

НИЗАМОВА ЛИЛИЯ ТАЛГАТОВНА

**ФАКТОРЫ РИСКА ПРИ ОЦЕНКЕ АНТИАГРЕГАНТНОГО ЭФФЕКТА
У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА,
ОСЛОЖНЕННОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ
НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ**

14.01.04 – Внутренние болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Ульяновск - 2018

Работа выполнена в Федеральном государственном образовательном учреждении высшего образования «Ульяновский государственный университет» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Рузов Виктор Иванович**

Официальные оппоненты:

Калюжин Вадим Витальевич – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой госпитальной терапии с курсом реабилитации, физиотерапии и спортивной медицины

Ацель Евгения Александровна – доктор медицинских наук, доцент, Казанская государственная медицинская академия - филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доцент кафедры терапии, гериатрии и семейной медицины

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО РязГМУ Минздрава России (3390026, г. Рязань, ул. Шевченко, д. 34) и на сайте www.rzgmu.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2018г.

Учёный секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

Песков О.Д.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время мир охватила эпидемия хронических неинфекционных заболеваний (ВОЗ, 2015; Estel C. et al., 2016). В России в структуре смертности от всех причин преобладает патология сердечно-сосудистой системы (Оганов Р.Г., 2013) и основных причин сердечно-сосудистых катастроф всего две: это артериальная гипертония (АГ) и атеротромбоз. Таким образом, краеугольным камнем снижения сердечно-сосудистой смертности является антигипертензивная и антиагрегантная терапия.

Рекомендации по лечению стабильной ИБС (2014) и национальные рекомендации по кардиоваскулярной терапии (2017) и европейские рекомендации по профилактике сердечно-сосудистых заболеваний (2016) однозначно рекомендуют ацетилсалициловую кислоту как средство профилактики сердечно-сосудистых осложнений и смерти у пациентов со стабильной стенокардией, с инфарктом миокарда в хронической фазе (более 12 месяцев назад) и с некардиоэмболическим инсультом или транзиторной ишемической атакой. Однако в Российских клинических рекомендациях по диагностике и лечению ХСН 2017г. сказано: «Назначение аспирина не влияет на прогноз ХСН и в некоторых случаях ослабляет действие основных средств лечения. Поэтому назначение аспирина может быть рассмотрено лишь у пациентов, перенесших ОКС не более 8 недель назад и подвергнутых процедурам чрескожного внутрисосудистого воздействия». А известно, что самым частым осложнением и коморбидным состоянием при ишемической болезни сердца является хроническая сердечная недостаточность (Национальные рекомендации, 2013).

Единообразного определения «аспиринорезистентности» сегодня не существует. Предлагаются различные возможные синонимы термина «резистентность»: «вариабельность ответа на терапию аспирином» и «неудача лечения», «остаточная гиперагрегация тромбоцитов на фоне антиагрегантной

терапии». Распространенность этого явления считается достаточно высокой и, по данным ряда авторов, составляет от 5 до 48% (Gum P.A. et al., 2001; Eikelboom J.W. et al., 2002; Gum P.A. et al., 2003; Grundmann K. et al., 2003; Chen W-H. et al., 2004; Patrono C. et al., 2004).

При этом, данные литературы в отношении факторов, влияющих на эффективность антиагрегантной терапии (гипергликемия, сдвиги липидного профиля, гендерно-возрастные особенности, ожирение) у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, часто неоднозначны, или мнения различных исследователей о значении факторов в развитии различных нарушений функциональной активности тромбоцитов противоположны (Жук М.Ю. и др., 2003; Шпак И.Р. и др., 2007; Волков В.И. и др., 2009; Кудлай О.А., 2012).

Цель исследования

Определить факторы, влияющие на агрегацию тромбоцитов у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, обусловленной ишемической болезнью сердца и артериальной гипертонией.

Задачи исследования

1. Изучить агрегационную активность тромбоцитов у пациентов с ИБС, осложненной хронической сердечной недостаточностью, влияние немодифицируемых (пол, возраст) и модифицируемых (курение, ожирение, дислипидемии) факторов кардиоваскулярного риска на функциональную активность тромбоцитов у пациентов с ИБС.
2. Изучить функциональную активность тромбоцитов у пациентов с различным функциональным классом ХСН с сохраненной и сниженной систолической функцией левого желудочка.
3. Выявить связь между агрегацией тромбоцитов и полиморфизмом гена ITGA2 и активностью системного воспаления у пациентов с ХСН, обусловленной ИБС и АГ
4. Изучить функциональную активность тромбоцитов при монотерапии ацетилсалициловой кислотой у пациентов с ишемической болезнью сердца,

осложненной хронической сердечной недостаточностью.

5. Изучить влияние двойной антиагрегантной терапии на функциональную активность тромбоцитов у пациентов с хронической сердечной недостаточностью, обусловленной ИБС.

Новизна научных исследований

Расширены теоретические представления о значении кардиоваскулярных факторов риска и генетических дефектов (ТТ-аллель гена ITGA2) в нарушениях функциональной активности тромбоцитов у пациентов с сердечно-сосудистой патологией, осложненной хронической сердечной недостаточностью.

Установлено значение генетического фактора, системного воспаления, а также функционального класса ХСН в развитии агрегации тромбоцитов.

Уточнена эффективность различной продолжительности монотерапии ацетилсалициловой кислотой у пациентов с ишемической болезнью сердца, осложненной хронической сердечной недостаточностью.

Выявлено значение ожирения как независимого фактора недостаточного антиагрегантного эффекта моно – и двойной антиагрегантной терапии у пациентов с ишемической болезнью сердца, осложненной хронической сердечной недостаточностью.

Практическая значимость работы

Обоснована необходимость оценки агрегационной активности тромбоцитов при ишемической болезни сердца, осложненной ХСН для прогнозирования эффекта и стратификации пациентов с недостаточным антиагрегантным эффектом моно-и двойной антиагрегантной терапии.

Тяжесть функционального класса ХСН, коморбидность причин ХСН и полиморфизм гена коллагена ассоциируются с недостаточным антиагрегантным эффектом.

Положения, выносимые на защиту

1. Повышение агрегационной активности тромбоцитов ассоциировано с ишемической этиологией ХСН, тяжестью функционального класса ХСН, активностью провоспалительного цитокина и ТТ-аллелем гена коллагена.

2. Монотерапия ацетилсалициловой кислотой сопровождается отсутствием антиагрегантного эффекта у 38% пациентов с ХСН, имеет обратную зависимость с функциональным классом сердечной недостаточности.
3. Остаточная гиперактивность тромбоцитов у пациентов с ХСН на фоне монотерапии ацетилсалициловой кислотой встречается в 3 раза чаще по сравнению с пациентами, получающими двойную антиагрегантную терапию.
4. Ожирение, наличие сниженной фракции выброса и ТТ-аллеля гена ITGA2 являются предиктором недостаточного антиагрегантного эффекта при моно- и двойной антитромбоцитатной терапии.

