

## Оценка риска сердечно-сосудистых осложнений у больных стабильной ИБС, получающих клопидогрел: функция тромбоцитов или генетические исследования?

А. Л. Комаров, О. О. Шахматова, Т. А. Илющенко, А. Е. Донников, А. Б. Добровольский, Е. П. Панченко

### Assessing Risk of Cardiovascular Events in Clopidogrel-Treated Patients with Stable CHD: Platelet Function or Genetic Testing?

A. L. Komarov, O. O. Shakhmatova, T. A. Ilyushchenko, A. E. Donnikov, A. B. Dobrovolsky, E. P. Panchenko

**Б**локаторы пуриновых (P2Y<sub>12</sub>) рецепторов тромбоцитов, в первую очередь клопидогрел, являются неотъемлемым компонентом антитромботической терапии при консервативном и инвазивном лечении острых коронарных синдромов (ОКС) с подъемом и без подъема сегмента ST, а также при плановых чрескожных коронарных вмешательствах (ЧКВ) [3, 4, 15–17]. У стабильных больных при отсутствии недавно выполненного ЧКВ клопидогрел может использоваться и в качестве единственного антиагреганта в случае непереносимости ацетилсалициловой кислоты (АСК) [5].

Существует значительная индивидуальная вариабельность в реакции на клопидогрел, что во многом обусловлено его сложным и малопредсказуемым метаболизмом [28]. Поэтому крайне актуальным является поиск возможных предикторов, определяющих клиническую эффективность этого лекарства. Для оценки действия клопидогрела предложены различные лабораторные методики, основанные как на фармакогенетическом исследовании систем его транспортера (ген *ABCB1*) и биотрансформации (гены, кодирующие некоторые печеночные цитохромы CYP450, и в первую очередь *CYP2C19\**) [10–13, 19, 25, 27], так и на определении остаточной реактивности тромбоцитов (ОРТ) *in vitro* [22, 23, 29]. Пока остается неясным, какой из генетических или функциональных тестов больше подходит для оценки действия клопидогрела и какой должна быть лечебная тактика в отношении больных, идентифицированных как «плохие ответчики» на этот препарат.

Следует также отметить, что изучение факторов, связанных с реакцией на прием клопидогрела, проводилось в основном в популяциях стран Западной Европы и Северной Америки, а объектом исследования, как правило, были больные с ОКС. В российской популяции больных со стабильными проявлениями ИБС подобные работы не выполнялись.

**Целью** нашего исследования было определение значимости функциональных (ОРТ) и фармакогенетических показателей для оценки эффективности длительной терапии клопидогрелом у больных стабильной ИБС, проживающих в Центральном регионе РФ.

#### Материал и методы

Клиническую часть исследования проводили на базе ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздравсоцразвития России, генетическую — на базе ЗАО «Научно-производственная фирма ДНК-Технология».

Для участия в исследовании отбирали больных в возрасте старше 35 лет со стабильными проявлениями ИБС, проживающих в Центральном регионе РФ.

Критериями диагноза ИБС являлись: стенокардия напряжения II–III ФК, или эпизод ОКС, перенесенный более одного месяца назад, или операция реваскуляризации миокарда —

коронарного шунтирования (КШ)/ЧКВ. Необходимым условием для включения в исследование было запланированное длительное лечение клопидогрелом в качестве единственного антиагреганта (при стабильных проявлениях болезни) либо в комбинации с АСК (после ЧКВ или эпизода ОКС). Суточная доза клопидогрела составляла 75 мг. По усмотрению лечащего врача допускалось ее увеличение до 150 мг в течение первых двух месяцев после ЧКВ. АСК назначалась в дозе 75–150 мг/сут.

Противопоказаниями для участия больных в исследовании были: недавние тромботические эпизоды, в том числе ОКС и ишемический инсульт (ИИ)/транзиторная ишемическая атака (ТИА) менее одного месяца назад, а также тромбоз глубоких вен/тромбоэмболия легочной артерии менее шести месяцев назад; наличие тяжелой стенокардии (IV ФК) либо недостаточности кровообращения (IV ФК по NYHA); потребность в постоянном приеме противовоспалительных препаратов (включая АСК в дозировке  $\geq 325$  мг/сут), пероральных антикоагулянтов; невозможность назначения стандартной антиагрегантной терапии, а также наличие любой тяжелой сопутствующей патологии, способной оказать самостоятельное влияние на прогноз.

