery bypass grafting. *Russian Journal of Cardiology*. 2021;26(6):4442. (In Russ.) doi:10.15829/1560-4071-2021-4442

Сердечно-сосудистые заболевания лидируют среди всех причин смертности, влияя на сокращение численности, в т.ч. работоспособного, населения, что является социально значимой проблемой, требующей пристального внимания и поиска решений.

При тяжелом гемодинамически значимом поражении коронарного русла одним из вариантов восстановления кровотока в ишемизированных участках миокарда является коронарное шунтирование (КШ). После КШ пациентам для сохранения проходимости венозных и артериальных шунтов назначается антитромбоцитарная терапия ацетилсалициловой кислотой (АСК) или клопидогрелом. Несмотря на эффективность такого антитромбоцитарного лечения, у части пациентов наблюдается сниженная чувствительность как к АСК, так и к клопидогрелу, а значит остается высокий риск тромбоза шунтов. Среди множества причин резистентности тромбоцитов к АСК одной из основных выделяют недостаточное подавление фермента циклооксигеназы-1 (ЦОГ-1), который участвует в синтезе тромбоксана А2, вызывающего агрегацию тромбоцитов. Резистентность же к клопидогрелу связывают в основном с генетическими полиморфизмами рецепторов аденозиндифосфата (АДФ) и ферментов, участвующих в метаболизме препарата, низкой приверженностью к терапии, недостаточной абсорбцией.

В конечном итоге чувствительность тромбоцитов определяется их функциональной активностью, а также активностью метаболических процессов, обеспечивающих энергетические и пластические субстраты в процессе жизнедеятельности этих клеток. Благодаря гармоничной слаженной работе всех внутренних механизмов, осуществляется сборка рецепторов на мембране тромбоцитов, синтез и упаковка в гранулы активных веществ, а также обеспечение тромбоцитов энергетическими ресурсами. Здесь важную роль играют активные формы кислорода (АФК), которые могут участвовать в качестве сигнальных молекул, а также активировать тромбоциты, их рецепторы [1]. Синтез АФК связан с работой НАДФН-оксидазного комплекса цитоплазматической мембраны, миелопероксидазы, супероксиддисмутазы, дыхательной цепи внутренней мембраны митохондрий. Кроме того, продукция супероксид анион-радикала и гидроксильного радикала возможна рецепторно-опосредованными сигнальными путями, а также при метаболизме арахидоновой кислоты при участии ЦОГ-1 внутри тромбоцитов, особенно, при стимуляции их коллагеном [2]. Образованные в результате этого первичные и вторичные АФК способны инициировать дальнейший каскад синтеза других АФК. Так как точкой приложения для АСК является ЦОГ-1, то вполне вероятно, что восприимчивость тромбоцитов к ней зависит от метаболизма арахидоновой кислоты, судить о котором можно, в частности, по продукции АФК с помощью хемилюминесцентного (ХЛ) метода, применяя дополнительные стимулирующие агенты. Для выявления первичных АФК дополнительно можно использовать люцигенин (не проникает в клетку), для вторичных АФК — люминол (проходит через клеточную мембрану).

В литературе встречаются исследования, раскрывающие явление изменчивости чувствительности тромбоцитов, связанное с различными причинами

Таблица 1

Характеристика пациентов

Характеристики	Все пациенты	чАСК	рАСК	p
Пол, женский/мужской, n (%)	25 (24%)/79 (76%)	14 (19,7%)/57 (80,3%)	11 (33,3%)/22 (66,7%)	0,131
Возраст (годы), Me (C25-C75)	63 (56-65)	62 (57-65)	62 (55-66)	0,319
Курение (текущий статус), %	39,7	42,5	29,6	0,227
Общий холестерин, ммоль/л	4,28 (3,69-5,58)	4,50 (3,79-5,66)	3,93 (3,56-5,49)	0,132
Лейкоциты, 10^9/л	7,57 (6,44-8,60)	7,60 (6,70-8,70)	7,10 (6,10-8,38)	0,774
Тромбоциты, 10^9/л	228,0 (203,0-276,0)	222,0 (201,0-267,5)	229,0 (214,5-283,5)	1,0
Эритроциты, 10^{12}/л	5,00 (4,7-5,3)	5,0 (4,7-5,3)	4,9 (4,7-5,2)	0,386
Гемоглобин, г/л	141,0 (133,0-152,3)	141,0 (133,5-154,5)	141,0 (132,0-147,0)	0,878
Креатинин, ммоль/л	109,0 (97,8-119,0)	109,0 (98,5-118,5)	112,0 (97,0-119,0)	0,688
Стабильная стенокардия II, %	49,6	50,5	48,0	0,578
Стабильная стенокардия III, %	39,3	37,4	48,0	0,508
Сахарный диабет, %	27,3	23,4	40,7	0,075
Инфаркт миокарда в анамнезе, %	62,8	62,8	62,9	0,986
Ожирение, %	32,2	35,1	48,2	0,077

Примечание: данные представляют собой медианы и межквартильный размах (Me (C25-C75)). $p<0,05$ между показателями пациентов с чАСК и рАСК (U-критерий Манна-Уитни). Для сравнения категориальных переменных использовался критерий χ^2, за исключением случаев, когда ожидаемые частоты в таблицах непредвиденных обстоятельств были меньше 5, и в этом случае использовался точный критерий Фишера.

Сокращения: рАСК — резистентные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, чАСК — чувствительные к ацетилсалициловой кислоте пациенты.

(условия искусственного кровообращения, почечная дисфункция, назначение селективных нестероидных противовоспалительных препаратов в послеоперационном периоде, сниженная биодоступность кишечнорастворимой формы АСК, воспалительный ответ) [3, 4].

Поэтому представляется интересным и чрезвычайно важным изучение влияния операции КШ на чувствительность тромбоцитов к АСК с позиции их метаболической активности в отношении продукции АФК. При этом также необходимо оценивать особенности тромбоцитарной продукции АФК у пациентов, резистентных и чувствительных к АСК, как при монотерапии АСК, так и на терапию АСК и клопидогрелом после КШ.

Таким образом, целью исследования явилось изучение особенностей продукции АФК тромбоцитами у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) до и после КШ в зависимости от их чувствительности к АСК на фоне монотерапии АСК и двойной антитромбоцитарной терапии (ДАТТ) (АСК+клопидогрел).

