

## АГРЕГАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ ТРОМБОЦИТОВ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ АНТИТРОМБОТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ У ЛИЦ С ИБС И СД ТИПА 2 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛА

**Л. Николенко**<sup>1</sup>, кандидат медицинских наук,

**Е. Головнева**<sup>2</sup>, доктор медицинских наук

<sup>1</sup>Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии, Челябинск

<sup>2</sup>Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск

**E-mail:** nikolenkola@yandex.ru

*В патогенезе одной из основных клинических форм ишемической болезни сердца – стенокардии – ведущую роль играют нарушения функциональной активности тромбоцитов, что определяет актуальность изучения механизмов их адгезии и агрегации. На сегодня важнейшим звеном первичной и вторичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний является антитромботическая терапия. Возможность лабораторной оценки воздействия широко применяемых ингибиторов агрегации тромбоцитов, назначенных при подготовке к операции стентирования, приобретает особое медико-социальное значение.*

**Ключевые слова:** агрегация, тромбоциты, ишемическая болезнь сердца, антитромботическая терапия.

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), по данным статистики, стабильно занимают 1-е место в структуре заболеваемости и смертности населения [1]. Основной причиной развития ишемической болезни сердца (ИБС) является атеросклероз, приводящий к стенозированию и обтурации коронарных артерий. В последнее десятилетие доказано, что тромбоциты играют важную роль в синтезе гуморальных факторов, стимулирующих развитие атеросклероза и атеротромбоза: чем выше их способность к адгезии и агрегации, тем тяжелее протекает ИБС.

В последние годы на рынке медицинской техники появились устройства, позволяющие оценивать агрегацию тромбоцитов непосредственно на месте лечения (*point-of-care*). Работа этих агрегатометров, так называемых прикроватных, основана на методе импедансной агрегометрии [12]: регистрируются изменения электрода, помещенного в цельную кровь, при налипании на него тромбоцитов или агрегатов. Данный метод максимально приближен к условиям *in vivo*; агрегация тромбоцитов происходит не в жидкой среде, а на поверхности электродов (модель сосудистого тромбоза на покрышке атероматозной бляшки). В последнее время появляются новые стандарты лечения пациентов с высоким риском тромбоза: им назначают двойную антитромботическую терапию (ДАТ) [4]. Прикроватная агрегометрия может быть рекомендована пациентам, получающим ДАТ, с целью снижения риска фатальных осложнений – тромбозов и кровотечений, выявления случаев резистентности и проблем с комплаентностью.

Исследование агрегации тромбоцитов с разными индукторами позволяет оценивать эффективность терапии антиагрегантами, подбирать индивидуальные дозы лекарственных средств и проводить лекарственный мониторинг. В популяции больных с ИБС и сахарным диабетом типа 2 (СД2) возможность лабораторной оценки воздействия широко применяемых ингибиторов агрегации тромбоцитов, назначенных при подготовке к операции стентирования и после нее, приобретает особое медико-социальное значение [2, 3, 5, 6].

Нами изучена агрегация тромбоцитов, индуцированная арахидоновой кислотой (ASPI-тест), аденозиндифосфатом – АДФ (ADP-тест) и тромбином (TRAP-тест), у больных с ИБС и СД2 на фоне антиагрегантной терапии в зависимости от пола.

Обследованы 42 пациента (20 женщин и 22 мужчины) с документированной ИБС (стенокардия напряжения I–III функционального классов) и СД2 (основная группа) и 15 здоровых добровольцев (мужчины и женщины; группа контроля). Исследования проводили перед плановой операцией стентирования артерий на фоне базисной антиагрегантной терапии: 100 мг/сут ацетилсалициловой кислоты и 75 мг/сут клопидогрела. Критериями исключения из исследования были низкая приверженность лечению и (или) резистентность к препаратам. Для оценки функций тромбоцитов использовали цельную кровь, которую собирали в вакуумную пробирку с гирудином. Индуцированную агрегацию тромбоцитов исследовали на мультисканальном компьютерном агрегометре «Multiplate» (Германия) методом импедансного измерения (измерение электрического сопротивления между электродами). В качестве индукторов агрегации использовали арахидоновую кислоту, АДФ и тромбин в концентрации 5 мкмоль/л. Общее количество тромбоцитов и их средний объем (MPV) определяли на гематологическом анализаторе «Cell-dyn 3700» (Abbott, США). Индекс массы тела (ИМТ) рассчитывали по формуле: масса тела (кг) / рост<sup>2</sup> (м<sup>2</sup>). Уровень гликированного гемоглобина определяли с помощью биохимического анализатора I Lab300 plus (Instrumentation Laboratory, Италия) реактивами Quantex HbA1c BIOKIT (Испания).