Назначение клопидогрела или комбинации клопидогрела с АСК было запланировано на период 18 месяцев, в течение этого времени регистрировали следующие фатальные и нефатальные исходы: сердечно-сосудистая смерть, ОКС, ИИ, ТИА, случаи реваскуляризации пораженного сосудистого бассейна (КШ, ЧКВ, каротидная эндартерэктомия, реваскуляризация артерий нижних конечностей), а также эпизоды любых кровотечений в соответствии с критериями исследовательской группы TIMI (Thrombolysis In Myocardial Infarction — Тромболизис при инфаркте миокарда) [1].

Учитывали клинические факторы, потенциально влияющие на эффективность антиагрегантной терапии. Обращали внимание на наличие стандартных факторов риска (в том числе курения, сахарного диабета), тяжесть стенокардии, недостаточность кровообращения, перенесенные эпизоды ОКС, а также сопутствующую цереброваскулярную болезнь и атеросклеротическое поражение артерий нижних конечностей. Учитывали также прием препаратов для защиты желудка, в первую очередь ингибиторов протонного насоса (ИПН), которые потенциально могут конкурировать с клопидогрелом, замедляя образование его активного метаболита в системе печеночных цитохромов CYP450.

У всех больных исходно брали образцы крови для фармакогенетического анализа. Проводили определение аллельных вариантов генов, контролирующих абсорбцию клопидогрела в кишечнике (*ABCB1 C3435T*) и его активацию в печени (*CYP2C19\*1, \*2, \*3 и \*17*).

Через 3–6 месяцев от начала терапии клопидогрелом в рамках настоящего исследования у больных выявили ОПТ с использованием метода оптической агрегометрии. Агрегацию тромбоцитов (АТ) регистрировали по методу G. V. Born [6] на автоматическом двухканальном лазерном счетчике клеток (модель 220 LA, «НПФ Биола», Россия). Оценивали максимальный уровень АТ в ответ на АДФ, вносимый в объеме 10 мкл, в конечных концентрациях  $1,0 \times 10^{-6}$  М и  $10,0 \times 10^{-6}$  М.

Проводили анализ взаимосвязи ОПТ, генетических и клинических показателей с исходами заболевания на протяжении 18 месяцев терапии клопидогрелом и клопидогрелом в комбинации с АСК.

#### Статистический анализ

Статистическую обработку данных выполняли в системе Statistical Analysis System (SAS). Для моделирования выживаемости и определения прогностически значимых показателей (клинических, биохимических, генетических) использовали регрессионную модель пропорционального риска Кокса, реализованную в процедуре SAS PROC PHREG. Применяли макропроцедуру, позволяющую тестировать на значимость

множество непрерывных или категоризованных показателей при учете влияния заведомо значимых показателей (таких как возраст), включаемых в модель насильственно. Значимость тестируемых переменных определяли с помощью асимптотического критерия хи-квадрат Вальда. Результат считали статистически значимым при  $p < 0,05$ .

#### Результаты

В исследование были включены 399 больных (313 мужчин и 86 женщин), средний возраст которых составил  $58,3 \pm 9$  лет. Распространенность основных факторов риска и клиническая характеристика больных на этапе включения представлены в таблице 1.

Монотерапию клопидогрелом получали 83 пациента со стабильной ИБС. Среди «классических» факторов риска лидирующие позиции занимала артериальная гипертония, наблюдавшаяся у 87,9% больных. Наличие сахарного диабета и ожирения было отмечено у 28,9 и 37,3% больных соответственно. Крайне неблагоприятной была ситуация с курением: более 25% больных продолжали курить на момент включения в исследование. Следует также отметить достаточно высокую

Таблица 1

Сравнительная характеристика групп больных ишемической болезнью сердца, сформированных в зависимости от исходной терапии антиагрегантами