Материал и методы

В исследование было включено 104 пациента (79 мужчин и 25 женщин) с ИБС в возрасте от 35 до 76 лет (средний возраст 61±5,5 года), со II-IV функциональным классом стабильной стенокардии согласно Канадской классификации. 64 пациента находились на терапии АСК и 40 пациентов на ДАТТ (АСК+клопидогрел). Всем пациентам выполнялась операция КШ (аортокоронарное (АКШ) + маммарокоронарное шунтирование (МКШ) — 77 человек, МКШ — 25 человек, АКШ — 2 человека). Атеросклеротическое поражение коронарных артерий подтверждалось коронароангиографией. Критериями, по которым пациентов не включали в исследование, были хроническая болезнь почек (скорость клубочковой фильтрации <60 мл/мин/1,73 м^2), печеночная недостаточность (превышение норм активности печеночных трансаминаз в 3 и более раз), язвенная болезнь желудка и/или 12-перстной кишки в стадии обострения, непереносимость АСК и клопидогрела. Характеристика пациентов по клинико-лабораторным признакам представлена в таблице 1.

Пациенты принимали следующие группы препаратов до КШ: β-блокаторы — 91,9% пациентов, ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента — 90,8%, блокаторы рецепторов к ангиотензиногену II — 5%, блокаторы кальциевых каналов — 16,9%, диуретики — 42,4%, антагонисты альдостерона — 40,6%, статины — 100%. Перед КШ за 5 дней пациенты прекращали получать антиагреганты, а с первого дня после операции им назначалось 100 мг/сут. кишечнорастворимой формы АСК, в группе пациентов на ДАТТ клопидогрел назначался на 2-3 сут. после КШ. Измерения на всем протяжении исследования для каждого пациента с ИБС проводили трижды (до операции, в 1 сут. сразу после операции и на 8-10 сут. после операции). Такой дизайн исследования позволяет установить влияние КШ и приема АСК на исследуемые параметры. Контрольную группу составили 36 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту.

Исследование было выполнено с учетом информированного согласия испытуемых в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоци-

Таблица 2

ХЛ активность тромбоцитов с люцигенином у пациентов с ИБС до АКШ (Me (C_{25}-C_{75}))

Показатели	Контроль (n=36)	чАСК (n=71)	рАСК (монотерапия АСК) (n=17)	рАСК (терапия АСК+клопидогрел) (n=13)
Спонтанная ХЛ				
Tmax, сек	219 (82-719)	813 (222-2841) p_1=0,027	611 (339-1908)	212 (70-560)
Imax, о.е. × 10^3	0,074 (0,06-0,086)	0,12 (0,09-0,50) p_1=0,006	0,061 (0,047-0,086) p_2=0,006	0,088 (0,07-0,096)
S, о.е. × сек × 10^6	0,225 (0,171-0,266)	0,30 (0,18-0,79)	0,136 (0,12-0,321)	0,227 (0,162-0,233)
Индуцированная ХЛ				
Tmax, сек	319 (73-1393)	1036 (445-3745) p_1=0,004	764 (509-1979)	636 (287-1201)
Imax, о.е. × 10^3	0,076 (0,062-0,082)	0,13 (0,08-0,43) p_1=0,013	0,071 (0,058-0,124)	0,1 (0,075-0,132)
S, о.е. × сек × 10^6	0,241 (0,161-0,295)	0,41 (0,25-1,11)	0,234 (0,18-0,344)	0,27 (0,202-0,312)
Sинд./Sспонт.	1,03 (0,96-1,24)	1,06 (0,89-1,28)	1,13 (1,01-1,21)	0,98 (0,93-1,65)

Примечание: p_1 — уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями контрольной группы; p_2 — уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями чАСК пациентов с ИБС.

Сокращения: АСК — ацетилсалициловая кислота, ИБС — ишемическая болезнь сердца, инд. — индуцированная, о.е. — относительные единицы, рАСК — резистентные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, спонт. — спонтанная, чАСК — чувствительные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, ХЛ — хемилюминесценция, Tmax — время выхода на максимум интенсивности хемилюминесценции, Imax — максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, S — площадь под кривые хемилюминесценции.

ации “Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека” с поправками 2000г и “Правилами клинической практики в Российской Федерации”, утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003г № 266. Протокол исследования был одобрен Этическим комитетом Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого (протокол 76/2016 от 04.05.2017).

В исследовании использовали кровь, стабилизированную 3,2% цитратом натрия в соотношении 9:1. Для определения резистентности тромбоцитов к АСК получали плазму, богатую тромбоцитами (центрифугирование крови при 140 g в течение 10 мин, при температуре 24° С) и плазму, бедную тромбоцитами (центрифугирование крови при 1500 g в течение 15 мин, температура 24° С). Определение резистентности к АСК проводили в 500 мкл богатой тромбоцитами плазмы относительно бедной тромбоцитами плазмы на агрегометре Chronolog 490 (США) с добавлением 5 мкл арахидоновой кислоты (0,5 мМ) CHRONO-PAR (США). Если измерение проводилось до начала терапии АСК, то агрегация тромбоцитов с арахидоновой кислотой определялась после их инкубации с 10 мкл АСК (3,36 мМ, чистота ⩾99,0%, A5376 Sigma Aldrich) *in vitro* в течение 3 мин при температуре 37° С для прогнозирования аспиринорезистентности. Резистентность к АСК определялась при уровне агрегации тромбоцитов с арахидоновой кислотой ⩾20% хотя бы в одной точке наблюдения: на дезагрегантной терапии на 8-10 день после КШ или при инкубации плазмы пациента с АСК *in vitro* до начала оперативного вмешательства и лечения АСК.

