

ВЗАИМОСВЯЗЬ АСПИРИНОРЕЗИСТЕНТНОСТИ И ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ ИБС

В.В. Рябуха, А.И. Ладный, В.И. Волков

Институт терапии имени Л.Т. Малой АМН Украины, Харьков

Ключевые слова: аспиринорезистентность, агрегация тромбоцитов, антиагреганты, липидный обмен, стенокардия.

Проблема острых артериальных тромбозов играет важную роль в структуре исхода заболеваний сердечно-сосудистой системы. Одним из наиболее значимых показателей системы гемостаза является функциональная активность тромбоцитов. Следовательно, назначение антиагрегантных препаратов (деагрегантов) позволяет воздействовать на начальные механизмы тромбообразования, контролируя весь последующий каскад реакций.

В связи с доказанной эффективностью [4, 5] «Аспирин», ацетилсалициловая кислота (АСК), остается самым назначаемым препаратом этой группы. Однако оказалось, что несмотря на ингибирование каскада превращения арахидоновой кислоты, приводящего к образованию тромбосана А₂, примерно у 35% людей наблюдается снижение антиагрегационного ответа на АСК [10]. Этот феномен, получивший название аспиринорезистентности, диктует необходимость дифференцированного подхода к профилактике тромбозов при ИБС. В настоящее время активно разрабатываются стандартизованные методики, способные прогнозировать эффективность АСК [12].

Сложность определения данного явления заключается в том, что реакция на прием препарата проявляется после нескольких дней/недель перерыва предшествовавшего лечения. А это не всегда приемлемо при неотложных состояниях и, кроме того, большинство пациентов с ИБС, поступивших в стационар, уже получали антиагрегантную терапию АСК. Прерывать же ее только для определения чувствительности к АСК нежелательно по этическим принципам [4], поскольку препарат включен в стандарт вторичной профилактики осложнений ИБС. Более того, в последних работах показано: предыдущий прием и внезапная отмена АСК негативно влияет на прогноз острых коронарных синдромов [8].

Следует отметить, что ряд гуморальных факторов, в частности показатели липидного обмена, могут непосредственно влиять на чувствительность пациента к АСК [9].

Цель исследования — изучение взаимосвязи показателей липидного обмена и чувствительности к

АСК с использованием экспресс-метода [2] у больных со стабильной стенокардией напряжения (ССН) и выработка на этой основе практических рекомендаций по оптимизации антиагрегантной терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 64 пациента с ИБС в возрасте 45—68 лет, поступивших в инфарктное отделение Института терапии имени Л.Т. Малой АМН Украины с клиническими проявлениями ССН III функционального класса. Диагноз ИБС был верифицирован характерными клиническими проявлениями ангинозных болей у всех больных и/или «положительными» результатами велоэргометрической пробы, а также фактом перенесенного инфаркта миокарда (52 случая). Контрольную группу составили 18 здоровых добровольцев в возрасте от 30 до 50 лет без нарушений показателей липидного обмена.

Кровь для определения агрегации тромбоцитов у всех пациентов брали в первые часы поступления в стационар до начала медикаментозной терапии. Забор крови осуществляли в силиконированную центрифужную пробирку с предварительно налитым в нее 3,8% раствором цитрата натрия (0,5 мл из расчета на 9,5 мл крови) путем малотравматичной венепункции короткой иглой с широким просветом с минимальной перетяжкой жгутом. Обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП) получали центрифугированием цитратной крови в течение 5 мин при 1000 об/мин (центрифуга ОПН-8). Бедную тромбоцитами плазму (БТП) получали путем центрифугирования при 3000 об/мин в течение 10 мин.

Агрегацию тромбоцитов оценивали турбидиметрическим методом [1]. Исследование проводили *in vitro*, в параллельных пробах, при температуре 37°C и перемешивании магнитной мешалкой со скоростью 900 об/мин. В качестве индукторов использовали адреналин «Технология — Стандарт» (Барнаул) в конечной концентрации в кювете 2,5 мкг/мл или АДФ фирмы «Reanal» в конечной концентрации 10⁻⁶ М. Время регистрации агрегации составило

10 мин. Для изучения антиагрегационных свойств в пробирку с ОТП предварительно вносили раствор АСК (аспизол) в конечной концентрации в кювете 25 мМ и инкубировали при перемешивании в течение 10 мин, после чего вносился индуктор (АДФ или адреналин). Результаты сравнивали с показателями агрегации, вызванной индукторами без предварительного воздействия АСК.