Показатели	Клопидогрел	АСК + клопидогрел	P
Число больных, n	83	316	
– мужчин, n (%)	59 (71,1)	254 (80,4)	
Возраст, годы	$60,6 \pm 0,8$	$58,4 \pm 0,5$	0,01
Артериальная гипертония, n (%)	73 (87,9)	268 (84,8)	> 0,05
Курение в настоящее время, n (%)	21 (25,3)	77 (24,4)	> 0,05
Сахарный диабет, n (%)	24 (28,9)	53 (16,8)	> 0,05
Общий холестерин, ммоль/л	$5,6 \pm 0,09$	$4,9 \pm 0,01$	0,01
Ожирение (ИМТ $\geq 30,0$ кг/м <sup>2</sup> ), n (%)	31 (37,3)	104 (32,9)	> 0,05
Умеренное нарушение функции почек (клиренс креатинина 30–59 мл/мин), n (%)	10 (12,0)	31 (9,8)	> 0,05
Прием ИПН* ( $\geq 30$ дней постоянного приема), n (%)	9 (10,8)	63 (19,9)	0,04
ИБС, n (%)	83 (100,0)	316 (100,0)	
Стенокардия напряжения II–III ФК, n (%)	57 (68,7)	258 (81,6)	0,01
Эпизод ОКС, перенесенный более одного месяца назад:			
– с подъемом сегмента ST, n (%)	49 (59,0)	174 (55,1)	0,04
– без подъема сегмента ST, n (%)	15 (18,1)	88 (27,8)	
Выполненное ЧКВ, n (%)	22 (26,5)	305 (96,5)	
– менее одного месяца назад (плановое), n (%)	–	302 (95,6)	0,001
Выполненное АКШ, n (%)	12 (14,5)	23 (7,3)	
ХСН II–III ФК (NYHA), n (%)	11 (13,2)	15 (4,7)	0,03
Фракция выброса $\leq 40\%$ , n (%)	6 (7,2)	19 (6,0)	> 0,05
Сопутствующая цереброваскулярная болезнь:			
– ИИ более одного месяца назад, n (%)	8 (9,6)	17 (5,4)	> 0,05
– ТИА более одного месяца назад, n (%)	5 (6,0)	11 (3,5)	
Сопутствующий атеросклероз артерий нижних конечностей**, n (%)	17 (20,5)	77 (24,4)	> 0,05

\* В большинстве случаев использовали омега-3.

\*\* Перемежающаяся хромота и/или снижение ладыжно-плечевого индекса менее 0,9.

частоту сопутствующего поражения церебральных и периферических артерий: у 15,6 и 20,5% больных соответственно.

Двухкомпонентную антиагрегантную терапию, включавшую клопидогрел и АСК, принимали 316 больных. В большинстве случаев ее назначали в связи с недавним выполнением плановых ЧКВ. Стандартную поддерживающую дозу клопидогрела 75 мг/сут использовали у 248 больных, а дозу 150 мг/сут в течение первых двух месяцев после ЧКВ получали 68 пациентов. Больные в группе двухкомпонентной терапии оказались моложе, чем больные в группе клопидогрела, и отличались несколько меньшей частотой сахарного диабета, а также церебрального и периферического сосудистого поражения. Больные, получавшие комбинацию из двух антиагрегантов, характеризовались более высокой частотой эпизодов ОКС без подъема сегмента ST и большей частотой стенокардии II–III ФК, наличие которой и являлось основанием для выполнения инвазивного вмешательства. В этой группе также вызывал интерес более частый сопутствующий прием ИПН, обусловленный необходимостью защиты желудка на фоне двойной антитромбоцитарной терапии.

#### Ишемические и геморрагические исходы при лечении антиагрегантами

Суммарная частота фатальных и нефатальных атеротромботических осложнений: сердечно-сосудистой смерти, ОКС и ИИ/ТИА — составила 9,7% (8,4% в группе клопидогрела и 10,1% в группе двойной антиагрегантной терапии). Частота комбинированной конечной точки, объединившей все осложнения, включая случаи реваскуляризации пораженного сосудистого бассейна, составила 17,6% (19,3% при лечении клопидогрелом и 17,1% при использовании двух антиагрегантов).

Всего было зарегистрировано 34 случая кровотечений: 7 (8,4%) у больных, получавших клопидогрел, и 27 (8,5%) у пациентов, получавших комбинацию клопидогрела с АСК. В основном встречались подкожные гематомы, носовые и геморроидальные кровотечения. Умеренных кровотечений было 8 (7 из них в группе двойной антиагрегантной терапии): 7 случаев кровотечений из ЖКТ и 1 случай продолжительной макрорематурии. Три случая умеренных кровотечений произошли на фоне приема удвоенной дозы клопидогрела — 150 мг/сут. Крупных кровотечений не было.