Для статистической обработки результатов использовали программы Statistica for Windows 6,0 и методы непараметрической статистики. Корреляционную связь между показателями оценивали, применяя коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r); параметры характеризовали медианой, 25-м и 75-м перцентилями. Различия между показателями считали достоверными при  $p < 0,05$ .

Возраст пациенток основной группы составил 62 [56; 68] года, возраст пациентов-мужчин достоверно не отличался от возраста женщин. Возраст пациенток группы контроля составил 44 [32; 50] года. Пациенты основной группы статистически достоверно отличались от пациенток группы контроля по ИМТ: соответственно 30,6 [29,5; 34,1] и 25 [23; 30] кг/м<sup>2</sup> ( $p < 0,005$ ) и уровню гликированного гемоглобина – соответственно 8,0 [7,4; 9,0]% и 4,8 [4,4; 5,0]% ( $p < 0,001$ ). Выявлена положительная корреляционная связь между уровнем гликированного гемоглобина и ИМТ ( $r = 0,6$ ;  $p < 0,0001$ ). Следует отметить, что ИМТ и уровень гликированного гемоглобина были несколько выше у женщин, хотя эти данные статистически недостоверны. Известно, что женские половые гормоны контролируют обмен жиров и углеводов в организме, ускоряя расщепление жиров и подавляя синтез липидных фракций, способствующих развитию

атеросклероза. Постепенное снижение уровня эстрогенов в перименопаузе приводит к нарушению липидного обмена и формированию инсулинорезистентности, что и обуславливает склонность к увеличению массы тела в климактерический период [7].

У женщин старше 50 лет типичным изменением строения тела является увеличение количества висцерального жира. Висцеральная жировая ткань оказывает непосредственное влияние на печень и метаболически активнее подкожной жировой клетчатки, в ней происходят процессы как липогенеза, так и липолиза. Прямое поступление свободных жирных кислот в печень, а также других биологически активных субстанций, секретируемых висцеральной жировой тканью, по мнению ряда исследователей, представляет собой один из патогенетических механизмов развития инсулинорезистентности. В отличие от общей тучности висцеральное ожирение в комбинации с другими компонентами метаболического синдрома является наиболее важным предиктором риска развития ССЗ [8].

Согласно данным литературы, повышенный уровень гликированного гемоглобина указывает не только на повышенный риск развития ССЗ; это – показатель, позволяющий судить о количестве коронарных сосудов, пораженных стенозом [9]. В нашем исследовании 100% обследованных имели стеноз 1 коронарного сосуда, у 42% женщин и 30% мужчин были стенозированы 2 и более коронарных сосудов.

Исследуемые группы пациентов различались по количеству тромбоцитов и их среднему объему (MPV). Количество тромбоцитов у пациентов с выраженным стенозом коронарных артерий и СД2 типа на фоне антитромботической терапии хотя и не выходило за пределы референсных значений, но было достоверно ниже, чем у здоровых пациентов: соответственно  $232 \cdot 10^9/\text{л}$  [189; 274] и  $275$  [260; 303]  $\cdot 10^9/\text{л}$  ( $p < 0,006$ ), а MPV – выше: 8,1 [7,6; 10,1] fl и 7,4 [7,1; 7,5] fl ( $p < 0,003$ ). Для анализа зависимостей признаков рассчитывали коэффициент корреляции Спирмена ( $r$ ). Установлена отрицательная корреляционная связь между количеством тромбоцитов и их средним объемом ( $r = -0,47$ ;  $p < 0,001$ ), между уровнем гликированного гемоглобина и количеством тромбоцитов ( $r = -0,32$ ;  $p < 0,03$ ).

