КЛИНИЧЕСКИЕ ИСХОДЫ И ОЦЕНКА ОСТАТОЧНОЙ РЕАКТИВНОСТИ ТРОМБОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С НЕСТАБИЛЬНОЙ СТЕНОКАРДИЕЙ, ПРИНИМАЮЩИХ АСПИРИН И КЛОПИДОГРЕЛ

Медведева Е.А., Гелис Л.Г., Маркова И.А., Лазарева И.В, Русак Т.В., Шибеко Н.А., Русских И.И., Колядко М.Г., Тамашевский А.В., Гармаза Ю.М.

Республиканский научно-практический центр «Кардиология»,
Институт биофизики и клеточной инженерии НАНБ,
г. Минск, Республика Беларусь

Цель исследования: разработать диагностические критерии резистентности тромбоцитов к антиагрегантной терапии и оценить клинические исходы у лиц с нестабильной стенокардией (НС), принимающих стандартное лечение аспирином и клопидогрелем.

Материалы и методы

Обследовано 124 пациента с нестабильной стенокардией. Всем лицам выполнялись: общий анализ крови цитопроточным методом на автоматическом гемоанализаторе Micros 60 (Франция) с определением морфометрических показателей тромбоцитов (MPV, PDW, PCT), определение уровня кардиоспецифичных ферментов (TnI, ККМВ, МВ), биохимического анализа крови с определением маркеров воспаления (С-реактивного белка (СРБ)), уровня миелопероксидазы (МПО), фактора Виллебранда, уровень тромбина; коагуляционного гемостаза (уровень фибриногена (Фг), антитромбина III (АТ III), Д-димеров, фактора Ха), агрегатограмма на анализаторе Мультиплейт с определением ASPI-теста (индуктор- арахидоновая кислота), ADP- теста (индуктор-АДФ), TRAP- теста (индуктор- тромбин), а также ЭКГ, эхокардиография, коронароангиография. Количество рецепторов IIb/IIIa и экспрессию р- селектина на поверхности тромбоцитов определяли методом проточной цитометрии с помощью флуоресцентно-меченных моноклональных антител CD62P-FITC и CD61 на приборе CYTOMICS FC 500 (Beckman Coulter, США). Первым этапом определялось процентное содержание CD62P положительных тромбоцитов в цельной крови без использования индукторов, что позволило установить активность интактных тромбоцитов. Вторым этапом осуществлялась индукция тромбоцитов агонистом – аденозиндифосфатом (АДФ) 20 мкм, что позволило определить их агрегационную способность, в том числе на фоне приема антиагрегантов.

Статистический анализ был проведен с применением общепринятых методов математической статистики. На первоначальном этапе проводился анализ соответствия вида распределения признаков закону нормального распределения, который выполнялся с использованием критерия Шапиро-Уилка. В зависимости от соответствия/несоответствия вида распределения анализируемых признаков закону нормального распределения в расчетах использованы параметрические или непараметрические методы. Для выявления силы и направления связей между исследуемыми переменными использовался корреляционный анализ с расчетом параметрического коэффициента корреляции Пирсона и непараметрического коэффициента корреляции Спирмена. С помощью однофакторного анализа выделялись признаки, имеющие наибольшее влияние на прогноз развития интересующего события, с помощью оценки значимости различий между группами с благоприятным и осложненным течением по каждому признаку.

Для создания прогностической модели использовался логистический регрессионный анализ, который позволяет оценить вероятность наступления изучаемого события. Моделью в данном случае является уравнение регрессии, параметры (коэффициенты) которого рассчитываются в ходе регрессионного анализа.

Анализ результатов исследования проводили на основе биостатистических методов программы MS EXCEL XP, MedCalc Statistical Software.

Результаты и обсуждение

За 2 года наблюдения у 4 пациентов развился крупноочаговый инфаркт миокарда, 9 лицам проведено коронарное шунтирование (по неотложным показаниям), в 37 случаях выполнено стентирование коронарной артерии (по причине развития возвратной стенокардии). Летальность составила 4% (таблица 1).

Таблица 1 – Клинические исходы у лиц, перенесших НС за период наблюдения 2 года

Осложнение	2 года
Возвратная НС, кол-во случаев	46 (37 %)
ИМ, кол-во случаев	4 (3,2 %)
Жизнеугрожающие нарушения ритма, кол-во случаев	4 (3,2 %)
КШ по неотложным показаниям, кол-во случаев	9 (7,3 %)
Экстренное стентирование КА, кол-во случаев	37 (29,8 %)
Летальность, кол-во случаев	5 (4 %)

Пациенты с нестабильной стенокардией были разделены на две подгруппы: ПГ1- с благоприятным течением заболевания (65 лиц) и ПГ2- с развитием повторных сердечно-сосудистых осложнений за период наблюдения (59 пациентов).