В качестве критерия, наиболее полно отражающего процесс, вычисляли суммарный индекс агрегации (СИАТ) по формуле:

$$\text{СИАТ} = ((E_1 - E_2) / (E_1 - E_{\text{бедн}})) \times 100\%,$$

где E_1 — оптическая плотность ОТП до агрегации; E_2 — оптическая плотность ОТП после агрегации; $E_{\text{бедн}}$ — оптическая плотность БТП.

Одновременно осуществляли забор крови для определения показателей липидного обмена. На основании уровня общего холестерина, содержания его в разных фракциях липопротеидов, определяли классы дислипидемий по Фредериксону в современной модификации [3]: II-а, II-б, IV и нормолипидемия. Кроме того, выделяли группу больных со сниженным уровнем холестерина липопротеидов высокой плотности — гипоальфахолестеринемия (ГАХС).

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программы «Statistica 6.0» (Stat Soft, США). Статистически значимыми считались значения $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из табл. 1, выявлено исходное повышение индекса СИАТ при ИБС в случае использования АДФ в качестве индуктора ($78,2 \pm 3,1$) % по сравнению с лицами контрольной группы ($48,7 \pm 2,2$) %, $P < 0,001$, или в среднем на 37,7%. В отношении адреналининдуцированной агрегации выявлены аналогичные тенденции: достоверное повышение СИАТ у больных со ССН по сравнению со здоровыми добровольцами без дислипидемии (на 35,4%, $P < 0,05$). Эти данные согласуются с известными работами о патогенетическом участии повышения функциональной активности тромбоцитов в риске осложнений при ИБС. Кроме того, примерно равная степень повышения СИАТ, ин-

дуцированного АДФ и адреналином у больных со ССН, говорит об адекватно подобранной (сопоставимой) дозе индукторов для анализа процесса агрегации. Это обстоятельство, в свою очередь, свидетельствует о возможности сравнительной оценки влияния антиагрегантов на СИАТ, вызванного указанными индукторами. Использование тромбоцитов в качестве клеточной тест-системы позволит не только определить индивидуальную чувствительность к дезагреганту («Аспирину»), но и оценить специфичность каждого из индукторов агрегации (в данном случае АДФ или адреналина) и предложить клеточную тест-систему. Полученные нами данные (табл. 1) показали, что преинкубация с АСК до введения индуктора не вызвала достоверного снижения СИАТ, индуцированного АДФ ни у больных со ССН, ни у лиц контрольной группы. В то же время предварительное добавление АСК приводило к достоверному снижению СИАТ, индуцированного адреналином как у больных со ССН — на 28,9% ($P < 0,01$), так и у лиц контрольной группы ($P < 0,01$). Эти данные свидетельствуют, что при равной чувствительности изменений индекса СИАТ, индуцированной как АДФ, так и адреналином для выявления изменений функциональной активности тромбоцитов у пациентов с ИБС по сравнению с контрольной группой, адреналин оказался более специфичен для определения индивидуальной чувствительности к антиагрегационной активности АСК. В контрольной группе также определялось достоверное снижение СИАТ после инкубации с АСК, отмечалось только при адреналининдуцированной агрегации (на 46,5%, $P < 0,001$), в то время как снижение АДФ-индуцированной агрегации в этой же группе после инкубации с АСК было недостоверно. Таким образом, использование адреналина в качестве индуктора позволяет оценить индивидуальную чувствительность к дезагрегационному действию АСК как у пациентов с ИБС, так и у здоровых людей.

Следует подчеркнуть, что динамика снижения СИАТ у больных внутри групп была различна, что указывает на вариабельность ответа на инкубацию с АСК, следовательно, и значение блокирования тромбоксанзависимого пути может иметь существенные индивидуальные различия для пре-

Таблица 1. Показатель агрегации тромбоцитов до и после преинкубации с АСК

Индуктор	Больные со ССН (n = 64)		Контроль (n = 18)	
	СИАТ	Ингибирование, %	СИАТ	Ингибирование, %
АДФ	$78,2 \pm 3,1$		$48,7 \pm 2,2$	
АДФ + АСК	$74,3 \pm 2,1$	$8,2 \pm 2,5$	$43,2 \pm 2,5$	$11,3 \pm 1,5$
Адреналин	$68,3 \pm 2,1$		$43,4 \pm 3,3$	
Адреналин + АСК	$47,4 \pm 3,2$	$28,5 \pm 3,2^{**}$	$27,1 \pm 3,1$	$32,5 \pm 2,7^{**}$

Примечание. Достоверность отличия показателя до и после добавления аспирина и среднепроцентного ингибирования агрегации по группе: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$.