Апробация результатов исследования

Результаты работы доложены на V Международном конгрессе «Кардиология на перекрестке наук» совместно с IX Международным симпозиумом по эхокардиографии и сосудистому ультразвуку и XXI Ежегодной научно-практической конференцией «Актуальные вопросы кардиологии» (Тюмень, 2014); Республиканской научно-практической конференции «Метаболический синдром: проблемы и достижения» (Узбекистан, Ташкент, 2014); X Ежегодном Всероссийском Конгрессе по Артериальной Гипертонии (Москва, 2014); XI Международном конгрессе «Кардиостим» (Москва, 2014); III Евразийском конгрессе кардиологов (Москва, 2014); 49-й межрегиональной научно-практической медицинской конференции «Медицина и современность. Теория, практика, перспективы» (Ульяновск, 2014); Образовательном форуме «Российские дни сердца» Санкт-Петербург, 2014); 5-й Всероссийской конференции с Международным участием «Медико-физиологические проблемы экологии человека» (Ульяновск, 2014); Российском национальном конгрессе кардиологов 2014 «Инновации и прогресс в кардиологии» (Казань, 2014); VII Всероссийском форуме «Вопросы неотложной кардиологии 2014: от науки к практике» (Москва, 2014); XIV Конгрессе «Сердечная недостаточность 2014» (Москва, 2014); Конгрессе EUROTHROMBOSIS: Update on Thrombosis Meeting of the Working Group on Thrombosis European Society of Cardiology (Милан, 2015); 52-й

межрегиональной научно-практической медицинской конференции «Современные аспекты здравоохранения: достижения и перспективы» (Ульяновск, 2017); 53-й межрегиональной научно-практической медицинской конференции «Роль современного здравоохранения в решении приоритетных задач развития общества» (Ульяновск, 2018).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, в том числе, 7 – в рецензируемых журналах ВАК при Минобрнауки России.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 124 страницах. Состоит из введения, обзора литературы, главы материалов и методов исследования, главы собственных исследований, обсуждения, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 29 таблицами и 14 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось в период 2013-2015 гг. на клинической базе кафедры факультетской терапии ИМЭиФК УлГУ, в рамках НИР - научного направления «Особенности течения и лечения больных артериальной гипертонией с сочетанной патологией: ИБС и сахарным диабетом» ГУЗ «Ульяновский областной клинический госпиталь ветеранов войн» (УОКГВВ), одобрено этической комиссией ИМЭиФК УлГУ. Часть исследований проводилось на базе терапевтического отделения ГУЗ «Тереньгульская районная больница».

Таблица 1 - Количество обследованных пациентов

Диагноз		Количество пациентов
Артериальная гипертензия		15
Стабильные формы ИБС с монотерапией АСК	Стабильная стенокардия напряжения 2-4 ФК	25
	Перенесенный инфаркт миокарда	16
	Стенокардия напряжения 2-4 ФК + АГ	17
	Перенесенный инфаркт миокарда + АГ	21
ИБС. Стабильная стенокардия напряжения на фоне двойной антиагрегантной терапии		39

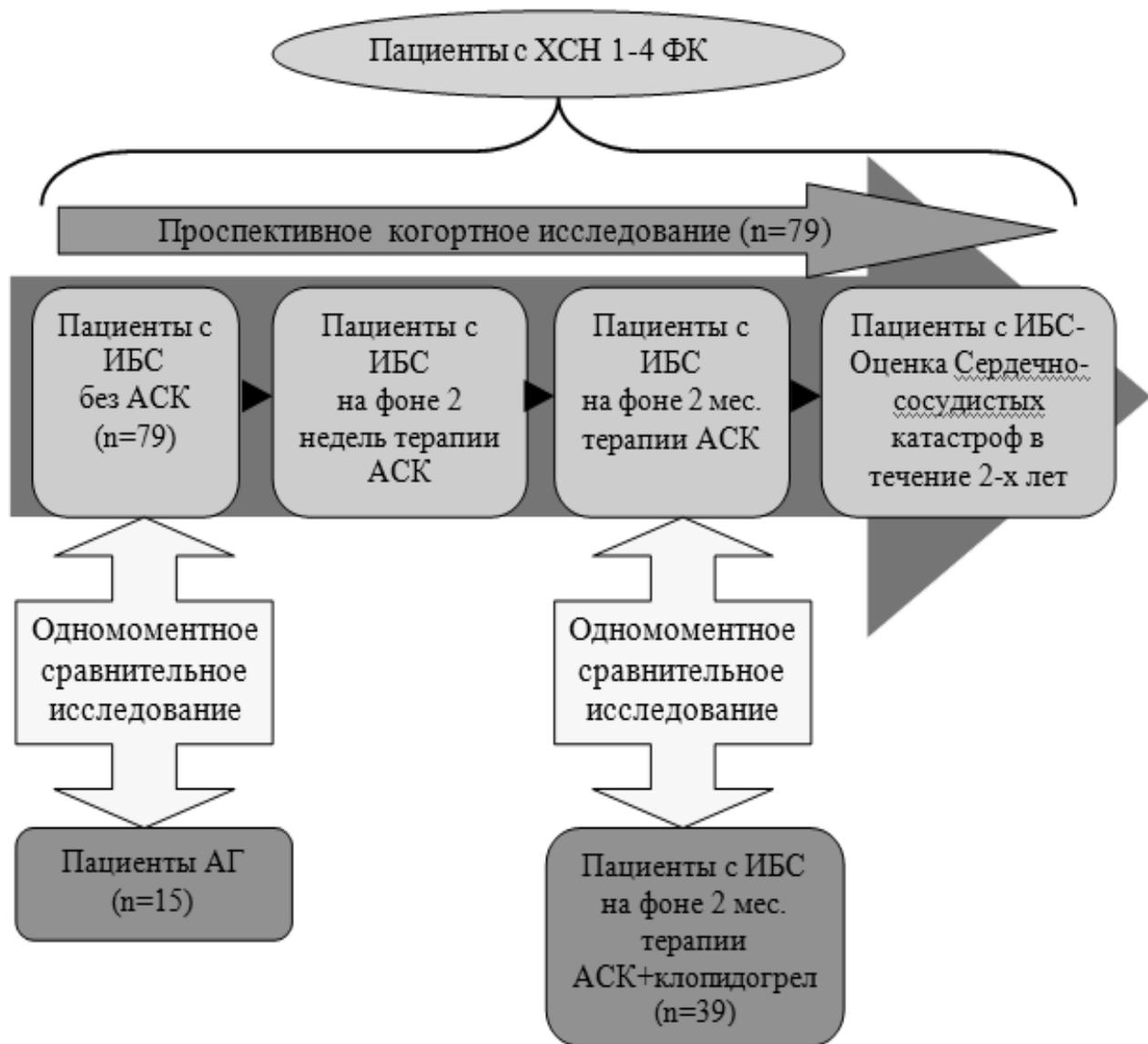


Рисунок 1 – Дизайн проведенного диссертационного исследования

Для 1 этапа исследования было отобрано 79 пациентов с хроническими формами ИБС (стенокардия и постинфарктный кардиосклероз), которые не принимали антиагрегант «ацетилсалициловую кислоту» или принимали ее не регулярно. На этом этапе проводилось сравнение параметров агрегации тромбоцитов у пациентов с ИБС с агрегацией тромбоцитов при неосложненной АГ и в группе практически здоровых лиц. Проводилось сравнение агрегационной способности тромбоцитов у пациентов в основной группе в зависимости от тяжести ХСН, наличия факторов сердечно-сосудистого риска.