Для определения ХЛ активности тромбоцитов обогащенную тромбоцитами плазму, после стояния крови в термостате в течение 30 мин, получали путем центрифугирования стабилизированной крови при 140 g в течение 10 мин при температуре 24° С. Супернатант отбирали и переносили в пластиковую пробирку, доводили буфером № 1 (90 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 36 мМ цитрата натрия, 10 мМ ЭДТА, pH 7,2) до разведения в 2 раза. Полученную смесь центрифугировали при 400 g в течение 15 мин при температуре 24° С. Осадок ресуспендировали в буфере № 1 (5 мл) и повторно центрифугировали при 400 g в течение 1 мин. Полученный супернатант вновь центрифугировали при 400 g в течение 15 мин. Супернатант аккуратно сливали, к осадку добавляли 10 мл буфера № 2 (0,13 М NaCl, 0,02 М трис-HCl-буфера, 0,03 М ЭДТА, 0,015 М глюкозы, pH 7,4). Центрифугировали 50 сек при 140 g. Оценка количества и чистоты выделенных тромбоцитов проводилась на гематологическом анализаторе Sysmex XE-5000 (Sysmex Inc., США). Чистота выделенных тромбоцитов составляла 98-100%. Для исследования использовали тромбоциты в количестве 2×10^7 клеток на пробу. Реакционная смесь также включала 50 мкл люцигенина или люминола в концентрации 50 мкг/мл, 50 мкл АДФ 0,1 М (для оценки индуцированного синтеза АФК) и 250 мкл (для оценки спонтанного синтеза АФК) или 200 мкл (для оценки АДФ-индуцированного синтеза АФК) буфера (0,13 М NaCl, 0,02 М Трис-HCl буфера, 0,03 М ЭДТА, 0,015 М глюкозы, pH 7,4). Оценку спонтанной и АДФ-индуцированной ХЛ осуществляли в течение 90 мин на 36-канальном биохемилюминесцентном анализаторе БЛМ-3607 (ООО “МедБиоТех”, Россия) [5].

Таблица 3

ХЛ активность тромбоцитов с люцигенином у пациентов с ИБС в первые сут. после КШ (Me (C_{25}-C_{75}))

Показатели	Контроль (n=36)	чАСК (n=71)	рАСК (монотерапия АСК) (n=17)	рАСК (терапия АСК+клопидогрел) (n=13)
Спонтанная ХЛ				
Tmax, сек	219 (82-719)	494 (255-2043) p_1=0,008	408 (95-710)	212 (89-382)
Imax, о.е. × 10^3	0,074 (0,06-0,086)	0,1 (0,08-0,30) p_1=0,036	0,065 (0,05-0,077) p_2=0,006	0,097 (0,086-0,117) p_1=0,049
S, о.е. × сек × 10^6	0,225 (0,171-0,266)	0,35 (0,21-0,56)	0,182 (0,11-0,245)	0,36 (0,22-0,398)
Индуцированная ХЛ				
Tmax, сек	319 (73-1393)	458 (177-985)	509 (66-799)	282 (178-2519)
Imax, о.е. × 10^3	0,076 (0,062-0,082)	0,1 (0,08-0,45)	0,058 (0,054-0079) p_2=0,006	0,09 (0,072-0,097)
S, о.е. × сек × 10^6	0,241 (0,161-0,295)	0,32 (0,21-0,67)	0,176 (0,162-0,218)	0,314 (0,156-0,354)
Sинд./Sспонт.	1,03 (0,96-1,24)	1,03 (0,97-1,17)	0,92 (0,81-1,02)	0,89 (0,79-0,99) p_2=0,006

Примечание: p_1 — уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями контрольной группы; p_2 — уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями чАСК пациентов с ИБС.

Сокращения: АСК — ацетилсалициловая кислота, ИБС — ишемическая болезнь сердца, инд. — индуцированная, о.е. — относительные единицы, рАСК — резистентные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, спонт. — спонтанная, чАСК — чувствительные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, ХЛ — хемилюминесценция, Tmax — время выхода на максимум интенсивности хемилюминесценции, Imax — максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, S — площадь под кривые хемилюминесценции.

Таблица 4

ХЛ активность тромбоцитов с люцигенином у пациентов с ИБС на 8-10 сут. после КШ (Me (C_{25}-C_{75}))

Показатели	Контроль (n=36)	чАСК (n=71)	рАСК (монотерапия АСК) (n=17)	рАСК (терапия АСК+клопидогрел) (n=13)
Спонтанная ХЛ				
Tmax, сек	219 (82-719)	611 (185-2198) p_1=0,015	212 (89-637)	124 (0-410) p_2=0,006
Imax, о.е. × 10^3	0,074 (0,06-0,086)	0,11 (0,09-0,34) p_1=0,002	0,064 (0,057-0,101)	0,085 (0,078-0,109)
S, о.е. × сек × 10^6	0,225 (0,171-0,266)	0,32 (0,20-0,85)	0,172 (0,158-0,199)	0,31 (0,244-0,329)
Индуцированная ХЛ				
Tmax, сек	319 (73-1393)	1625 (161-3099)	574 (171-819)	301 (53-1141)
Imax, о.е. × 10^3	0,076 (0,062-0,082)	0,12 (0,09-0,53) p_1=0,001	0,058 (0,051-0,097) p_2=0,006	0,085 (0,078-0,112)
S, о.е. × сек × 10^6	0,241 (0,161-0,295)	0,35 (0,28-1,47) p_1=0,037	0,13 (0,076-0,314) p_2=0,006	0,244 (0,145-0,315)
Sинд./Sспонт.	1,03 (0,96-1,24)	1,10 (0,88-1,95)	1,02 (0,44-1,36)	0,92 (0,51-1,1)

Примечание: p_1 — уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями контрольной группы; p_2 — уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями чАСК пациентов с ИБС.

Сокращения: АСК — ацетилсалициловая кислота, ИБС — ишемическая болезнь сердца, инд. — индуцированная, о.е. — относительные единицы, рАСК — резистентные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, спонт. — спонтанная, чАСК — чувствительные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, ХЛ — хемилюминесценция, Tmax — время выхода на максимум интенсивности хемилюминесценции, Imax — максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, S — площадь под кривые хемилюминесценции.

Определяли следующие характеристики: время выхода на максимум (Tmax), максимальное значение интенсивности (Imax), а также площадь под кривой (S) ХЛ. Усиление ХЛ, индуцированной АДФ, оценивали отношением площади под кривой индуцированной ХЛ к площади под кривой спонтанной (Sинд./Sспонт.).

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 25 и 75 процентилей (C_{25} и C_{75}). Статистическую значимость различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна-Уитни (Mann-Whitney U test). Статистически значимыми считались различия при $p<0,05$. Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США).