Во многих работах показано, что у пациентов с СД снижено количество тромбоцитов; можно предположить, что это связано с недостаточной выработкой тромбопоэтина либо с элиминацией из кровотока большого количества необратимо активированных тромбоцитов. Известно, что гипергликемия вызывает гликозилирование белковых компонентов клеточных мембран, в частности тромбоцитов, что приводит к снижению их количества вследствие сокращения продолжительности их жизни [10]. При хроническом воспалении, играющем немаловажную роль в патогенезе атеросклероза, функциональная активность тромбоцитов повышается. Характерные признаки воспаления – появление в крови крупных ретикулярных тромбоцитов и микроагрегатов, а также спонтанная агрегация. Ретикулярные тромбоциты рождаются из мегакариоцитов с высокой плоидностью ядра. Повышение плоидности происходит под действием цитокинов, уровень которых значительно возрастает при воспалении. Создается порочный круг: в ответ на появление медиаторов воспаления активируются тромбоциты и лейкоциты, выделяющие в кровяной поток цитокины, а те, в свою очередь, действуя на мегакариоциты, меняют тромбоцитопоэз. В результате появляются крупные ретикулярные тромбоциты с повышенным содержанием прокоагу-

лянтных факторов, высокой функциональной активностью, увеличенным содержанием внутриклеточных цитокинов, что в конце концов усиливает и проявления воспаления, и риск тромбоза. Косвенным отражением появления в крови таких тромбоцитов может служить показатель MCV. Нормальный средний объем тромбоцитов – не более 10 fl. На сегодня этот показатель считается показателем риска тромбоза, воспроизводимым и независимым от активации клеток, происходящей при выделении и обработке в условиях *in vitro* [11].

Механизм агрегации тромбоцитов зависит от типа применяемого индуктора. В ASPI-тесте тромбоциты активируются арахидоновой кислотой, которая является субстратом для циклооксигеназы (ЦОГ). ЦОГ формирует тромбоксан-А<sub>2</sub> (ТХА<sub>2</sub>), являющийся мощным активатором тромбоцитов. Для оценки резистентности больных к препаратам АСК исследуют агрегацию тромбоцитов под действием ингибитора арахидоновой кислоты [13]. АСК вызывает необратимое ацетилирование ЦОГ1 тромбоцитов, что приводит к блокированию синтеза промежуточных простагландинов G<sub>2</sub> и H<sub>2</sub> и невозможности последующего синтеза ТХА<sub>2</sub>. В нашем исследовании у пациентов с ИБС и СД2 выявлен вполне эффективный антиагрегантный ответ на АСК. Результаты ASPI-теста составили в основной группе 23,5 [15; 27] U\* против 92 [84; 104] U в группе контроля ( $p < 0,001$ ). Подгруппа женщин основной группы не отличалась по этому показателю от подгруппы мужчин.

Использование АДФ рекомендовано для оценки антитромботической эффективности клопидогрела, ингибирующего рецептор P2Y<sub>12</sub>. Деагрегантная эффективность препарата обеспечивается окислением пролекарства и превращением его ферментами системы CYP в активный метаболит. Активный метаболит селективно и необратимо ингибирует связывание АДФ с рецепторами тромбоцита и участвует в активизации гликопротеинового рецепторного комплекса П<sub>2</sub>б/П<sub>3</sub>а, что приводит к утрате способности тромбоцитов «отвечать» на стимуляцию АДФ [14]. Наше исследование установило у пациентов с ИБС и СД2 эффективный терапевтический ответ на клопидогрел. Результаты ADP-теста: в основной группе – 37 [26; 59] U против 75,5 [67; 81] U в группе контроля ( $p < 0,001$ ). У мужчин основной группы показатели ADP-теста больше, чем у женщин, но различия статистически незначительны.