#### Остаточная реактивность тромбоцитов на фоне лечения клопидогрелом и ее клиническое значение

Статистически значимой разницы по уровню АТ между группами клопидогрела и клопидогрела с АСК не выявлено, однако имелась тенденция к более низким агрегационным ответам у больных, получавших двухкомпонентную антиагрегантную терапию. Так, уровень АТ в ответ на АДФ в конечной концентрации  $10,0 \times 10^{-6}$  М составил  $10,76 \pm 1,7\%$  при лечении клопидогрелом и  $9,88 \pm 1,1\%$  при терапии комбинацией клопидогрела с АСК. При использовании более низкой концентрации АДФ ( $1,0 \times 10^{-6}$  М) агрегационные ответы в этих группах были существенно меньше и составили  $1,59 \pm 0,5\%$  и  $1,94 \pm 0,5\%$  соответственно.

Была предпринята попытка определить факторы, связанные с уровнем ОРТ (табл. 2). В модель множественной регрессии включали все изученные клинические и лабораторные показатели (в том числе полиморфизмы генов, участвующих в обмене клопидогрела) при учете заведомого влияния на величину ОРТ терапии одним или двумя антиагрегантами.

В числе клинических факторов, ассоциированных с более высокой ОРТ, индуцированной АДФ, оказались мужской пол, молодой возраст, низкая фракция выброса, многососудистое поражение коронарного русла, периферический атеросклероз, а также сопутствующий прием ИПН. Среди изученных генетических показателей влияние на величину ОРТ оказывало лишь гомозиготное носительство полиморфной аллели *ABCB1 3435TT*. Вопреки предположениям, у стабильных больных ИБС не было обнаружено взаимосвязи между величиной АТ в ответ на АДФ и носительством аллельных вариантов гена *CYP2C19\**.

Нами была оценена связь ОРТ с развитием неблагоприятных исходов на протяжении 18 месяцев проспективного наблюдения. С учетом относительно небольшого числа пациентов, включенных в исследование, анализировали прогностическую значимость АТ в объединенной группе больных, получавших клопидогрел (изолированно или в комбинации с АСК).

Как показано на рисунке 1, суммарная частота осложнений (сердечно-сосудистая смерть/ОКС/ИИ/ТИА/реваскуляризации) была наименьшей при величине АДФ-индуцированной агрегации в пределах 1,96–8,03% (II–III квинтили распре-

Таблица 2

#### Факторы, связанные с уровнем агрегации тромбоцитов *in vitro* (модель множественной регрессии\*)

Факторы	Коэффициент регрессии	F-критерий	P
Индуктор — АДФ $1,0 \times 10^{-6}$ М			
Трехсосудистое поражение коронарного русла	1,11	4,55	0,04
Фракция выброса менее 40%	1,70	3,80	0,05
Ладьяжно-плечевой индекс менее 0,9	0,78	2,80	0,09
Прием ИПН	1,59	4,80	0,02
Индуктор — АДФ $10,0 \times 10^{-6}$ М			
↑ возраста	-0,04	5,13	0,009
Мужской пол	1,05	7,72	0,02
ОКС с подъемом сегмента ST в анамнезе	0,51	3,90	0,04
Полиморфизм <i>ABCB1 C3435T</i> (гомозиготное носительство)	-0,98	4,50	0,04

\* Модель множественной регрессии строили с учетом заведомого влияния на показатель АТ проводимой терапии антиагрегантами: клопидогрелом или комбинацией клопидогрела с АСК.

деления). Низкие значения OPT (I квинтиль) статистически значимо ассоциировались с увеличением риска развития осложнений:  $OR = 2,6$ ; 95% ДИ = 1,01–6,89;  $p = 0,04$ . Тенденция к повышению риска сердечно-сосудистых осложнений отмечена и при высокой АТ (IV–V квинтили):  $OR = 2,0$ ; 95% ДИ = 0,85–4,86;  $p = 0,1$ . Обнаружена также связь между величиной АДФ-индуцированной АТ и развитием любых случаев кровотечений. Представляется достаточно странным, что частота кровотечений в группе больных с максимально подавленной АТ (I квинтиль) была самой низкой: 2,9% (1 случай) против 28,3% во II–III квинтилях ( $p = 0,04$ ) и 11,7% в IV–V квинтилях ( $p = 0,2$ ). Эти данные получены при использовании в качестве индуктора АДФ в концентрации  $10,0 \times 10^{-6}$  М. Агрегационные ответы на АДФ в меньшей концентрации были крайне низкими, и какой-либо разницы по частоте исходов между группами, сформированными на основании квинтильного анализа, обнаружено не было.