Результаты

В результате обследования из 104 пациентов с ИБС 71 (68,3%) был чувствительным к АСК (чАСК) на протяжении всего исследования (46 на монотерапии АСК и 25 на терапии АСК+клопидогрел). Остальные 33 (31,7%) пациента с ИБС проявляли резистентность к АСК (рАСК) хотя бы в одной точке наблюдения, что соответствует результатам других исследований, в которых резистентность к АСК составляла от 5 до 50% [6-8]. Из всех рАСК больных ИБС только 3 (9%) пациента оказались

Таблица 5

ХЛ активность тромбоцитов с люминолом у пациентов с ИБС до КШ (Me (C_{25}-C_{75}))

Показатели	Контроль (n=36)	чАСК (n=71)	рАСК (монотерапия АСК) (n=17)	рАСК (терапия АСК+клопидогрел) (n=13)
Спонтанная ХЛ				
Tmax, сек	141 (0-680)	229,5 (40,2-1833,5)	255 (85-1655)	95 (71-319)
Imax, о.е. × 10^3	0,077 (0,057-0,085)	0,12 (0,08-0,55) p_1=0,01	0,06 (0,048-0,14)	0,081 (0,079-0,339)
S, о.е. × сек × 10^6	0,226 (0,12-0,285)	0,29 (0,2-0,95)	0,141 (0,09-0,26)	0,29 (0,21-0,35)
Индуцированная ХЛ				
Tmax, сек	95 (0-598)	454,5 (0-1800)	710 (234-2197) p_1=0,024	776 (61-1426)
Imax, о.е. × 10^3	0,07 (0,059-0,081)	0,113 (0,08-0,5) p_1=0,008	0,06 (0,056-0,098)	0,1 (0,072-0,434)
S, о.е. × сек × 10^6	0,222 (0,151-0,251)	0,3 (0,22-0,88) p_1=0,041	0,148 (0,132-0,277) p_2=0,006	0,313 (0,181-0,367) p_3=0,025
Синд./Sспонт.	1 (0,88-1,1)	0,98 (0,75-1,13)	1,09 (1,01-1,19)	1,02 (0,67-1,11)

Примечание: p_1 — уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями контрольной группы; p_2 — уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями чАСК пациентов с ИБС; p_3 — уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями рАСК пациентов с ИБС (терапия АСК).

Сокращения: АСК — ацетилсалициловая кислота, ИБС — ишемическая болезнь сердца, инд. — индуцированная, о.е. — относительные единицы, рАСК — резистентные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, спонт. — спонтанная, чАСК — чувствительные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, ХЛ — хемилюминесценция, Tmax — время выхода на максимум интенсивности хемилюминесценции, Imax — максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, S — площадь под кривые хемилюминесценции.

Таблица 6

ХЛ активность тромбоцитов с люминолом у пациентов с ИБС в первые сут. после КШ (Me (C_{25}-C_{75}))

Показатели	Контроль (n=36)	чАСК (n=71)	рАСК (монотерапия АСК) (n=17)	рАСК (терапия АСК+клопидогрел) (n=13)
Спонтанная ХЛ				
Tmax, сек	141 (0-680)	141 (0-1107)	159 (90-2189)	141 (51-976)
Imax,о.е. × 10^3	0,077 (0,057-0,085)	0,15 (0,086-0,46) p_1=0,012	0,072 (0,049-0,088)	0,093 (0,084-0,185)
S, о.е. × сек × 10^6	0,226 (0,12-0,285)	0,33 (0,22-0,86) p_1=0,043	0,21 (0,084-0,328)	0,34 (0,299-0,444) p_1=0,015
Индуцированная ХЛ				
Tmax, сек	95 (0-598)	198 (0-1529) p_1=0,046	89 (0-1514)	71 (0-266)
Imax, о.е. × 10^3	0,07 (0,059-0,081)	0,130 (0,09-0,45) p_1=0,011	0,077 (0,053-0,103)	0,083 (0,078-0,293) p_1=0,024
S, о.е. × сек × 10^6	0,222 (0,151-0,251)	0,33 (0,17-1,05)	0,16 (0,011-0,234)	0,326 (0,155-0,36)
Синд./Sспонт.	1 (0,88-1,1)	0,94 (0,83-1,1)	0,96 (0,84-1,17)	0,99 (0,81-1,19)

Примечание: p_1 — уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями контрольной группы.

Сокращения: АСК — ацетилсалициловая кислота, ИБС — ишемическая болезнь сердца, инд. — индуцированная, о.е. — относительные единицы, рАСК — резистентные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, спонт. — спонтанная, чАСК — чувствительные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, ХЛ — хемилюминесценция, Tmax — время выхода на максимум интенсивности хемилюминесценции, Imax — максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, S — площадь под кривые хемилюминесценции.

резистентными на протяжении всего времени наблюдения (1 на монотерапии АСК и 2 на терапии АСК+клопидогрел), т.е. при всех трех измерениях, а чувствительность остальных 30 рАСК пациентов с ИБС (17 на монотерапии АСК и 13 на терапии АСК+клопидогрел) в разные периоды наблюдения менялась, что представляет интерес для изучения этого явления.

По результатам исследования было обнаружено, что у чАСК пациентов с ИБС статистически значимо выше значения многих показателей ХЛ тромбоцитов по сравнению с контрольной группой. До операции КШ это ХЛ с люцигенином (Tmax и Imax в спонтанном и АДФ-индуцированном тесте) и люминолом (Imax в спонтанном и АДФ-индуцированном тесте и S в АДФ-индуцированном тесте). В первые сут. после операции КШ это ХЛ с люцигенином (Tmax и Imax в спонтанном тесте) и люминолом (Imax и S в спонтанном тесте, Tmax и Imax в АДФ-индуцированном тесте). На 8-10 сут. после операции КШ это ХЛ с люцигенином (Tmax и Imax в спонтанном тесте, Imax и S в АДФ-индуцированном тесте) и люминолом (Imax и S в спонтанном тесте, Tmax, Imax и S в АДФ-индуцированном тесте) (табл. 2-7).