Тест с использованием тромбина в качестве индуктора позволяет оценить потенциальную способность тромбоцитов к агрегации. В качестве индуктора агрегации выступал пептид, активирующий рецептор тромбина TRAP6. Тромбин – очень сильный физиологический индуктор агрегации, самый сильный активатор тромбоцитов, и его влияние не ингибируется АСК или клопидогрелом, но ингибируется блокаторами рецепторов GP<sub>IIb/IIIa</sub>. Воздействие тромбина на тромбоцит опосредовано собственным рецептором и GP<sub>IIb</sub>а. Дополнительные факторы, влияющие на агрегацию тромбоцитов в этом тесте, – количество тромбоцитов (например, тромбоцитопения Гланцманна) или выраженная их дисфункция. Результаты TRAP-теста составили в основной группе 100,5 [84; 126] U против 108 [101; 119] U в группе контроля ( $p < 0,001$ ). Проявлялась положительная корреляционная связь между количеством тромбоцитов и их общей агрегационной способностью, оцениваемой по TRAP-тесту ( $r = 0,33$ ;  $p < 0,02$ ).

\* U – units, условные единицы.

Общая способность тромбоцитов к функциональной активности или агрегации у лиц с ИБС и СД2 и здоровых добровольцев не имела достоверных различий, несмотря на разное количество тромбоцитов в группах. У женщин основной группы выявлена более высокая потенциальная способность тромбоцитов к агрегации, чем у мужчин: соответственно 114 [95; 133] U и 89 [72; 109] U;  $p < 0,03$ .

В литературе приводятся данные как о повышении, так и о снижении адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов у больных СД [15]. Полярность результатов зависит, по-видимому, от наличия в кровотоке пациентов стимулированных опустошенных тромбоцитов и определенного количества интактных кровяных пластинок. На добавление агонистов стимулированные клетки могут не реагировать, а интактные клетки при этом активируются, что и создает пеструю картину [16].

В настоящее время атеросклероз рассматривают как хронический патологический процесс, при котором волны воспаления чередуются с волнами репарации. Это позволяет понять наличие среди больных с нестабильной стенокардией лиц с разной выраженностью воспаления, а также различий в состоянии тромбоцитов при исследовании клинически однородных групп больных.

Для дальнейшего изучения у больных ИБС и СД2 различий, связанных с полом, необходима дополнительная сравнительная оценка факторов риска развития ИБС (дислипидемия; наличие артериальной гипертензии; курение; уровень С-реактивного белка и других провоспалительных цитокинов; степень стеноза коронарных артерий).

Результаты исследования позволяют заключить, что:

- количество тромбоцитов у мужчин и женщин с ИБС и СД2 ниже, а средний объем тромбоцитов выше, чем в группе контроля;
- ИМТ и уровень гликированного гемоглобина у лиц с ИБС и СД2 выше, чем у здоровых пациентов, причем у женщин эти показатели выше, чем у мужчин;
- общая способность тромбоцитов к функциональной активности или агрегации у лиц с ИБС и СД2 и здоровых добровольцев не имела достоверных различий; у женщин с ИБС и СД2 потенциальная способность тромбоцитов к агрегации выше, чем у мужчин;
- потенциальная способность тромбоцитов к агрегации у лиц с ИБС и СД2 зависит от уровня гликированного гемоглобина и среднего объема тромбоцитов;
- общая агрегационная активность тромбоцитов и принадлежность к полу не влияют на ожидаемый антиагрегантный эффект двойной антитромботической терапии, который, вероятнее всего, зависит от количества соответствующих рецепторов на мембране тромбоцитов и (или) влияния других лекарственных средств.

## Литература

1. Низовцева О.А. Комплексная терапия сердечно-сосудистых заболеваний и дефицит магния // Трудный пациент. – 2014; 7: 45–8.

2. Григорян О.Р., Андреева Е.Н. Менопаузный синдром у женщин с нарушениями углеводного обмена. Взгляд гинеколога-эндокринолога // Трудный пациент. – 2007; 5 (9): 29–34.