Таким образом, оценка OPT с использованием оптического метода позволила выявить определенные ассоциативные связи между величиной агрегационных ответов на фоне антитромбоцитарного лечения и неблагоприятными ишемическими исходами больных стабильной ИБС. Прогностическая точность данного теста была умеренной: величина OPT зависела от множества клинических показателей; кроме того, прогностически неблагоприятными были как высокие, так и низкие агрегационные ответы, что крайне затрудняло трактовку результатов агрегометрии. Что касается кровотечений, то максимальное угнетение OPT ассоциировалось со снижением, а не с увеличением их частоты, как это можно было бы предполагать. Это еще раз говорит о затруднительности применения теста на АТ для решения каких-либо клинических задач.

### Генетические факторы, определяющие исходы терапии клопидогрелом

Большинство обследованных больных оказались носителями полиморфного генотипа Р-гликопротеина ABCB1 — белка, модулирующего абсорбцию в кишечнике различных лекарственных препаратов, в том числе клопидогрела. Гомозиготами дикого типа являлись только 26,6% пациентов. Носителями одной или двух полиморфных аллелей были соответственно 55,1 и 18,3% больных. Носительство вариантов аллелей ABCB1 (СТ или ТТ) не было сопряжено с неблагоприятными ишемическими и геморрагическими исходами. Более того, имелась тенденция к более высокой частоте развития сосудистых осложнений у лиц с диким генотипом (СС). Так, в группе монотерапии клопидогрелом частота развития всех сосудистых событий, включая процедуры реваскуляризации, составила 23,8% у носителей дикого генотипа и 16,9% у носителей одной или двух полиморфных аллелей. В группе двойной антиагрегантной терапии суммарная частота ишемических осложнений у носителей дикого и полиморфного генотипов равнялась соответственно 20,7 и 15,8%. При объединенном анализе исходов в обеих группах больных  $OR$ , связанный с носительством дикого генотипа, составил 1,45; 95% ДИ = 0,2–11,1;  $p = 0,35$ .

Носительство генотипов низкой активности фермента CYP2C19\*1/\*2 и \*2/\*2 было обнаружено соответственно у 18,1 и 1,8% больных. Более редкая аллель CYP2C19\*3, также кодирующая фермент с ослабленной функцией, в обследованной когорте больных не встречалась. Свыше трети больных являлись носителями аллелей усиленного метаболизма CYP2C19: \*1/\*17 (28,3%) или \*17/\*17 (6,5%). У 7,3% больных встречалось сочетание аллелей \*2 и \*17, при котором активность изучаемого