В группе рАСК пациентов с ИБС (монотерапия АСК) по сравнению с контрольной группой выше оказался лишь показатель Tmax в АДФ-индуцированном тесте с люминолом до операции КШ (табл. 5). В группе

Таблица 7

ХЛ активность тромбоцитов с люминолом у пациентов с ИБС на 8-10 сут. после КШ (Me (C_{25}-C_{75}))

Показатели	Контроль (n=36)	чАСК (n=71)	рАСК (монотерапия АСК) (n=17)	рАСК (терапия АСК+клопидогрел) (n=13)
Спонтанная ХЛ				
Tmax, сек	141 (0-680)	264 (0-1164)	382 (53-1134)	71 (0-660)
Imax, о.е. × 10^3	0,077 (0,057-0,085)	0,14 (0,09-1,253) p_1=0,001	0,06 (0,057-0,167)	0,134 (0,086-0,149) p_1=0,035
S, о.е. × сек × 10^6	0,226 (0,12-0,285)	0,4 (0,3-2,35) p_1<0,001	0,19 (0,171-0,416)	0,304 (0,172-0,358)
Индуцированная ХЛ				
Tmax, сек	95 (0-598)	492 (84,5-1876,5) p_1=0,01	355 (139-2211)	35,5 (0-279) p_2=0,006
Imax, о.е. × 10^3	0,07 (0,059-0,081)	0,18 (0,09-1,57) p_1<0,001	0,062 (0,052-0,12) p_2=0,006	0,117 (0,081-0,133) p_1=0,041
S, о.е. × сек × 10^6	0,222 (0,151-0,251)	0,41 (0,22-2,27) p_1=0,038	0,18 (0,126-0,409)	0,247 (0,131-0,33)
Sинд./Sспонт.	1 (0,88-1,1)	0,9 (0,62-1,5)	0,91 (0,57-1,03)	0,83 (0,6-1,14)

Примечание: p_1 — уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями контрольной группы; p_2 — уровень статистической значимости различий по сравнению с показателями чАСК пациентов с ИБС.

Сокращения: АСК — ацетилсалициловая кислота, ИБС — ишемическая болезнь сердца, инд. — индуцированная, о.е. — относительные единицы, рАСК — резистентные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, спонт. — спонтанная, чАСК — чувствительные к ацетилсалициловой кислоте пациенты, ХЛ — хемилюминесценция, Tmax — время выхода на максимум интенсивности хемилюминесценции, Imax — максимальное значение интенсивности хемилюминесценции, S — площадь под кривые хемилюминесценции.

рАСК пациентов с ИБС (терапия АСК+клопидогрел) по сравнению с контрольной группой выше оказались такие показатели ХЛ: Imax в спонтанном тесте с люцигенином и Imax в АДФ-индуцированном тесте и S в спонтанном тесте с люминолом (в первые сут. после операции КШ), Imax в спонтанном и АДФ-индуцированном тесте с люминолом (на 8-10 сут. после операции КШ) (табл. 3, 6, 7).

В группе рАСК пациентов с ИБС (монотерапия АСК) по сравнению с группой чАСК пациентов с ИБС значения показателей S в АДФ-индуцированном тесте с люминолом и Imax в спонтанном тесте с люцигенином до операции КШ оказались достоверно ниже (табл. 2, 5). Такая же тенденция наблюдалась и в первые сут. после операции КШ в отношении Imax в спонтанном и АДФ-индуцированном тесте с люцигенином (табл. 3), а также на 8-10 сут. после операции КШ в отношении Imax в АДФ-индуцированном тесте с люминолом и люцигенином и S в АДФ-индуцированном тесте с люцигенином (табл. 4, 7).

В группе рАСК пациентов с ИБС (терапия АСК+клопидогрел) по сравнению с группой чАСК пациентов с ИБС значения показателей Sинд./Sспонт. в тесте с люцигенином в первые сут. после операции КШ (табл. 3), а также Tmax в АДФ-индуцированном тесте с люминолом и Tmax в спонтанном тесте с люцигенином на 8-10 сут. после операции КШ были достоверно ниже (табл. 4, 7).

Статистически значимые различия между группами рАСК пациентов с ИБС на монотерапии АСК и терапии АСК+клопидогрел были обнаружены лишь по показателю ХЛ S в АДФ-индуцированном тесте с люминолом до операции КШ (табл. 5).

Обсуждение

Изменчивость чувствительности тромбоцитов к АСК зависит от различных факторов, но многие механизмы данного явления до сих пор до конца не изучены. Тромбоциты, как непосредственные участники не только гемостатических, но также иммунных и воспалительных процессов, взаимодействуют с большим количеством клеток и активных молекул. При этом межклеточные контакты тромбоцитов с клетками лейкоцитарного ряда наиболее выражены при хроническом неспецифическом воспалительном процессе, который наряду с липидными нарушениями лежит в основе атеросклероза. Это может приводить к разному ответу тромбоцитов на АСК в зависимости от состояния микроокружения. Повышенная базовая и индуцированная метаболическая активность тромбоцитов, проявляющаяся в высоких показателях продукции первичных и вторичных АФК у чАСК пациентов с ИБС на протяжении всего исследования, указывает на активированное состояние данных клеток и их потенциальных возможностей при дополнительной стимуляции. Это согласуется с теорией атеротромбоза, связанного с неспецифическим воспалением интима-медиа сосудистой стенки, дестабилизацией покрышки атеромы (диссекция, эрозия), запуском тромбоцитарно-сосудистого гемостаза, что приводит к образованию тромбов и окклюзии сосудов, не исключая артериальные кондуиты. При этом и операция КШ, и антиагрегантная терапия в ряде случаев не вызывали истощения внутренних ресурсов тромбоцитов, а сохраняющаяся высокая активность тромбоцитов могла инициировать повторные тромбозы [9].

Примечательно, что в группе рАСК пациентов с ИБС (монотерапия АСК) уровень и интенсив-

ность продукции всех АФК тромбоцитами не отличается от контрольной группы, лишь до операции КШ повышено время достижения максимальной интенсивности индуцированной наработки вторичных АФК, что свидетельствует о замедлении процессов их продукции при дополнительной стимуляции. В группе же рАСК пациентов с ИБС (терапия АСК+клопидогрел) наблюдается другая картина. У них после операции КШ и на фоне приема АСК и клопидогрела тромбоциты продуцируют повышенные базовые и индуцированные уровни первичных и вторичных АФК относительно контрольных значений, что указывает на влияние данных факторов на метаболические процессы внутри тромбоцитов у данной категории пациентов с ИБС. Вероятно, причины остаточной реактивности тромбоцитов связаны со стимуляцией клеток внесосудистым контуром аппарата искусственного кровообращения, применяемого во время операции, клетками лейкоцитарного ряда, присутствующими в очаге воспаления сосудистой стенки при ИБС, а также с наработкой новых тромбоцитов на 8-10 день после КШ [10]. Причем ДАТТ не снижает продукцию АФК.