После исследования параметров агрегации тромбоцитов (в первый день) в основной группе (ИБС) назначалась стандартная терапия – бета-адреноблокатор, ингибитор АПФ, статины и антиагрегант ацетилсалициловая

кислота в дозировке 75-100-125 мг/сут. Проводилось сравнение параметров агрегации тромбоцитов и эффективность антиагрегантной терапии АСК через 2 недели и через 2 месяца. Сравнивалась эффективность антиагрегантной терапии АСК у пациентов в зависимости от тяжести ХСН, наличия факторов сердечно-сосудистого риска. В последующем проводилось сравнение однокомпонентной и двойной антиагрегантной терапии.

Проводились общеклинические лабораторные тесты – общий клинический анализ крови, биохимический анализ крови.

Концентрацию NT-фрагмента мозгового натрийуретического пропептида (NT-proBNP) определяли иммуноферментным методом с помощью реактивов фирмы Biomedica (Словакия). Нормальные значения - <125,0 пг/мл

Для определения Интерлейкина-1 бета (IL-1 β) использовали набор реактивов для иммуноферментного определения концентрации интерлейкина-1 бета в биологических жидкостях человека и культуральных средах «Интерлейкин-1 бета - ИФА – БЕСТ» (Вектор-БЕСТ г.Новосибирск, Россия). Нормальные значения - <5,0 пг/мл

Эхокардиографическое исследование проводили в положении лежа, после 10-минутного пребывания в покое на аппарате «АЛОКА SSD 5000» (Япония), соответственно рекомендациям американского эхокардиографического общества (Sahn D.J. et al., 1978; Schiller N.B. et al., 1989).

Агрегация тромбоцитов проводилась на лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов «БИОЛА» (Россия). Оценивались спонтанная агрегация тромбоцитов и индуцированная агрегация, в качестве индуктора агрегации использовали раствор АДФ 0,1, 1,0 и 5,0мкМоль. Нормальными принимались значения: для спонтанной агрегации – 1,0-1,5 отн. ед., для индуцированной 0,1 мкмоль АДФ – 1,0-2,0 отн. ед., для индуцированной 1,0 мкмоль АДФ – 1,5-5,5 отн. ед., для индуцированной 5,0 мкмоль АДФ– 25-70%.

Проводилось исследование крови на генотип ITGA2 – интегрин-альфа-гликопротеин-1a, тромбоцитарный рецептор к коллагену (полиморфизм –807 C>T, F224F), выявлялось 3 варианта генотипа, гомозиготы по 1-й аллели (без

мутации в гене), гомозиготы по 2-й аллели (с мутацией) и гетерозиготы. В исследовании гомозиготы по 1-й аллели обозначены «СС», гомозиготы по 2-й аллели – «ТТ», гетерозиготы – «СТ».

Полиморфизм гена определяли с использованием реагентов фирмы «Литех» методом ПЦР в реальном времени на амплификаторе с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени "CFX96 Real-Time PCR Detection System" ("Bio-Rad", США).

Для всех параметров при статистической обработке вариационных рядов вычислялись значения средней арифметической (M-Mean), среднеквадратического отклонения (SD) и стандартная ошибка (Std. Error).

Достоверность различий между показателями оценивалась t-критерием Фишера-Стьюдента, часть параметров распределялась «не нормально» оценка уровней значимых ($p < 0,05$) и достоверных ($p < 0,001$) межгрупповых различий по количественным и порядковым признакам производилась с использованием непараметрических методов статистической обработки, в том числе U-критерия Манна-Уитни. Использованы частотный и корреляционный виды анализа, оценка χ^2 -квадрат 2x2 и тесты расхождения между двумя усреднениями, для малых групп с поправкой по Йетсу. Проводился однофакторный корреляционный анализ (в зависимости от вида распределения – Pearson или Kendall tau). Все данные в диссертационной работе представлены в виде $M \pm SD$.

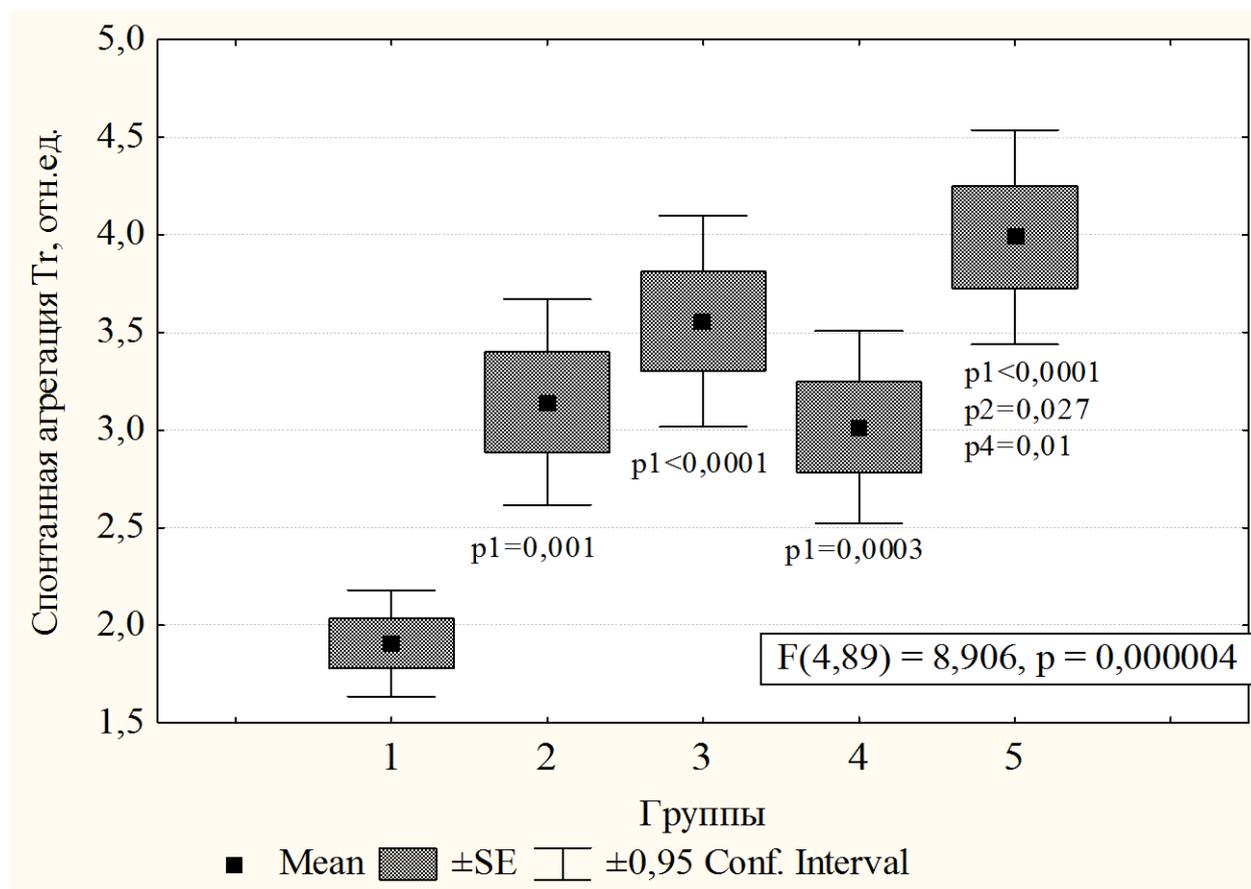
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Проведено сравнение агрегационной способности у пациентов с артериальной гипертонией и ишемической болезнью сердца с ХСН 1-4 ФК не получающих антиагрегантную терапию в сравнении с практически здоровыми лицами. У пациентов с ХСН развившейся на фоне АГ спонтанная и АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов в концентрациях АДФ 0,1 и 1мкМ была статистически значимо ($p < 0,05$) выше чем в контрольной группе. У пациентов с ИБС спонтанная и индуцированная агрегация (с различными концентрациями АДФ) тромбоцитов статистически значимо превышало значения в контрольной группе ($p < 0,05$). При этом отмечено статистически значимо ($p < 0,05$) более