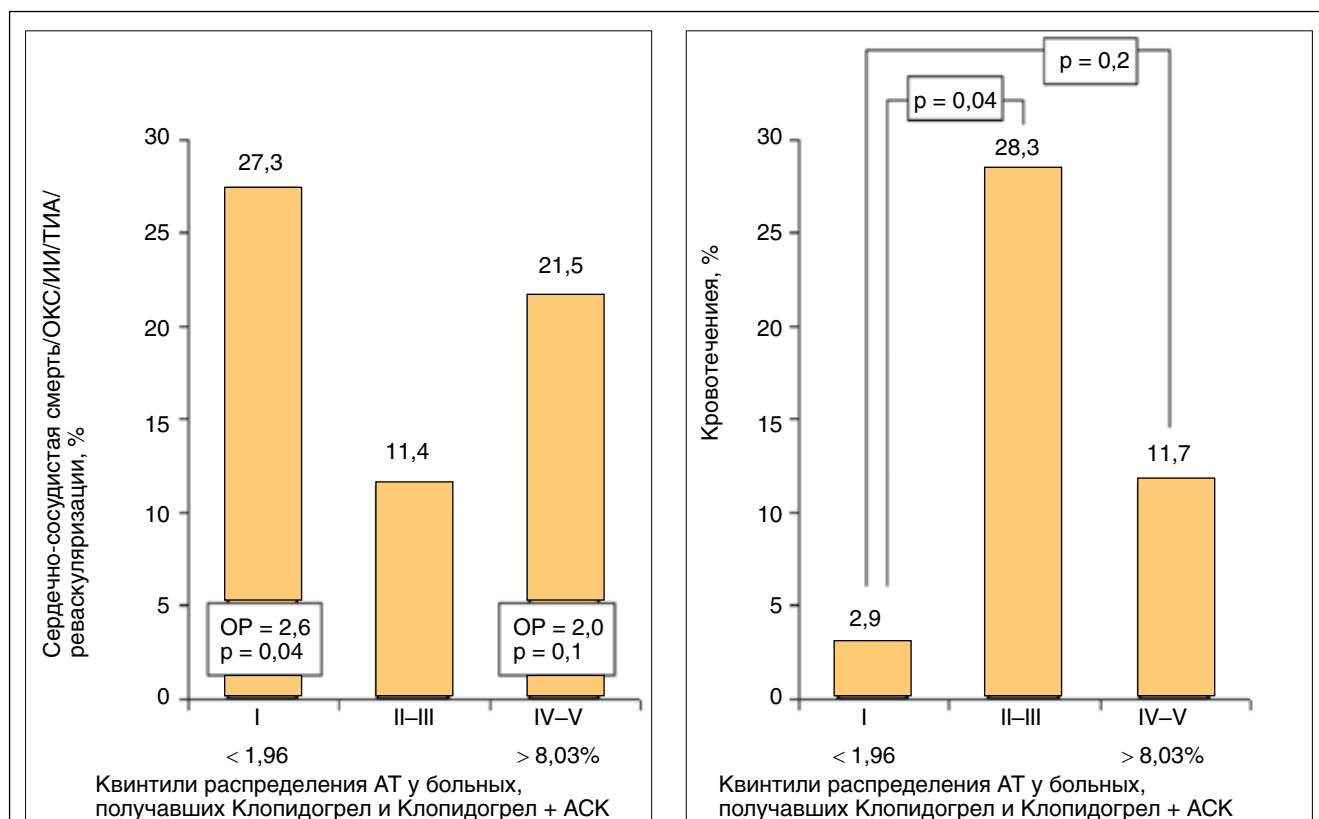


Рис. 1. Уровень агрегации тромбоцитов и частота ишемических и геморрагических осложнений за 18 месяцев терапии клопидогрелом, %

цитохрома пока не установлена. Остальные 38% больных были гомозиготами дикого типа *CYP2C19* (\*1/\*1).

В отличие от гена *ABCB1*, аллельные варианты *CYP2C19*\* оказывали существенное влияние на исходы лечения клопидогрелом. Наиболее неблагоприятной была ситуация в группе больных, получавших клопидогрел в качестве единственного антиагреганта (рис. 2А). У этих пациентов носительство хотя бы одной аллели низкой активности *CYP2C19*\*2 ассоциировалось со значительным увеличением частоты всех неблагоприятных сосудистых исходов (50,0% против 14,1%,  $p = 0,003$ ), в том числе острых атеротромботических событий (30,0% против 7,9%,  $p = 0,02$ ). Статистически значимого влияния носительства аллели \*17 на прогноз не было.

У больных, получавших двухкомпонентную антиагрегантную терапию, также была обнаружена тенденция к увеличению частоты сосудистых осложнений при носительстве аллелей *CYP2C19*\*2 (рис. 2Б). Однако различие в суммарной частоте неблагоприятных исходов между носителями полиморфного (\*2) и дикого генотипов не достигло уровня статистической значимости (20,9% против 13,1%,  $p = 0,06$ ).

Для дальнейшего анализа больные были разделены на две подгруппы в зависимости от используемой суточной дозы клопидогрела: 75 или 150 мг.

Оказалось, что неблагоприятное действие генетического варианта *CYP2C19*\*2 проявлялось только у больных, получавших стандартную поддерживающую дозу клопидогрела 75 мг/сут. Суммарная частота возникновения сердечно-сосудистой смерти, ОКС и ИИ/ТИА, как и всех сосудистых осложнений, у носителей как минимум одной аллели *CYP2C19*\*2 была практически в 3 раза выше, чем у гомозигот дикого типа (26,1% против 8,2% и 28,3% против 12,2% соответственно, рис. 2В).