Ранее нами было показано, что у рАСК пациентов с ИБС (вне зависимости от терапии) уровень и интенсивность продукции АФК тромбоцитами ниже, чем у чАСК [11]. То есть чувствительность связана с повышенной метаболической активностью тромбоцитов по синтезу АФК, в т.ч. в отношении арахидоновой кислоты (при участии ЦОГ-1), которую тромбоциты могут получать еще и от нейтрофилов с помощью микровезикул при межклеточном взаимодействии [12]. В данном же исследовании такая картина остается явно выраженной в отношении группы рАСК пациентов с ИБС (монотерапия АСК), тогда как в группе рАСК пациентов с ИБС (терапия АСК+клопидогрел) снижено лишь время наработки АФК и только на 8-10 сут. после КШ, что может быть связано с воздействием клопидогрела на тромбоцитарные рецепторы к АДФ. Кроме того, тромбоциты чАСК пациентов с ИБС и рАСК (терапия АСК+клопидогрел) до операции КШ продуцируют при стимуляции больше вторичных АФК, чем рАСК пациенты с ИБС (монотерапия АСК). Эти данные указывают на то, что ХЛ активность тромбоцитов рАСК пациентов с ИБС (терапия АСК+клопидогрел) находится на уровне чАСК пациентов с ИБС, т.е. благодаря ДАТТ удается преодолеть резистентность к АСК, если смотреть с позиции продукции АФК.

Более высокие показатели продукции АФК у чАСК пациентов с ИБС и рАСК (терапия АСК+клопидогрел) могут указывать на то, что в тромбоцитах данных пациентов активность НАДФН-оксидазы выше, чем у рАСК пациентов с ИБС (монотерапия АСК). Благодаря ДАТТ блокируются сразу 2 пути активации тромбоцитов, но это может компенсироваться благодаря усиленному их контакту с лейкоцитами как сразу после операции, так и на фоне приема антитромбоцитарных препаратов посредством передачи активных веществ через микровезикулы, но не через рецептор-опосредованное образование лейкоцитарно-тромбоцитарных комплексов, т.к. количество таких агрегатов существенно снижается вместе с провоспалительными функциями тромбоцитов на терапии клопидогрелом у больных с ИБС [13]. Из-за этого может увеличиться количество субстрата — арахидоновой кислоты, при метаболизме которой и происходит наработка АФК. А т.к. у этой группы пациентов с ИБС наблюдается резистентность ЦОГ-1 к действию АСК, то высокие уровни субстрата способствуют повышенному образованию промежуточных продуктов-АФК, а основной антиагрегантный эффект обеспечивается не АСК, а клопидогрелом. Пуриновые рецепторы к АДФ присутствуют и на клетках лейкоцитарного ряда. Они участвуют во многих процессах, в т.ч. в адгезии лейкоцитов к эндотелиальным клеткам при воспалении и атеросклерозе, поэтому тоже блокируются клопидогрелом, что приводит к нарушению образования межклеточных “мостиков”. Кроме того, лейкоцитарно-тромбоцитарные комплексы (образование которых не нарушено у чАСК пациентов) способны сами продуцировать АФК, а образующийся при этом оксид азота может снижать агрегационную активность тромбоцитов, тем самым предотвращает повторные тромбозы [14]. Поэтому в группе рАСК пациентов с ИБС на ДАТТ клинические исходы могут быть более благоприятными ввиду наличия клопидогрела. Добавление клопидогрела к АСК не влияет на само явление аспиринорезистентности, но выполняет противовоспалительную и дополнительную антиагрегантную функцию. А вероятные нарушения межклеточных контактов у рАСК (монотерапия АСК) пациентов с ИБС по всем путям (через рецепторы и микровезикулы) нивелирует антитромбоцитарный эффект АСК ввиду недостаточного количества арахидоновой кислоты в тромбоцитах, что и обуславливает сниженную чувствительность таких пациентов к АСК [15].

Заключение

Таким образом, нами были получены данные, указывающие на различие метаболической активности тромбоцитов по продукции АФК у пациентов с ИБС в зависимости как от чувствительности к АСК, так и от вариантов антитромбоцитарной терапии после КШ (АСК или АСК+клопидогрел). У чАСК пациентов с ИБС продукция АФК выше, чем у здоровых лиц в до и послеоперационном периоде. У рАСК пациентов с ИБС на монотерапии АСК тромбоциты продуцируют уровни АФК ниже, чем у чАСК пациентов с ИБС. Однако КШ и до-

бавление к терапии АСК клопидогрела приводит к повышенной продукции АФК у рАСК пациентов с ИБС в послеоперационном периоде, что приравнивает данную группу пациентов к чАСК пациентам с ИБС в отношении синтеза АФК. Такие результаты могут говорить о полном нарушении межклеточных взаимодействий тромбоцитов и лейкоцитов у рАСК пациентов с ИБС (монотерапия АСК) и частичном (только на уровне рецепторов) у рАСК пациентов с ИБС (терапия АСК+клопидогрел) при сохранном транспорте веществ с помощью микровезикул, что является результатом блокировки рецепторов клопидогрелом как на тромбоцитах, так и на лейкоцитах.

Чувствительность к АСК может зависеть не только от активности ЦОГ-1, но и от наличия и особенностей метаболизма субстрата данного фермента, от активности других клеток, способных взаимодействовать с тромбоцитами, что, соответственно, зависит от окружения (терапия лекарственными препаратами, инвазивные вмешательства, сопутствующие заболевания и т.д.). Дальнейшее изучение метаболических процессов, связанных с ответной реакцией на АСК, в тромбоцитах и взаимодействующих с ними клетках может привести к обнаружению дополнительных механизмов аспиринорезистентности, что способствует поиску новых методов преодоления данного явления.

Отношения и деятельность. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта: № 18-415-243003 “Персонификация антитромбоцитарной терапии пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) в зависимости от уровня экспрессии гена Р-селектина, выраженности межклеточного взаимодействия и воспаления”.