3. Whiteley L., Padmanabhan S., Hole D. et al. Should Diabetes Be Coronary Heart Disease Risk Equivalent? Results from 25 years of follow-up in the Renfrew and Paisley Survey // Diabetes Care. – 2005; 28: 1588–93.

4. Айнетдинова Д.Х., Удовиченко А.Е., Сулимов В.А. Роль антитромбоцитарной терапии в первичной и вторичной профилактике сердечно-сосудистых заболеваний // Эффективная фармакотерапия в кардиологии и ангиологии. – 2007; 2: 36–41.

5. Helgason C., Grossi E., Pandey D. et al. Platelet aggregation and recruitment with aspirin-clopidogrel therapy // Cerebrovasc. Dis. – 2008; 25 (5): 392–400.

6. Harrison P., Frelinger A., Furman M. et al. Measuring antiplatelet drug effects in the laboratory // Thromb. Research. – 2007; 120: 323–36.

7. Григорян О.Р., Анциферов М.Б. Заместительная гормональная терапия у женщин, больных сахарным диабетом, в период пери- и постменопаузы. Рук-во для врачей / М., 2001; 16 с.

8. Гуревич М.А., Мравян С.Р., Григорьева Н.М. Ишемическая болезнь сердца у женщин // Трудный пациент. – 2006; 4 (12): 5–11.

9. Ravipati G., Aronow W., Ahn C. Association of hemoglobin A(1c) level with the severity of coronary artery disease in patients with diabetes mellitus // Am. J. Cardiol. – 2006; 97: 968–9.

10. Кондратьева Е.И., Суханова Г.А., Новицкий В.В. Гемостаз у детей и взрослых с СД // Детская эндокринология. – 2007; 4: 50–3.

11. Chu S., Becker R., Berger P. et al. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis // J. Thromb. Haemost. – 2010; 8 (1): 148–56.

12. Harrison P. Platelet function analysis // Blood Rev. – 2005; 19: 111–23.

13. Мазуров А.В., Хаспекова С.Г., Сироткина О.В. и др. Вариации содержания гликопротеина IIb-Ша (aIIb/бета3 интегрин) у здоровых доноров. Влияние на агрегационную активность тромбоцитов и эффективность действия аспирина // Биомедицинская химия. – 2008; 3: 361–71.

14. Marcucci R., Gori A., Panizza R. et al. Cardiovascular death and nonfatal myocardial infarction in acute coronary syndrome patients receiving coronary stenting are predicted by residual platelet reactivity to ADP detected by a point-of-care assay: a 12-month follow-up // Circulation. – 2009; 119 (1): 237–42.

15. Landray M., Wheeler D., Lip G. et al. Inflammation, endothelial dysfunction, and platelet activation in patients with chronic kidney disease: the chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) study // Am. J. Kidney Dis. – 2004; 43 (2): 244–53.

16. Сибирева О.Ф., Колюжин В.В., Уразова О.И. Биохимические маркеры дисфункции эндотелия у пациентов с диабетической нефропатией // Клин. лаб. диаг. – 2012; 8: 8–11.

## PLATELET ANTIAGGREGATORY ACTIVITY AND ANTITHROMBOTIC THERAPY EFFICIENCY IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS IN RELATION TO GENDER

L. Nikolenko<sup>1</sup>, Candidate of Medical Sciences; E. Golovneva<sup>2</sup>, MD

<sup>1</sup>Federal Center of Cardiovascular Surgery, Chelyabinsk

<sup>2</sup>South Ural State Medical University, Chelyabinsk

*Impaired platelet function plays a leading role in the pathogenesis of angina pectoris, one of the major clinical forms of coronary heart disease, which determines the relevance of a study of the mechanisms of platelet adhesion and aggregation. Today antithrombotic therapy is the most important component of the primary and secondary prevention of cardiovascular diseases. The fact that it is possible to make a laboratory evaluation of the effects of platelet aggregation inhibitors widely used during preparation for stenting assumes a special sociomedical importance.*

**Key words:** aggregation, platelets, coronary heart disease, antithrombotic therapy.