высокая способность тромбоцитов к спонтанной агрегации у пациентов с ХСН на фоне ИБС в сравнении с пациентами с ХСН на фоне АГ

При сравнение параметров агрегации тромбоцитов у пациентов с ХСН, не получающих постоянную терапию антиагрегантными препаратами, не выявили значимых гендерных и возрастных различий ($p \geq 0,05$).

Все пациенты были разделены на 5 групп, в зависимости от нозологии. Наименее выраженная способность к спонтанной агрегации тромбоцитов выявлена у пациентов с артериальной гипертонией (группа 1), а наибольшая выявлена у пациентов с сочетанием ПИКС и артериальной гипертонии (группа 5). У пациентов групп 2-5 спонтанная агрегация тромбоцитов была статистически значимо выше ($p < 0,05$), по сравнению с пациентами с артериальной гипертонией (рисунок 2).



Примечание: 1 – АГ; 2 – СтН; 3 – ПИКС; 4 – СтН+АГ; 5 - ПИКС+АГ;

p1 – различие по сравнению с группой 1, p2 – по сравнению с группой 2, p4 – по сравнению с группой 4

Рисунок 2 – Спонтанная агрегация тромбоцитов при ХСН различ. этиологии

Показатели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов во всех группах были сопоставимы ($p>0,05$), несмотря на незначительное (недостовверное) ее преобладание у пациентов с сочетанием ПИКС и АГ.

Было установлено, что у пациентов с нарушенным липидным обменом статистически значимо ($p<0,05$) наблюдалась более высокая спонтанная агрегация тромбоцитов и АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов на 5мкМ АДФ.

В результате статистического анализа агрегационная способность тромбоцитов, как спонтанная, так и индуцированная, была сопоставима у курящих и не курящих, при незначительной тенденции к увеличению агрегационной активности тромбоцитов у курильщиков.

В результате исследования было выявлено, что у пациентов с ХСН, страдающих ожирением, наблюдается более высокая спонтанная агрегация и АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов. Следует отметить, что АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов с концентрацией АДФ 0,1мкМ была статистически значимо более высокой ($p<0,05$), чем у лиц без ожирения. Однако тест Тьюки не подтвердил значимость различия спонтанной и АДФ-индуцированной агрегации у пациентов с ожирением.

Проведенный множественный регрессионный анализ выявил статистически значимую взаимосвязь между наличием у пациентов с ИБС нарушения липидного обмена ($\beta=0,30$; $R^2=0,09$; $F=7,95$) и увеличением способности тромбоцитов только к спонтанной агрегации, в то время как с АДФ-индуцированной агрегацией взаимосвязи не выявлено.

С увеличением ФК ХСН возрастает способность тромбоцитов к спонтанной агрегации. У пациентов с 4 ФК ХСН АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов (на 0,1мкМ) наибольшая, причем статистически значимо отличается от АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов (на 0,1мкМ) у пациентов с 1 и 2 ФК ХСН. Также, у пациентов с 4 ФК ХСН АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов (на 5 мкМ) была наибольшая по сравнению с пациентами с более низкими (1-3) ФК ХСН. Следует отметить, что

АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов (на 1 мкМ) была сопоставима у пациентов с различными ФК ХСН.

Таблица 2 - Параметры агрегации тромбоцитов у пациентов с различным ФК ХСН независимо от этиологии, $M \pm SD$

Параметры агрегации, ед.	1 ФК (n=19)	2 ФК (n=24)	3 ФК (n=32)	4 ФК (n=19)
Спонтанная агрегация, отн.ед	1,92±0,43	2,79±0,70 p1<0,0001*	3,57±1,19 p1<0,0001* p2=0,0056*	4,28±1,10 p1<0,0001* p2<0,0001* p3=0,04*
0,1 мкМ АДФ, отн.ед	2,93±0,87	3,03±0,83 p1=0,58	3,49±1,08 p1=0,066 p2=0,13	3,79±0,72 p1=0,0021* p2=0,0048* p3=0,28
1,0 мкМ АДФ, отн.ед	4,55±1,00	4,48±1,44 p1=0,87	4,64±0,99 p1=0,74 p2=0,62	4,74±1,60 p1=0,61 p2=0,54 p3=0,76
5,0 мкМ АДФ, %	39,08±17,91	45,76±16,83 p1=0,22	46,42±19,47 p1=0,18 p2=0,89	63,78±17,13 p1<0,0001* p2=0,0013* p3=0,0023*

Примечание: * - различие статистически значимо ($p < 0,05$), p1- различие между группой 1ФК – 2ФК, p2- различие между группой 2ФК – 3ФК, p3- различие между группой 3ФК – 4ФК

У пациентов со сниженной (менее 50%) систолической функцией отмечается более высокая агрегационная способность тромбоцитов, как спонтанная, так и АДФ-индуцированная, по сравнению с пациентами с сохраненной систолической функцией левого желудочка (таблица 3).

У пациентов со сниженной систолической функцией ЛЖ был проведен корреляционный анализ между показателями агрегации тромбоцитов и фракцией выброса ЛЖ. Выявлено наличие отрицательной корреляции АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на концентрации 5мкМ АДФ с ФВ ЛЖ ($r = -0,48$; $p = 0,04$). Установлена слабая связь между тяжестью ФК ХСН и АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на 0,1мкМ АДФ ($\beta = 0,26$; $R^2 = 0,11$; $F = 3,13$). Выявлена связь между снижением систолической функции ЛЖ и АДФ-

индуцированной агрегации тромбоцитов на 5 мкМ АДФ ($\beta=0,48$; $R^2=0,33$; $F=12,80$).