Литература/References

1. Morel A, Bijak M, Miller E, et al. Relationship between the Increased Haemostatic Properties of Blood Platelets and Oxidative Stress Level in Multiple Sclerosis Patients with the Secondary Progressive Stage. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2015;2015:240918. doi:10.1155/2015/240918.
2. Delaney MK, Kim K, Estevez B, et al. Differential Roles of the NADPH-Oxidase 1 and 2 in Platelet Activation and Thrombosis. Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology. 2016;36(5):846-54. doi:10.1161/ATVBAHA.116.307308.
3. Yassin AS, Abubakar H, Mishra T, et al. Aspirin Resistance: Cardiovascular Risk Game Changer. American Journal of Therapeutics. 2019;26(5):593-9. doi:10.1097/MJT.0000000000000780.
4. Grinshtein YuI, Kosinova AA, Grinshtein IYu, et al. Clinical and laboratory characteristics of patients with ischemic heart disease resistant to acetylsalicylic acid in perioperative period of coronary artery bypass graft: results of an open prospective study. Rational Pharmacotherapy in Cardiology. 2016;12(3):265-71. (In Russ.) Гринштейн Ю. И., Косинова А. А., Гринштейн И. Ю. и др. Клинико-лабораторные особенности пациентов с ишемической болезнью сердца, резистентных к ацетилсалициловой кислоте, в периоперационном периоде коронарного шунтирования: результаты открытого проспективного исследования. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2016;12(3):265-71. doi:10.20996/1819-6446-2016-12-3-265-271.
5. Savchenko AA, Goncharov MD, Grinsthein YuI, et al. Chemiluminescent Analysis of Reactive Oxygen Species Synthesis by Platelets from Patients with Coronary Heart Disease. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. 2020;169(4):535-8. doi:10.1007/s10517-020-04924-4.
6. Jastrzebska M, Marcinowska Z, Oledzki S, et al. Variable gender-dependent platelet responses to combined antiplatelet therapy in patients with stable coronary-artery disease. Journal of Physiology and Pharmacology. 2018;69(4):594-605. doi:10.26402/jpp.2018.4.10.
7. Klasic A, Lakusic N, Gaspar L, Kruzliak P. The monitoring of antiaggregation effect of acetylsalicylic acid therapy by measuring serum thromboxane B2 in patients with coronary artery bypass grafting. Blood Coagulation and Fibrinolysis. 2016;27(4):370-3. doi:10.1097/MBC.0000000000000438.
8. Hartinger J, Novotny R, Bilkova J, et al. Role of Dipyrone in the High On-Treatment Platelet Reactivity amongst Acetylsalicylic Acid-Treated Patients Undergoing Peripheral Artery Revascularisation. Medical Principles and Practice. 2018;27(4):356-61. doi:10.1159/000489970.
9. Ivert T, Dalén M, Ander C, et al. Platelet function one and three months after coronary bypass surgery in relation to once or twice daily dosing of acetylsalicylic acid. Thrombosis Research. 2017;149:64-9. doi:10.1016/j.thromres.2016.11.018.
10. Bauer A, Hausmann H, Schaarschmidt J, et al. Shed-blood-separation and cell-saver: an integral part of MiECC? Shed-blood-separation and its influence on the perioperative inflammatory response during coronary revascularization with minimal invasive extracorporeal circulation systems a randomized controlled trial. Perfusion. 2018;33(2):136-47. doi:10.1177/0267659117728195.
11. Grinshtein YuI, Savchenko AA, Kosinova AA, et al. Resistance to Acetylsalicylic Acid in Patients with Coronary Heart Disease Is the Result of Metabolic Activity of Platelets. Pharmaceuticals. 2020;13(8):178. doi:10.3390/ph13080178.
12. Serebryanaya NB, Shanin SN, Fomicheva EE, et al. Blood platelets as activators and regulators of inflammatory and immune reactions. Part 2. Thrombocytes as participants of immune reactions. Medical Immunology. 2019;21(1):9-20. (In Russ.) Серебряная Н. Б., Шанин С. Н., Фомичева Е. Е. и др. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 2. Тромбоциты как участники иммунных реакций. Медицинская иммунология. 2019;21(1):9-20. doi:10.15789/1563-0625-2019-1-9-20.
13. Wang X, Deng H, Li T, et al. Clopidogrel reduces lipopolysaccharide-induced inflammation and neutrophil-platelet aggregates in an experimental endotoxemic model. Journal of Biochemical and Molecular Toxicology. 2019;33(4):e22279. doi:10.1002/jbt.22279.
14. Zang Y, Popat KC, Reynolds MM. Nitric oxide-mediated fibrinogen deposition prevents platelet adhesion and activation. Biointerphases. 2018;7;13(6):06E403. doi:10.1116/1.5042752.
15. Goncharov MD, Grinshtein YuI, Savchenko AA, et al. Chemiluminescent activity and platelet aggregation in chronic coronary heart disease during the acetylsalicylic acid therapy before and after coronary bypass surgery. Pathological Physiology and Experimental Therapy. 2021;65(1):42-51. (In Russ.) Гончаров М. Д., Гринштейн Ю. И., Савченко А. А. и др. Хемилюминесцентная активность и агрегация тромбоцитов при хронической коронарной болезни сердца на фоне терапии ацетилсалициловой кислотой до и после коронарного шунтирования. Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2021;65(1):42-51. doi:10.25557/0031-2991.2021.01.42-51.

Краткая информация о препарате **РЕПАТА** эволокумаб, раствор для подкожного введения

ПОЖАЛУЙСТА, ОЗНАКОМЬТЕСЬ С ПОЛНОЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО МЕДИЦИНСКОМУ ПРИМЕНЕНИЮ ПЕРЕД НАЗНАЧЕНИЕМ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА.