В ПГ2 пациенты отличались достоверно большим исходным уровнем тропонина I (p=0,023), миелопероксидазы (p=0,01), уровнем С-реактивного белка (p=0,002), чем в подгруппе лиц с НС без осложнений. Показатель MPV (средний объем тромбоцита, определенный в общем анализе крови) в ПГ1 составил 9,2 fl, в ПГ2- 9,8 fl (p=0,03), что превышает нормальный показатель (как в ПГ1, так и в ПГ2) для лиц с хронической ИБС и подтверждает тот факт, что большие тромбоциты более активные и являются независимым фактором тромбогенного риска и развития повторных коронарных событий [1]. Необходимо отметить, что лица с неблагоприятным течением заболевания также характеризовались достоверно большим уровнем эндогенного потенциала тромбина (p=0,002), пиковой концентрации тромбина (p=0,001) и временем достижения пиковой концентрации (p=0,04), что свидетельствует об активации свертывающего потенциала крови в данной подгруппе лиц и недостатками проводимой антиагрегантной терапии [2,3].

Пациенты с нестабильной стенокардией характеризовались исходно повышенной активацией тромбоцитов (как в ПГ1, так и в ПГ2), что подтверждают тесты на агрегометре Мультиплейт с различными индукторами. Анализируя показатели агрегатограмм, полученных при выписке, отмечалось достоверное снижение агрегации тромбоцитов в сравнении с исходными показателями, однако, у лиц с неблагоприятными исходами (ПГ2) в отличие от пациентов ПГ1 наблюдался недостаточный антиагрегантный эффект аспирина в дозе 75 мг и клопидогреля 75 мг (таблица 2).

Таблица 2 – Показатели импедансной агрегатограммы у обследуемых лиц при выписке

Показатель	Площадь под кривой (AUC)		Агрегация \ (AU)		Скорость агрегации (AU/min)	
	ПГ1	ПГ2	ПГ1	ПГ2	ПГ1	ПГ2
ASPItest	36 ±3,8	45 ±6,4*	98 ±6,9	114 ±12,3	10,4±2,1	12±3,4
ADPtest	40 ±4,1	49 ±2,8*	102±19,7	106 ±21,5	10±4,6	12,6±4,2
TRAPtest	98 ±16,5	112 ±21,3*	148±21,7	154±14,7	19±2,8	22±6,1

* - Достоверность p>0,05.

По результатам проточной цитометрии у большинства пациентов отмечалось подавление активационной способности тромбоцитов на фоне антиагрегантной терапии, при этом количество CD62P положительных клеток составляло не более 4,0 % (от 1,2% до 8,7%). У 22 пациентов количество CD62P положительных клеток составило в среднем 17,4% (от 10,4 до 28,5%), что свидетельствовало об увеличении активности рецепторов тромбоцитов IIb/IIIa и экспрессии р-селектина, несмотря на прием двойной антиагрегантной терапии.

После индукции тромбоцитов с помощью АДФ количество CD62P положительных клеток составило в среднем 51,4% у 42 пациентов (от 22,9 до 71,5%). Полученные результаты тесно коррелировали с данными агрегатограмм, полученных на агрегометре Multiplate (r=0,61) и с клиническими исходами (r=0,52) и подтверждали высокую остаточную реактивность тромбоцитов на фоне приема антиагрегантов.

В нашем исследовании выявлена достоверная корреляционная связь между развитием неблагоприятных исходов за 2 года наблюдения и такими лабораторными показателями, как: ASPI- тест (r=0,54; p=0,01), ADP- тест (r=0,56; p=0,001), TRAP- тест (r=0,46; p=0,01), уровнем тромбина (r=0,5; p=0,0001), показателем MPV (r=0,048=0,005), уровнем тропонина I (r=0,47; p=0,041), миелопероксидазы (r=0,44; p=0,03) и С-реактивным белком (r=0,41; p=0,032), а также сахарным диабетом в анамнезе (r=0,39; p=0,021), ожирением (r=0,36; p=0,03), поражением ПМЖВ по данным коронароангиографии (r=0,49; p=0,0002), коронарным шунтированием в анамнезе (r=0,42; p=0,032).

Среди лиц, включенных в исследование, выявлено, что у 15 (12%) пациентов регистрировалось снижение чувствительности к аспирину в стандартной дозе 75 мг, у 23 пациентов (18,5%) к клопидогрелю 75 мг и у 8 лиц (6,5%) –к аспирину и клопидогрелю.

Таким образом, в нашем исследовании оказались чувствительными к антиагрегантам -78 (63%) пациентов (Г1), а резистентными -46 (37 %) пациентов (Г2) (таблица 3).