Таблица 3 – Параметры агрегации тромбоцитов у пациентов с ишемической этиологией ХСН с сохраненной и сниженной систолической функцией ЛЖ,

$M \pm SD$, U-test Mann-Whitney

Параметры, ед.	Спонтанная, отн.ед	0,1 мкМ АДФ, отн.ед	1,0 мкМ АДФ, отн.ед	5,0 мкМ АДФ,%
Сохраненная систол. функция ЛЖ, $ФВ \geq 50\%$ (n=60)	3,08±1,03	3,27±0,96	4,55±1,18	42,63±17,24
Сниженная систол. функция ЛЖ, $ФВ < 50\%$ (n=19)	4,50±1,03 $p < 0,0001^*$	3,74±0,78 $p = 0,057$	4,81±1,26 $p = 0,41$	69,21±14,89 $p < 0,0001^*$

Примечание: * - различие статистически значимо ($p < 0,05$)

При проведении корреляционного анализа параметров агрегации тромбоцитов с концентрацией NT-proBNP в плазме крови, как маркера тяжести ХСН, была выявлена статистически значимая прямая связь средней степени спонтанной агрегации с плазменной концентрацией NT-proBNP.

Аналогичная направленность изменений наблюдалась и по индуцированной агрегации тромбоцитов с 5,0 мкМ АДФ ($r=0,57$, $p < 0,0001$).

Проведен анализ связей агрегационной способности тромбоцитов с плазменным уровнем интерлейкина-1 β . Была выявлена статистически значимая корреляция концентрации IL-1 β в плазме крови пациентов с ХСН со спонтанной агрегацией тромбоцитов ($r=0,65$, $p < 0,0001$) и с АДФ-индуцированной агрегацией тромбоцитов на 5,0 мкМ АДФ ($r=0,54$, $p < 0,0001$).

Как видно из таблицы 4, спонтанная агрегация тромбоцитов у гомозигот (ТТ) с мутацией гена ITGA2 статистически значимо выше, чем у гетерозигот с данной мутацией (СТ) и у пациентов без мутации в данном гене (СС). При проведении непараметрического анализа выявлено, что встречаемость гомозиготного генотипа без мутации (СС) сопоставима в контрольной группе и в группе пациентов с ХСН на фоне артериальной гипертонии, также сопоставима встречаемость гетерозигот ITGA2 в этих группах (χ^2 с поправкой

Yates = 0,04, p=0,83), не было выявлено и различия во встречаемости гомозигот с мутацией гена ITGA2 (χ^2 с поправкой Yates = 0,03, p=0,86).

Таблица 4 – Агрегационная активность тромбоцитов у пациентов с ХСН в зависимости от наличия мутаций в гене ITGA2, M±SD

Параметры агрегации, ед.	Гомозигота по 1 аллели – СС (n=14)	Наличие мутации	
		Гетерозигота – СТ (n=20)	Гомозигота по 2 аллели – ТТ (n=16)
Спонтанная агрегация, отн.ед	2,15±0,79	2,62±0,85	3,82±1,14 p1=0,001* p2=0,001*
0,1 мкМ АДФ, отн.ед	3,17±1,11	3,34±0,94	3,47±0,72
1,0 мкМ АДФ, отн.ед	4,46±0,80	4,36±1,13	4,37±0,64
5,0 мкМ АДФ, %	47,42±12,94	43,27±19,62	58,46±28,0

Примечание: * - различие статистически значимо (p<0,05)

p1- различие между группой СС – СТ,

p2- различие между группой СТ – ТТ.

По данным парного t-теста между генотипами СС и СТ статистически значимых различий не было выявлено (p=0,55), генотип ТТ статистически значимо отличался как от генотипа СС (p<0,001), так и от генотипа СТ (p=0,001). Тест Тьюки также подтвердил значимые отличия в спонтанной агрегации тромбоцитов для носителей генотипа ТТ по сравнению с СТ и СС.

Разница в среднем размере агрегата составила 1,0253 (95% ДИ: 0,4 -1,65) для СС и ТТ, и 0,9 (95% ДИ: 0,30-1,49) для СТ и ТТ.

В ходе проведения работы, пациентам с ишемической этиологией ХСН, которые не регулярно принимали антитромбоцитарную терапию, был назначен антиагрегант ацетилсалициловая кислота

На фоне 2-х недельной монотерапии ацетилсалициловой кислотой только у 18% пациентов достигнуты нормальные значения агрегации тромбоцитов, в то время как 2-х месячной терапия привела к достижению нормальных значений в 62% случаев.

Параметры агрегации тромбоцитов у пациентов на фоне приема антиагреганта ацетилсалициловой кислоты независимо от дозы были

сопоставимы ($p < 0,05$), как через 2 недели терапии, так и через 2 месяца терапии.

При оценке параметров агрегации тромбоцитов у пациентов с ИБС с различными функциональными классами ХСН выявлено, что через 2 недели приема ацетилсалициловой кислоты у пациентов с 4 ФК ХСН способность тромбоцитов к агрегации более высокая, чем у пациентов с более низкими функциональными классами ХСН, что свидетельствует не только о значении тяжести патологического процесса в развитии повышенной агрегации тромбоцитов, но и прогнозирует время наступления эффекта антиагреганта.

После 2 месяцев терапии у пациентов с ИБС с 4 ФК ХСН параметры агрегации тромбоцитов (спонтанной и индуцированной) оказались выше, чем у пациентов с 1-3 ФК ХСН. Причем спонтанная агрегация тромбоцитов статистически значимо выше ($p < 0,05$), в сравнении с пациентами более низких функциональных классов ХСН, а также АДФ-индуцированная 5мкМ статистически значимо выше, чем у пациентов с 1 и 2 ФК ХСН. Следует также отметить, что у пациентов с 1-3 ФК ХСН после 2 месяцев терапии средние значения спонтанной агрегации и индуцированной АДФ в пределах нормы, в то время как у пациентов с 4 ФК ХСН спонтанная и АДФ-индуцированная на 0,1мкМ агрегация тромбоцитов оставалась повышенной

У пациентов с 1 ФК ХСН через 2 недели терапии у 50% пациентов (5) сохранялись повышенные параметры агрегации тромбоцитов, у пациентов со 2 ФК – у 86% (18 пациентов), с 3 ФК – 87% (26 пациентов) и при 4 ФК ХСН у всех пациентов агрегация тромбоцитов оставалась повышенной (100%). После 2 месяцев терапии у пациентов с 1 ФК ХСН только в 30% случаев сохранялась повышенная агрегация тромбоцитов, при 2 ФК – у 38% (8) пациентов сохранялись повышенными параметры агрегации тромбоцитов, также в 38% случаев (11 пациентов) агрегация тромбоцитов превышала нормы при 3 ФК. При 4 ФК после 2 месяцев терапии у 53% (10) пациентов агрегация тромбоцитов сохранялась повышенной.

При сравнении агрегации тромбоцитов у пациентов с сохраненной и сниженной функцией левого желудочка было обнаружено, что у пациентов со сниженной систолической функцией ЛЖ на фоне приема антиагреганта ацетилсалициловой кислоты агрегация тромбоцитов статистически значимо выше (спонтанная и АДФ-индуцированная 5 мкМ), как после 2 недель терапии, так и на фоне длительной терапии – 2 месяца.

Таким образом, у пациентов с увеличением тяжести ХСН отмечается снижение эффективности антиагрегантной терапии.

Сравнивая агрегационную способность тромбоцитов на фоне антиагрегантной терапии ацетилсалициловой кислотой у пациентов с ХСН с нарушением липидного обмена и с нормальным липидным обменом, через 2 недели терапии, не было выявлено статистически значимых различий ($p > 0,05$).