Регистрационный номер: ЛП-003574 . **Фармакологические свойства**: *Механизм действия* Эволокумаб селективно связывается с пропротеиновой конвертазой субтилизин/кексин типа 9 (PCSK9) и препятствует связыванию циркулирующей PCSK9 с рецепторами липопротеинов низкой плотности (Р-ЛПНП) на поверхности гепатоцитов, тем самым предотвращая PCSK9-опосредованную деградацию Р-ЛПНП. Повышение содержания печеночных Р-ЛПНП приводит к соответствующему снижению концентрации холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП) в сыворотке крови. **Показания к применению**: **Диагностированные атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания** Репата назначается взрослым с диагностированными сердечно-сосудистыми заболеваниями, обусловленными атеросклерозом (инфаркт миокарда, инсульт или заболевания артерий нижних конечностей) с целью снижения риска сердечно-сосудистых осложнений посредством снижения концентрации ХС-ЛПНП, в дополнение к коррекции других факторов риска: В комбинации с максимально переносимой дозой статина, или в комбинации с максимально переносимой дозой статина и другой гиполипидемической терапией. В монотерапии или в комбинации с другой гиполипидемической терапией у пациентов с непереносимостью статинов или имеющих противопоказания к их применению. Данные о влиянии препарата на концентрацию ХС-ЛПНП, риск сердечно-сосудистых событий, а также информация об исследуемых популяциях представлены в разделе «Фармакодинамика». **Гиперхолестеринемия и смешанная дислипидемия** Репата назначается взрослым с первичной гиперхолестеринемией (гетерозиготной семейной и несемейной) или со смешанной дислипидемией в качестве дополнения к диете: в комбинации со статином или в комбинации со статином и другой гиполипидемической терапией у пациентов, не достигающих целевых уровней ХС-ЛПНП при максимально переносимой дозе статина, или в монотерапии или в комбинации с другой гиполипидемической терапией у пациентов с непереносимостью статинов, или имеющих противопоказания к их применению. **Гомозиготная семейная гиперхолестеринемия (гоСГХС)** Репата назначается взрослым и подросткам в возрасте 12 лет и старше с гомозиготной семейной гиперхолестеринемией в комбинации с другой гиполипидемической терапией. **Противопоказания:** Повышенная чувствительность к любому из компонентов препарата, перечисленных в разделе «Состав»; детский возраст до 18 лет при первичной гиперхолестеринемии и при смешанной дислипидемии (эффективность и безопасность не установлены); детский возраст до 12 лет при гомозиготной семейной гиперхолестеринемии (эффективность и безопасность не установлены). **С осторожностью:** Тяжелая почечная недостаточность (см. раздел «Особые указания»); Тяжелая печеночная недостаточность (класс С по Чайлд-Пью) (см. раздел «Особые указания»); Беременность и период грудного вскармливания (см. раздел «Применение при беременности и в период грудного вскармливания»). **Способ применения и дозы:** *Основную информацию раздела см. в полной версии инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата Репата.* Перед началом терапии препаратом Репата следует исключить вторичные причины гиперлипидемии или смешанной дислипидемии (например, нефротический синдром, гипотиреоз). ***Режим дозирования*** *Первичная гиперхолестеринемия и смешанная дислипидемия у взрослых* Рекомендуемая доза препарата Репата составляет 140 мг 1 раз в 2 недели или 420 мг 1 один раз в месяц. Обе дозы являются клинически эквивалентными. *Гомозиготная семейная гиперхолестеринемия у взрослых и подростков в возрасте 12 лет и старше* Начальная рекомендуемая доза составляет 420 мг 1 раз в месяц. Через 12 недель терапии при отсутствии клинически значимого ответа частота дозирования может быть увеличена до 420 мг 1 раз в 2 недели. Пациентам, которым проводят аферез, терапию можно начинать с дозы 420 мг 1 раз в 2 недели в соответствии с графиком афереза. *Диагностированное атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание у взрослых* Рекомендуемая доза препарата Репата составляет либо 140 мг 1 раз в 2 недели или 420 мг 1 раз в месяц. Обе дозы являются клинически эквивалентными. Информацию по применению у *особых групп пациентов* и по *способу введению* препарата см. в полной версии инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата Репата. **Побочное действие**: Наиболее частыми нежелательными реакциями в ходе регистрационных клинических исследований при применении препарата в рекомендуемых дозах являлись назофарингит (7,4 %), инфекция верхних дыхательных путей (4,6 %), боль в спине (4,4 %), артралгия (3,9 %), грипп (3,2 %), и реакции в месте инъекции (2,2 %). Профиль безопасности в популяции пациентов с гомозиготной семейной гиперхолестеринемией соответствовал продемонстрированному в популяции пациентов с первичной гиперхолестеринемией и смешанной дислипидемией. Основную информацию раздела «**Побочное действие**» см. в полной версии инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата Репата. **Взаимодействие с другими лекарственными средствами**: Специальные исследования по оценке лекарственного взаимодействия препарата Репата не проводились. В клинических исследованиях препарата Репата была проведена оценка фармакокинетического взаимодействия статинов с эволокумабом. У пациентов, принимавших препарат одновременно со статинами, наблюдалось приблизительно 20 % увеличение клиренса эволокумаба. Такое повышение клиренса частично опосредовано повышением концентрации PCSK9 под действием статинов, что не оказывает отрицательного влияния на фармакодинамический эффект эволокумаба в отношении липидов. Коррекция дозы статинов при применении в комбинации с препаратом Репата не требуется. Исследования по оценке фармакокинетического и фармакодинамического взаимодействия препарата Репата и других гиполипидемических препаратов, помимо статинов и эзетимиба, не проводились. ***Фармацевтическая несовместимость*** Поскольку исследований совместимости не проводилось, лекарственный препарат не следует смешивать с другими лекарственными препаратами. **Организация, принимающая претензии от потребителей**: ООО «Амджен», 123112, Москва, Пресненская набережная, д. 8, строение 1; этаж 7 Телефон: +7 495 745 04 78 Факс: +7 499 995 19 65

ИНГИБИТОР PCSK9 ОДОБРЕН РЕКОМЕНДАЦИЯМИ ESC/EAS

Репата снижает сердечно-сосудистый риск благодаря устойчивому снижению ХС-ЛПНП уже на 1й неделе применения у Ваших пациентов очень выского риска, а именно пациентов, недавно перенесших инфаркт миокарда и принимающих максимально-переносимые дозы статинов±эзетимиб[1-5]

AMGEN®

*55-75% снижение ХС-ЛПНП уже на 1й неделе применения.[2]

1. Sabatine MS, et al. Clinical Benefit of Evolocumab by Severity and Extent of Coronary Artery Disease. Circulation. 2018;138:756-66. **2.** Инструкция по медицинскому применению лекарственного препарата Репата (ЛП-003574) **3.** Robinson J.G et al. Effect of evolocumab or ezetimibe added to moderate- or high-intensity statin therapy on LDL-C lowering in patients with hypercholesterolemia. The LAPLACE-2 Randomized Clinical Trial. JAMA. 2014;311(18):1870-83. **4.** Giugliano RP, et al. Clinical efficacy and safety of achieving very low LDL-cholesterol concentrations with the PCSK9 inhibitor evolocumab: a prespecified secondary analysis of the FOURIER trial. Lancet. 2017;390:1962-71. **5.** Mach F, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. Eur Heart J. 2020;41(1):111-88.

RU-REP-1020-00049