У больных, получавших удвоенную дозу клопидогрела, ухудшения исходов, связанного с носительством *CYP2C19*\*2, обнаружено не было (рис. 2Г). Таким образом, можно предположить, что удвоенная поддерживающая доза препарата 150 мг/сут позволила нивелировать негативные эффекты аллелей низкой активности *CYP2C19*\*2. Напротив, неожиданно неблагоприятными оказались результаты назначения удвоенной дозы клопидогрела у гомозигот дикого типа *CYP2C19*\*1/\*1 и у носителей аллели \*17. Одной из возможных причин ухудшения исходов могла быть более высокая частота развития кровотечений (по крайней мере, при носительстве генотипа усиленно метаболизма).

Генетический анализ не позволил достоверно идентифицировать больных с высоким риском кровотечений на фоне приема клопидогрела, что связано с относительно небольшой мощ-

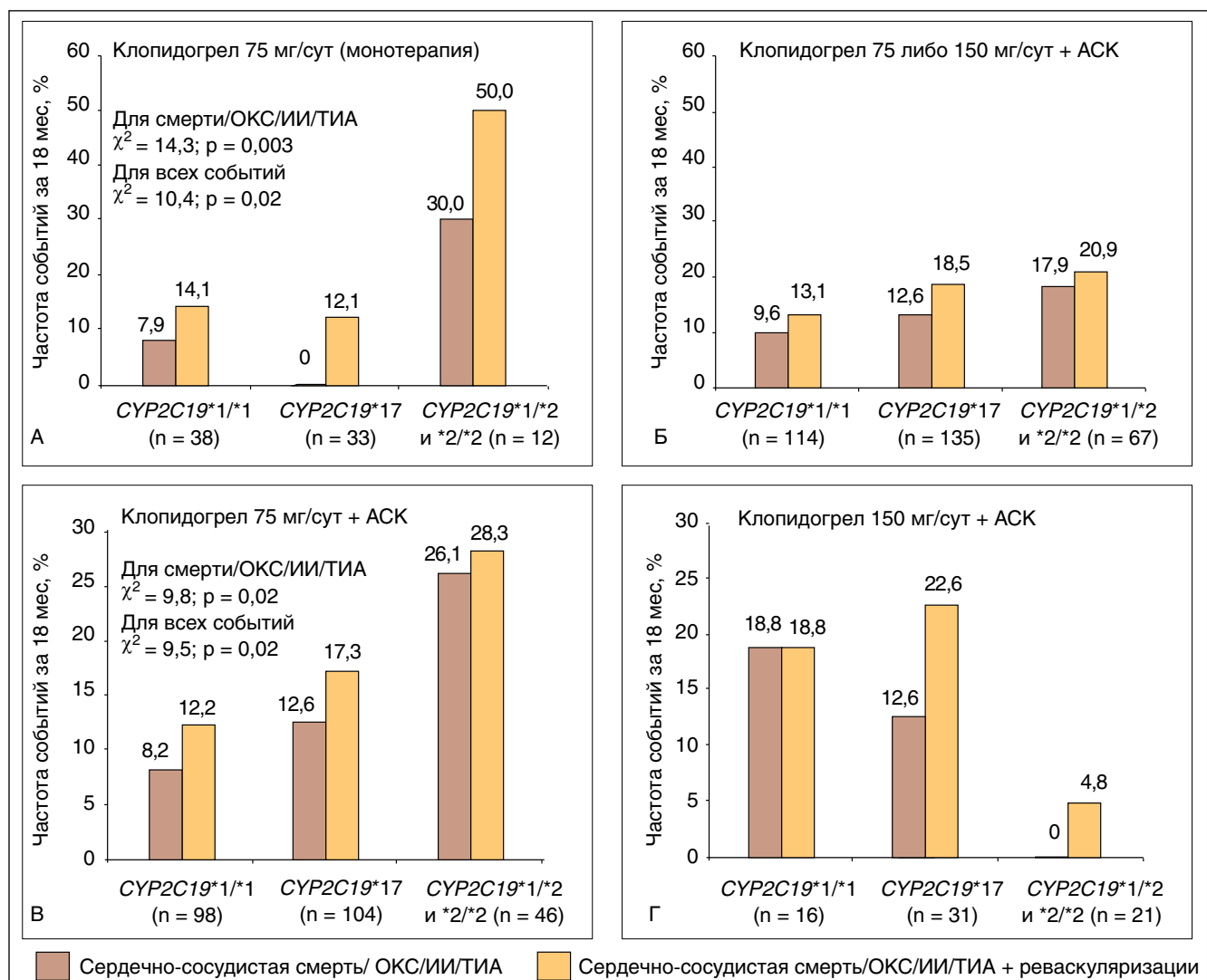


Рис. 2. Варианты *CYP2C19*\* и эффективность клопидогрела при различных режимах антиагрегантной терапии, %