Сравнивая спонтанную и индуцированную агрегацию тромбоцитов на фоне терапии у пациентов с ХСН курящих и не курящих, было выявлено что, на фоне терапии у курильщиков отмечаются более высокая агрегационная способность тромбоцитов. Так, на фоне 2 недель терапии у курильщиков отмечалась статистически значимо ($p = 0,0047$) более высокая спонтанная агрегация тромбоцитов ($2,45 \pm 0,57$ отн.ед.), чем у некурящих пациентов с ХСН ($2,13 \pm 0,42$ отн.ед.). АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов у курильщиков и не курящих была сопоставима и не имела статистических различий ($p > 0,05$). Аналогичная направленность изменений наблюдается и через 2 месяца терапии антиагрегантом.

Соотношение по доли пациентов с отсутствием эффекта от антиагрегантной терапии, также не в пользу курильщиков. Так у курящих пациентов с ХСН отмечалось, что в 63,6% случаев хотя бы один из параметров агрегации тромбоцитов (спонтанная и АДФ индуцированная в 3-х концентрациях АДФ) превышал нормальное значение. Причем различие по сравнению с терапией через 2 месяца имела статистическую значимость ($\chi^2 = 14,03$, $p = 0,0002$).

У пациентов с ожирением через 2 недели терапии, и через 2 месяца спонтанная агрегация тромбоцитов сопоставима со спонтанной агрегацией у пациентов без ожирения. Причем средние значения сохранялись повышенными на 2-й недели терапии и были в пределах нормы через 2 месяца, в обеих группах пациентов (с ожирением и без). Сходная картина отмечается и по АДФ-индуцированной агрегации с 1,0 и 5,0мкМ АДФ. Только АДФ-индуцированная агрегация с 0,1мкМ АДФ у пациентов с ожирением статистически значимо выше ($p<0,05$), по сравнению с пациентами без ожирения, причем как через 2 недели, так и через 2 месяца терапии.

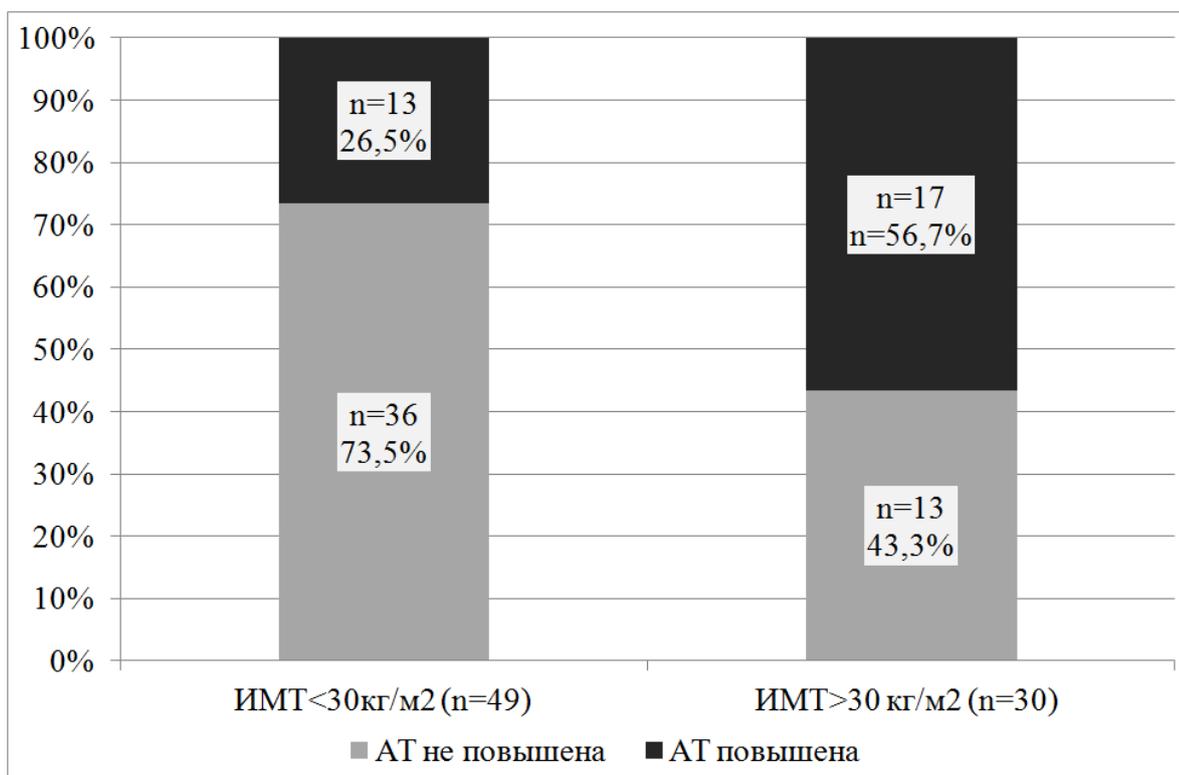


Рисунок 3 – Достижение нормальных значений агрегации тромбоцитов через 2 месяца терапии у пациентов с ХСН в зависимости от наличия ожирения

Однако, у пациентов с ожирением отмечается статистически значимое различие в достижении адекватного антиагрегантного эффекта. Так у пациентов с ожирением в более половине случаев, через 2 месяца терапии не были достигнуты нормальные параметры агрегации тромбоцитов - $\chi^2=5,95$, $p=0,0147$ (рисунок 3).

Оценивая параметры агрегации тромбоцитов на фоне антиагрегантной терапии ацетилсалициловой кислотой у пациентов в зависимости от мутации в

гене ITGA2 было выявлено что, через 2 недели параметры спонтанная агрегация и 1 мкМ АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов у пациентов с ТТ генотипом ITGA2, статистически значимо выше, чем у СС гомозигот и гетерозигот (таблица 5).

Таблица 5 – Параметры агрегации тромбоцитов на фоне 2 недель терапии у пациентов с ИБС с ХСН в зависимости от генотипа ITGA2 (Mann-Whitney U Test), M±SD

Генотип ITGA2	Спонтанная, отн.ед	1 мкМ АДФ, отн.ед
СС (n=3)	1,76±0,48	3,50±0,66
СТ (n=8)	1,98±0,13	2,51±0,41
ТТ (n=7)	2,72±0,59 p1=0,03, U=1,0, Z=-2,16* p2=0,001, U=0,5, Z=-3,18*	3,43±0,71 p2=0,006, U=4,5, Z=-2,71*

Примечание: * - различие статистически значимо (p<0,05), p1 – различие в сравнении с группой СС; p2 – различие в сравнении с группой СТ

Пациентам, перенесших острый коронарный синдром, после выписки из лечебного учреждения было рекомендовано продолжить прием двойной антиагрегантной терапии – ацетилсалициловая кислота + клопидогрел.