дупреждения активации тромбоцитов. Отсутствие реакции на средства, блокирующие этот путь, означало аспиринорезистентность. Учитывая тесную взаимосвязь нарушений липидного обмена и функционального состояния тромбоцитов, нами проанализирована возможность развития резистентности к АСК в зависимости от наличия дислипидемии. Все больные со ССН разделены по типам ДЛП — модифицированная классификация Фредериксона [3]. Для II-A типа ДЛП было характерно повышенное содержание общего холестерина (ОХС), для II-B — холестерина липопротеидов низкой плотности (ХСЛПНП), для VI типа — триглицеридемия (ТГ), холестерин очень низкой плотности (ХСЛНОП).

Как следует из табл. 2, наблюдается четкая связь наличия ДЛП с уровнем СИАТ, индуцированной адреналином. Так, при II-A, II-B типах ДЛП показатель СИАТ составил $74,8 \pm 2,3$ и $69,7 \pm 3,2$, которые с высокой степенью достоверности превышали таковые при нормолипидемии — как у больных ИБС, так и в контрольной группе. У больных ИБС с ГАХС индекс СИАТ был повышен в меньшей степени. Наряду с повышенной агрегационной активностью тромбоцитов прослеживается четкая взаимосвязь аспиринорезистентности и наличия ДЛП. Так, наименьший процент снижения адреналининдуцированной агрегации отмечен при II-A и II-B типах ДЛП, и в большей степени снижен — при IV типе ДЛП по сравнению с нормолипидемией. Особо следует подчеркнуть, что гипоальфахолестеринемия имеет самостоятельное значение в снижении чувствительности к АСК при ССН. У пациентов этой группы, несмотря на относительно невысокое исходное значение СИАТ по сравнению с больными со ССН других групп, после добавления АСК *in vitro* показатель СИАТ уменьшился в среднем на $(10,7 \pm 3,2)$ % (изменение недостоверно), причем в ряде случаев отмечалось отсутствие реакции на АСК либо снижение СИАТ на 5 % и менее, то есть аспиринорезистентность. При ССН с нормолипидемией реакция на добавле-

ние АСК выражалась в высокодостоверном среднем снижении СИАТ — на $(24,5 \pm 3,4)$ %. Полученные данные говорят о том, что такой фактор прогрессирования атеротромбоза, как дислипидемия не только провоцирует участие тромбоцитарного гемостаза в развитии заболевания, но и снижает эффективность АСК для вторичной профилактики ИБС. Наибольшая чувствительность к АСК, по данным использованной методики, наблюдалась у здоровых лиц с нормолипидемией. Это объясняет тот факт, что эффективность АСК для первичной профилактики в одинаковой степени прослеживалась как при крайне малых дозах (50 мг/сут), так и при средних дозах (100 мг/сут или 325 мг через день), тогда как больным ИБС с клиническими проявлениями стенокардии в большинстве исследований и АСК назначали в суточной дозировке 100 мг и более.

Наиболее значимая отрицательная корреляционная связь показателя чувствительности (процент ингибирования СИАТ) определялась в отношении уровня ХСЛПНП ($r = -0,43$), ТГ ($r = -0,47$), ОХС ($r = -0,39$), тогда как с уровнем ХСЛВП показатель чувствительности коррелировал положительно ($r = +0,41$). Эти данные свидетельствуют о необходимости учета аспиринорезистентности, прежде всего у больных ПСН и с дислипидемией для решения вопроса об альтернативных путях коррекции функций тромбоцитов.