Таблица 3 – Клинические исходы за 2 года наблюдения лиц, резистентных к антиагрегантам

Осложнения	Г1 (n=78)	Г2 (n=46)
Возвратная НС, кол-во случаев	21 (26,9%)	25 (54,3%)*
ИМ, кол-во случаев	1 (1,3%)	3 (6,5%)
Жизнеугрожающие нарушения ритма, кол-во случаев	1 (1,3%)	3 (6,5%)
КШ по неотложным показаниям, кол-во случаев	3 (4,3%)	6 (13%)
Экстренное стентирование КА, кол-во случаев	10 (12,8%)	27 (58,7%)*
Летальность, кол-во случаев	1 (1,3%)	4 (8,7%)

*- достоверность (p<0,05)

Полученные данные свидетельствуют о существенном влиянии резистентности тромбоцитов на клинические исходы нестабильной стенокардии. Исходя из этого, на основе выявленных критериев резистентности нами разработана прогностическая модель для скринингового метода оценки риска развития неблагоприятных исходов на амбулаторном этапе наблюдения у лиц, перенесших нестабильную стенокардию. Методом пошаговой селекции при проведении логистического регрессионного анализа были отобраны такие показатели, как показатель MPV, ASPI- тест (AUC), ADP- тест (AUC). Их пороговые значения представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Пороговые значения показателей, связанных с развитием повторных коронарных событий у пациентов с НС в отдаленные (2 года) сроки наблюдения

Предикторы риска	Пороговое значение	Чувстви тельность	Специфич-ность	Достовер-ность	+ОП	-ОП
ASPI- тест (AUC)	>52	80	90	0,002	4,5	0,17
ADP- тест (AUC)	>60	86	94	0,001	2,38	0,62
MPV, fl	>9,6	60	89	0,024	4,87	0,53

В точке разделения (максимальная специфичность)> 0,586, операционные характеристики для лабораторных предикторов развития неблагоприятных исходов у пациентов с НС составили: специфичность -94 %, чувствительность – 88 %. Вероятность развития неблагоприятных исходов нестабильной стенокардии при уровне ASPI- теста (AUC) >52U (чувствительность 80 %, специфичность – 90 %), ADP- теста (AUC) >60U (чувствительность 86 %, специфичность 94 %), MPV ≥ 9,6 fl (чувствительность 60 %, специфичность – 89 %) увеличивается почти в 12 раз.

Формула расчета прогноза развития отдаленных исходов (для скрининга):

1) logitp = 17,8248 - 0,4570*X1 + 0,9446*X2+ 0,6592*X3,

где XI– AUC для ASPI- теста, X2 – AUC для ADP- теста, X3 – MPV

Выявлена корреляция между резистентностью к аспирину и клопидогрелю и клиническими исходами (r=0,66). При резистентности к АСК и/или клопидогрелю более чем в 2,5 [ДИ 1,9; 2,8] раза возрастает относительный риск развития ишемических осложнений в будущем (смерть, ИМ, жизнеугрожающие нарушения ритма, возвратная стенокардия), несмотря на проводимую стандартную антитромботическую терапию (за 2 года наблюдения).

Заключение

Оценка результатов исследования методом индуцированной проточной тромбоцитометрии подтвердила диагностическую эффективность метода импедансной агрегатометрии и показала, что, у 33,3% пациентов с перенесенной нестабильной стенокардией сохраняется повышенная функциональная активность тромбоцитов на фоне двойной антиагрегантной терапии, что требует коррекции терапии в данной группе лиц.

Разработана скрининговая модель развития ранних и отдаленных (2 года) неблагоприятных исходов у лиц с нестабильной стенокардией, которая включает следующие показатели: ASPI- тест (AUC) >52U (чувствительность 80 %, специфичность – 90 %), ADP- тест (AUC) >60U (чувствительность 86 %, специфичность 94 %), MPV ≥ 9,6 fl (чувствительность 60 %, специфичность – 89 %). При вышеуказанных значениях риск повторных коронарных событий увеличивается почти в 12 раз.

Наличие резистентности к АСК и/или клопидогрелю более чем в 2,5 [ДИ 2,0; 2,8] раза увеличивает вероятность относительного риска развития повторных ишемических осложнений (смерть, ИМ, жизнеугрожающие нарушения ритма, возвратная нестабильная стенокардия), несмотря на проводимую стандартную антитромботическую терапию (за 2 года наблюдения) в сравнении с группой лиц без признаков резистентности к стандартной антиагрегантной терапии.

Литература:

1. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis / S.G. Chu [et al.] // J Thromb Haemost. – 2010. – Vol.1. – P. 148–156.

2. Thrombin generation, a function test of the haemostatic–thromboticsystem / H.C. Hemker [et al.] // Thromb Haemost. – 2006. – Vol.96. – № 5. – P. 553–561.

3. Michelson, A.D. Platelet activation by thrombin can be directly measured in whole blood through the use of the peptide GPRP and flow cytometry: methods and clinical studies / A.D. Michelson // Blood Coagul. Fibrinolysis. – 1994. – Vol. 5. – P. 121–131.