Таблица 6 – Агрегация тромбоцитов у пациентов с ХСН, на фоне 2 х месячной антиагрегантной терапии, M±SD

Параметры агрегации, ед.	АСК (n=79)	АСК+ Клопидогрел (n=39)	p
Спонтанная агрегация, отн.ед	1,70±0,40	1,42±0,28	22
0,1 мкМ АДФ, отн.ед	2,39±0,56	1,97±0,34	<0,001
1,0 мкМ АДФ, отн.ед	2,63±1,19	2,78±0,76	0,41
5,0 мкМ АДФ, %	25,54±8,27	23,64±5,64	0,20

При оценке эффективности двойной антиагрегантной терапии в зависимости от ФК ХСН пациенты были разделены на 2 группы, первую группу составили пациенты с 1 и 2 ФК ХСН (19 пациентов), вторую – пациенты с 3-4 ФК ХСН (20 пациентов).

В результате анализа было выявлено, что у пациентов с более высоким ФК ХСН (3-4) спонтанная и АДФ-индуцированная агрегация с 5,0мкМ статистически значимо выше, чем у пациентов с 1-2 ФК ХСН.

При сравнении параметров агрегации тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии в зависимости от наличия факторов риска: нарушений липидного обмена и курения в настоящем исследовании не было выявлено статистически значимых различий в агрегации тромбоцитов с пациентами без факторов риска ($p>0,05$).

Сравнение агрегационной способности тромбоцитов у пациентов с ХСН с сопутствующим ожирением на фоне 2 месяцев двойной антиагрегантной терапии, что у пациентов с ожирением спонтанная агрегация тромбоцитов статистически значимо выше ($p<0,05$), по сравнению с пациентами без ожирения (рисунок 13). В тоже время, АДФ индуцированная агрегация тромбоцитов была сопоставима и не имела статистически значимых различий ($p>0,05$). На фоне терапии у 3-х пациентов с ожирением (30%) сохранялись параметры агрегации (один или более) выше нормальных значений, в то время как у пациентов не страдающих ожирением, только у одного пациента (3,4%) на фоне двойной терапии сохранялась незначительно повышена спонтанная агрегация тромбоцитов - однако по скорректированному χ^2 данное различие не имело статистической значимости $\chi^2=3,18$, $p=0,075$.

На протяжении 2-х лет наблюдения в основной группе пациентов (79 пациентов с ИБС) было зафиксировано 8 случаев сердечно-сосудистых катастроф (у 5 пациентов – ишемический инсульт и у 3 пациентов инфаркт миокарда). У пациентов, у которых в последующем произошла сердечно-сосудистая катастрофа, как до приема ацетилсалициловой кислоты, так и на фоне 2-х месяцев постоянной терапии АСК, была статистически значимо более высокая спонтанная агрегация тромбоцитов, а также 5 мкМ АДФ-индуцированная. Кроме этого следует отметить, что в группе пациентов, у которых в последующем произошла сердечно-сосудистая катастрофа был при первичном обследовании статистически значимо более высокий уровень интерлейкина-1 β , по сравнению с группой пациентов, у которых сердечно-сосудистых событий в течение 2-х лет не зафиксировано ($47,53\pm 5,65$ и $42,77\pm 6,87$ пг/мл соответственно).

При сравнении генотипов ITGA2 у лиц, у которых в течение 2-х лет произошла сердечно-сосудистая катастрофа, было выявлено что подавляющее большинство имело генотип TT, у 75% пациентов. Причем встречаемость генотипа TT ITGA2 у пациентов с сердечно-сосудистым событием статистически значимо выше, чем у пациентов без осложнений - по критерию χ^2 с поправкой Yates ($\chi^2=3,86$, $p=0,045$).

ВЫВОДЫ

1. К факторам, повышающим агрегационную способность тромбоцитов у пациентов с ИБС, осложненной ХСН, относятся: коморбидность причин ХСН, курение, ожирение и дислипидемия
2. Повышенная функциональная активность тромбоцитов у пациентов с ИБС, осложненной ХСН коррелирует с тяжестью функционального класса ХСН (Тест Тьюки - $MS=287,0$; $df=72,0$), плазменной концентрацией NT-proBNP ($r=0,23$, $p=0,053$ и $r=0,13$, $p=0,24$), маркером системного воспаления интерлейкином-1 β ($r=0,65$, $p<0,0001$) и TT-аллелем гена рецептора коллагена ITGA2 (Тест Тьюки - $MS=0,47$; $df=9,0$).
3. Независимо от дозы, монотерапия ацетилсалициловой кислотой сопровождается достоверным снижением активности тромбоцитов: у 18% пациентов через 2 недели и у 62% - через 2 месяца. Наблюдается обратная зависимость антиагрегантного эффекта ацетилсалициловой кислоты от ФК хронической сердечной недостаточности (после 2 месяцев терапии АСК у пациентов с 1 ФК ХСН сохранялась повышенная агрегация тромбоцитов – в 30%, 2 ФК - 38% , 3 ФК - в 38%, и 4 ФК - 53%) . Наличие у пациентов кардиоваскулярной патологии с ХСН со сниженной систолической функцией левого желудочка ассоциируется с сохранением повышенной агрегации тромбоцитов на фоне 2-х месячной терапии ацетилсалициловой кислотой (различие в 1,0 мкМ АДФ индуцированной агрегации $p=0,025$, $U=172$, $Z=-2,23$ по сравнению с СНсФВ, $p=0,008$, $U=25,5$ $Z=-2,63$ по сравнению с СНсрФВ) .
4. Антиагрегантный эффект ацетилсалициловой кислоты не зависит от возраста пациента и этиологии хронической сердечной недостаточности.

Наличие ожирения и курения у пациентов с ИБС, осложненной ХСН характеризуются более низкой эффективностью антиагрегатной терапии ацетилсалициловой кислотой, которая не зависит от возраста и этиологии ХСН. У курящих пациентов с ХСН через 2 месяца антиагрегатной терапии в 63,6% хотя бы один из параметров агрегации тромбоцитов превышал нормальное значение (различие с некурящими - $\chi^2=14,03$, $p=0,0002$). У пациентов с ожирением в 56,7% через 2 месяца терапии не были достигнуты нормальные параметры агрегации тромбоцитов - $\chi^2=5,95$, $p=0,0147$.

5. Двойная антиагрегантная терапия ацетилсалициловой кислотой и клопидогрелем в течение 2-х месяцев у пациентов с ИБС, осложненной ХСН сопровождается более выраженным антитромбоцитарным эффектом в виде снижения спонтанной и АДФ-индуцированной (0,1мкМ) агрегации тромбоцитов по сравнению с монотерапией. У 10,3% пациентов на фоне двойной антиагрегантной терапии, сохранялся повышенным хотя бы один из показателей агрегации тромбоцитов, в то время как на однокомпонентной терапии таких пациентов было в 3 раза выше (38%) ($\chi^2=9,78$, $p=0,0018$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При оценке антиагрегантного эффекта ацетилсалициловой кислоты и клопидогреля у пациентов с ишемической этиологией ХСН необходимо учитывать наличие факторов кардиоваскулярного риска (ожирение, курение) и тяжесть функционального класса
2. Выявление у пациентов ТТ-аллеля гена рецептора коллагена ITGA2 вероятно предполагает недостаточный антиагрегантный эффект и, возможно, требует назначения двойной антиагрегантной терапии

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в журналах перечня ВАК

1. Влияние факторов сердечно-сосудистого риска на эффективность антиагрегантной терапии у пациентов с хронической сердечной недостаточностью [Текст] / Л.Т. Низамова [и др.] // **Современные проблемы науки и образования.** – 2014. – № 6. – Электрон. дан. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/> 120 – 16636. – (Соавт.: В.И. Рузов, А.Н. Сапожников, Г.А. Вечканова, В.А. Разин, Н.О. Арутюнян).