Среди факторов, оказывающих наибольшее влияние на эффективность приема антиагрегационной терапии для вторичной профилактики ИБС, важное значение имеет состояние липидного обмена. В работах описано не только повышение агрегационной активности тромбоцитов, но и ее взаимодействие с уровнями холестерина атерогенных липопротеидов с эффективностью приема дезагрегантов, в частности, АСК [6]. Понятие «аспиринорезистентность» включает биохимическое определение — недостаточность влияния на индуцированную агрегацию и/или клиническое — развитие сосудистых катастроф [12]. Вместе с тем от-

Таблица 2. Показатели чувствительности адреналининдуцированной агрегации к АСК в зависимости от типов ДЛП

Тип ДЛП	Показатель		
	СИАТ	СИАТ + АСК	Ингибирование, %
II-A (n = 12)	$74,8 \pm 2,3$	$69,2 \pm 2,9$	$11,3 \pm 2,1$
II-B (n = 11)	$69,7 \pm 3,2$	$64,5 \pm 2,7$	$7,5 \pm 3,5$
IV (n = 12)	$65,3 \pm 3,3$	$54,2 \pm 3,4$	$22,2 \pm 3,2$
ГАХС (n = 13)	$63,2 \pm 3,1$	$58,8 \pm 3,5$	$10,7 \pm 3,2$
Нормолипидемия, больные ИБС (n = 18)	$56,5 \pm 2,5$	$37,2 \pm 2,2$	$24,5 \pm 3,4$
Нормолипидемия, здоровые лица (n = 18)	$43,4 \pm 3,3$	$27,1 \pm 3,7$	$38,5 \pm 3,8$

Примечание. Достоверность среднего процента ингибирования: * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$.

мена приєма препарату, являючогося компонентом «золотого стандарту» лікування ІБС для визначення динаміки тромбоцитарного гемостазу по біохімічним параметрам (індуційована агрегація) вважається некоректною [4]. Нашим рішенням цієї проблеми було визначення чутливості до АСК *in vitro*, що дозволяє виявляти аспіринорезистентність, не припиняючи лікування даним препаратом. Предложеною експрес-методом визначення чутливості до АСК *in vitro*, де в якості індуктора агрегації більш специфічним виявився адреналін [2]. Вибір індуктора пов'язаний з тим, що адреналін активує агрегацію по тромбоксанзалежному шляху, тоді як АДФ-індуційована агрегація найбільш специфічна для контролю за ефективністю інгібіторів рецепторів до АДФ (тієнопіридинів). З допомогою запропонованої методики виявлено, що гіперхолестеринемія, спостережувана як при ІІ-А, так і при ІІ-Б типах ДЛП, супроводжується найменшою чутливістю до АСК. При ІІІ типі ДЛП аспіринорезистентність виражена в меншій ступені, однак ця особливість може бути пояснена підвищеною оптичною щільністю плазми. Тим не менш достовірною від'ємною кореляційною зв'язком рівня ХСЛПНП і ступеня чутливості до АСК може свідчити про зв'язок вказаного атерогенного варіанта ДЛП і зниження чутливості до АСК. Особливо слід зупинитися на больових со ССН з ГАХС. Так, хоча вихідний індекс СІАТ не був достовірно підвищений порівняно з нормоліпідемією, у пацієнтів цієї групи відзначалася найнижча чутливість до АСК. Вероятно, слід погодитися з думкою, що знижена чутливість до дезагрегантів є одним з додаткових маркерів високого ризику тромботичних подій [12]. В дослідженні CAPRIE показано перевагу клопидогрелу порівняно з АСК в цілому у больових з верифікованим атеросклерозом [7]. Однак в цьому ж дослідженні при ССН і без інших проявів атеросклерозу і супутніх захворю-

вань (сахарний діабет, переважаюча хромота) в відношенні впливу на «кінцеві точки» переваги клопидогрелу не виявлено. В дослідженні CHARISMA також не встановлено достовірних переваг терапії тієнопіридинів в доповнення до АСК у больових со стабільними формами ІБС [6]. В зв'язку з цим вибір антиагреганта по показателям індивідуальної чутливості вважається надзвичайно актуальним.

Виконати диференційований підхід до вибору антиагреганта до початку лікування у больових со стабільною стенокардією або з наявністю факторів ризику ІБС дозволить дослідити реакції агрегації на різні індуктори. При вираженій АДФ-індуційованій вибирають клопидогрел, при адреналін-індуційованій — АСК.

Враховуючи привабливість АСК як еталонного антиагреганта, цілком природно тим не менш визначити індивідуальну чутливість до нього і при зниженні — комбінована терапія з тієнопіридинів.

ВИВОДИ

1. З метою визначення чутливості тромбоцитів до дезагреганта пропонується проведення преінкубації препарату з виділеними клітками з наступним введенням індуктора, що дозволяє виявити зниження реакції на препарат, не перериваючи його прийом.

2. Використання АДФ і адреналіну в обраних дозах в якості індукторів агрегації виявляє високу чутливість обох методик для визначення підвищеної функціональної активності тромбоцитів у больових ІБС, однак для визначення аспіринорезистентності специфічною вважається адреналін-індуційована агрегація.

3. Наявність атерогенного типу ДЛП супроводжується зниженням чутливості тромбоцитів до АСК.

4. Виявлено зв'язок чутливості до АСК і показателів ліпідного обміну: від'ємна кореляція з рівнями ОХС, ТГ і ЛНП, і позитивна — з рівнем ХСЛПВП.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бокарев І.Н. Проблема постійного і дисемінованого внутрисудинного згортання крові // Тромбоз, гемостаз і реологія.— 2000.— № 2.— С. 5—8.
2. Волков В.І., Рябуха В.В., Ладний А.І. та ін. Процес диференційованого призначення антиагрегантів у хворих на ІХС // Патент України UA 11852 U від 16.01.2006.
3. Лутай М.І. К вопросу о клинической классификации дислипидемий // Укр. кардиол. журн.— 2003.— № 4.— С. 9—16.
4. Пархоменко А.Н. Ацетилсалициловая кислота и сердечно-сосудистые заболевания // Здоров'я України.— 2006.— № 1—2.— С. 15—16.
5. Antithrombotic Trialists' Collaboration. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for

prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients // Br. Med. J.— 2002.— Vol. 324.— P. 71—86.

6. Bhatt D.L., Fox K.A.A., W. Hacke. et al., for the CHARISMA Investigators. Clopidogrel and Aspirin versus Aspirin Alone for the Prevention of Atherothrombotic Events // N. Engl. J. Med.— 2006.— P. 354.

7. CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE steering committee // Lancet.— 1996.— Vol. 348.— P. 1329—1339.

8. Collet J.P., Montalescot G., Blanchet B. et al. Влияние предшествующего приёма и недавней отмены пероральных антиагрегантных средств на течение острых коронарных синдромов // Кровообіг та гемостаз.— 2005.— № 3—4.— С. 162—170.

9. *Friend M., Vucenik I., Miller M.* Platelet responsiveness to aspirin is reduced in patients with hyperlipidaemia // *BMJ.*— 2003.— Vol. 326.— P. 82—83.

10. *Harrison P., Segal H., Keeling D. et al.* Aspirine resistance detected high shear platelet function testing within the pilot phase of the Oxford Vascular Study (OXVASC) // *J. Thromb. Haemost.*— 2003.— Suppl. 1.— Abstr N P0757.

11. *Gum P.A., Kottke-Marchant K., Poggio E.D. et al.* Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease // *Am. J. Cardiol.*— 2001.— Vol. 88.— P. 230—235.

12. *Sanderson S., Emery J., Baglin T., Kinmonth A.L.* Narrative review: aspirin resistance and its clinical implications // *Ann. Intern. Med.*— 2005.— Vol. 142 (5)— P. 370—380.

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК АСПІРИНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ТА ПОКАЗНИКІВ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ У ХВОРИХ НА ІХС

В.В. Рябуха, А.І. Ладний, В.І. Волков

На підставі обстеження 64 хворих на ІХС з атерогенними типами дисліпідемій (ДЛП): II-A, II-B, IV та нормоліпідемією проаналізовано взаємозв'язок ДЛП та чутливості до ацетилсаліцилової кислоти (АСК). Використано методику визначення чутливості до АСК *in vitro*. Виявлено, що наявність ДЛП супроводжується зниженням чутливості до АСК. Це дає змогу рекомендувати інші групи антиагрегантів (клопідогрел) хворим на ІХС із ДЛП.

THE RELATIONSHIP OF ASPIRINRESISTANCE AND PLASMA LIPID LEVELS IN PATIENTS WITH CORONARY HEART DISEASE

V.V. Ryabukha, A.I. Ladny, V.I. Volkov

On the base of the observation of 64 patients suffering form coronary artery disease with atherogenic dislipidemia (DLP) of Fredrikson types II-A, II-B and IV the link between the sensitivity to aspirin and malformations in lipoprotein levels has been assessed. A new method of *in vitro* determination of the aspirin resistance had been carried out. The obtained results may be taken into the mind during the selection of the type of antiplatelet drug to be administrated.