2. Оценка агрегации тромбоцитов и перекисного окисления липидов у пациентов, перенесших аортокоронарное шунтирование [Текст] / В.И. Рузов [и др.] // **Ульяновский медико-биологический журнал.** – 2014. – №2. – С. 8-13. – (Соавт.: Л.Г. Комарова, М.В. Крестьянинов, **Л.Т. Низамова**, Е.В. Щипанова).
3. Плазменные маркеры миокардиального фиброза при хронической сердечной недостаточности с сохраненной систолической функцией у пациентов с артериальной гипертензией [Текст] / В.А. Разин [и др.] // **Терапевт.** – 2014. – №2. – С. 4-9. – (Соавт.: Р.Х. Гимаев, Е.В. Чернышева, **Л.Т. Низамова**, Г.Х. Каюмова).
4. Гендерно-возрастная оценка агрегации тромбоцитов у больных сахарным диабетом 2 типа, ассоциированного с артериальной гипертензией [Текст] / В.И. Рузов [и др.] // **Терапевт.** – 2015. – №3. – С. 33-38. – (Соавт.: Е.В. Щипанова, Л.Г. Комарова, **Л.Т. Низамова**, Ж.В. Кулакова, И.В.Васильева).
5. Генетический маркер коллагена ITGA2 в оценке эффективности антиагрегантного эффекта препаратов ацетилсалициловой кислоты [Текст] / В.И. Рузов [и др.] // **Ульяновский медико-биологический журнал.** – 2016. – №1. – С. 57-62. – (Соавт.: Э.Н. Алтынбаева, Л.Г. Комарова, **Л.Т. Низамова**, Ж.В. Кулакова, И.В.Васильева).
6. Метаболические маркеры кардиоваскулярного риска и эффективность антиагрегантной терапии у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа, ассоциированного с артериальной гипертензией [Текст] / В.И. Рузов [и др.] // **Лечащий врач.** – 2016. – №8. – С. 64-68. – (Соавт.: Е.В. Щипанова, О.Л. Арямкина, В.И. Мидленко, Р.Х. Гимаев, В.А. Разин, Л.Г. Комарова, **Л.Т. Низамова**).
7. Агрегационная активность и эластичность мембраны тромбоцита при гипербарической оксигенации [Текст] / В.И. Рузов [и др.] // **Ульяновский медико-биологический журнал.** – 2018. – №2. – С. 8-13. – (Соавт.: Э.Н. Алтынбаева, М.Н. Горячая, Б.Б. Костишко, О.Л. Арямкина, **Л.Т. Низамова**, Н.Т. Тагирова).

Публикации в других изданиях

8. Малоновый диальдегид как маркер агрегабельности тромбоцитов [Текст] / Л.Г. Комарова [и др.] // 48-я межрегиональная научно-практическая медицинская конференция «Наука и медицина XXI века: традиции, инновации, приоритеты»: материалы. – Ульяновск, 2013. – С.115-116. – (Соавт.: Е.В.Щипанова, **Л.Т.Низамова**, В.И.Рузов).
9. Цитокиновый профиль у пациентов высокого кардиоваскулярного риска при антиагрегантной терапии [Текст] / Л.Г. Комарова [и др.] // 48-я межрегиональная научно-практическая медицинская конференция «Наука и медицина XXI века: традиции, инновации, приоритеты: материалы. – Ульяновск, 2013. – С.113-114. – (Соавт.: Е.В.Щипанова, **Л.Т.Низамова**, В.И.Рузов).
10. Связь N-концевого пропептида натрийуретического гормона с агрегацией тромбоцитов при хронической сердечной недостаточности [Текст] / **Л.Т.Низамова** [и др.] // XIV Конгресс «Сердечная недостаточность – 2014». – М., 2014. – С.48. – (Соавт.: В.И.Рузов, Р.Х.Гимаев, В.А.Разин, М.Ф.Литвиненко).
11. Связь маркеров миокардиального фиброза со структурно-функциональными параметрами сердца у пациентов с перенесенным инфарктом миокарда [Текст] / В.А. Разин [и др.] // 49-я межрегиональная научно-практическая медицинская конференция «Медицина и современность. Теория, практика, перспективы». – Ульяновск, 2014. – С. 678-680. – (Соавт.: Р.Х. Гимаев, Е.В. Чернышева, **Л.Т. Низамова**).
12. Состояние тромбоцитарного гемостаза у пациентов с хронической сердечной недостаточностью со сниженной систолической функцией левого желудочка [Текст] /

- Л.Т.Низамова** [и др.] // III Евразийский конгресс кардиологов: сборник материалов. – М., 2014. – С.48. – (Соавт.: В.А.Разин, Р.Х.Гимаев, А.Н.Сапожников, О.В.Шамеева).
13. Состояние тромбоцитарного гемостаза у пациентов с хронической сердечной недостаточностью со сниженной систолической функцией левого желудочка на фоне антиагрегантной терапии ацетилсалициловой кислотой [Текст] / В.А.Разин [и др.] // VII Всероссийский форум «Вопросы неотложной кардиологии 2014: от науки к практике». – М., 2014. – С.30. – (Соавт.: **Л.Т.Низамова**, Р.Х.Гимаев, А.Н.Сапожников).
14. Спонтанная агрегация тромбоцитов у пациентов с хронической сердечной недостаточностью с артериальной гипертонией [Текст] / В.А.Разин [и др.] // X Ежегодный Всероссийский Конгресс по Артериальной Гипертонии: материалы. – М., 2014. – С.30. – (Соавт.: **Л.Т.Низамова**, Р.Х.Гимаев, О.В.Шамеева).
15. Уровень тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-1 у пациентов с артериальной гипертонией и метаболическим синдромом [Текст] / В.А.Разин [и др.] // Республиканская научно-практическая конференция «Метаболический синдром: проблемы и достижения». – Ташкент (Узбекистан), 2014. – С.130-131. – (Соавт.: Р.Х.Гимаев, А.Н.Сапожников, Е.В.Чернышева, Г.Х.Каюмова, Н.В.Трошина, **Л.Т.Низамова**).
16. Рузов, В.И. Ген рецептора коллагена при оценке агрегационной активности тромбоцитов у пациентов с хронической сердечной недостаточностью [Текст] / В.И. Рузов, Э.Н. Алтынбаева, **Л.Т. Низамова** // Евразийский союз ученых. – 2015. – №7-3(16). – С.20-23.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИБС	ишемическая болезнь сердца
ИМТ	индекс массы тела
ИМ	инфаркт миокарда
РААС	ренин-ангиотензиноподобная система
РАСК	регуляции агрегатного состояния крови
ССЗ	сердечно-сосудистые заболевания
СтН	стенокардия напряжения
ФВ	фракция выброса
ФК	функциональный класс
ФР	фактор риска
ХСН	хроническая сердечная недостаточность
IL-1 β	интерлейкин-1 бета
NT-proBNP	NT-фрагмент мозгового натрийуретического пропептида