ностью исследования и достаточно низкой частотой регистрации геморрагических осложнений. Тем не менее имелась отчетливая тенденция к большей частоте кровотечений у носителей аллели *CYP2C19\*17*, получавших двойную антитромбоцитарную терапию (рис. 3). Эффекты генотипа *CYP2C19\*17* проявлялись в первую очередь у больных, получавших клопидогрел в дозе 150 мг/сут. Большинство случаев кровотечений в этой подгруппе было отмечено именно у носителей вариантной аллели \*17.

Нами также проведен сравнительный анализ распространенности демографических, клинических и ангиографических характеристик больных в подгруппах различного режима дозирования клопидогрела. Больные, принимавшие клопидогрел в суточных дозах 150 и 75 мг, не различались между собой по частоте основных факторов, которые потенциально могут оказывать влияние на прогноз заболевания, включая устьевое и бифуркационное стентирование, количество имплантированных стентов и их диаметр, число пораженных коронарных артерий или частоту тромботических осложнений в анамнезе. Единственным показателем, по которому подгруппы клопидогрела 150 и 75 мг/сут статистически значимо различались, была суммарная длина имплантированных стентов:  $36,7 \pm 3,4$  см и  $29,4 \pm 2,0$  см соответственно,  $p < 0,05$ . Большая протяженность стентирования у больных, принимавших высокую дозу клопидогрела, также могла оказать влияние на отдаленные исходы ЧКВ.

**Клинические, генетические и лабораторные предикторы эффективности клопидогрела**

Для моделирования выживаемости и определения предикторов, значимых в отношении развития сосудистых осложнений, нами использовалась регрессионная модель пропорционального риска Кокса. В пошаговый дискриминантный анализ были включены характеристики ОПТ и генетические показатели (полиморфизм гена *CYP2C19\**), оказавшиеся значимыми при однофакторном анализе. Кроме того, учитывали влияние сопутствующего приема ИПН, а также потенциально неблагоприятных клинических факторов.

Наиболее сильное влияние на исходы лечения клопидогрелом (сердечно-сосудистая смерть/ОКС/ИИ/ТИА и потребность в процедурах реваскуляризации) оказывало носительство аллелей низкой активности *CYP2C19\*2* (как в гомо-, так и в гетерозиготном варианте). Подчеркнем, что значимость фармакогенетических показателей проявлялась не только при однофакторном (см. рис. 1), но и при многофакторном анализе (см. табл. 2), выполненном с поправкой на пол, возраст и клинические факторы. Предикторами развития неблагоприятных исходов оказались также низкие значения АДФ-индуцированной АТ и сопутствующий прием ИПН, однако прогностическая сила этих показателей, выраженная величиной ОР, была значительно слабее.

**Обсуждение**

Антиагреганты входят в число лекарственных средств, жизненно необходимых больным ИБС, наряду со статинами, ингибиторами АПФ, бета-блокаторами и гипогликемическими препаратами. Эффективность четырех последних групп лекарств определяется, в том числе, достижением на фоне их приема целевых значений показателей, характеризующих состояние липидного и углеводного обмена, уровня АД и т. д. Оценка эффективности антиагрегантных препаратов также представляется достаточно важной, однако соответствующих критериев, пригодных для использования в рутинной клинической практике, на сегодняшний день не разработано. Очевидно, что среди всех антиагрегантов наибольшее значение может иметь оценка действия клопидогрела, поскольку препарат не является активным веществом и требует для осуществления специфического антитромбоцитарного эффекта сложного преобразования в системе *CYP450*.

Определение эффективности клопидогрела традиционно связывают с лабораторными методиками, в которых используются различные способы оценки функции тромбоцитов *in vitro*, в том числе стандартная оптическая агрегометрия, проточная цитометрия (индекс VASP — фосфорилирование вазодилатор-стимулированного фосфопротеина), а также полуавтома-

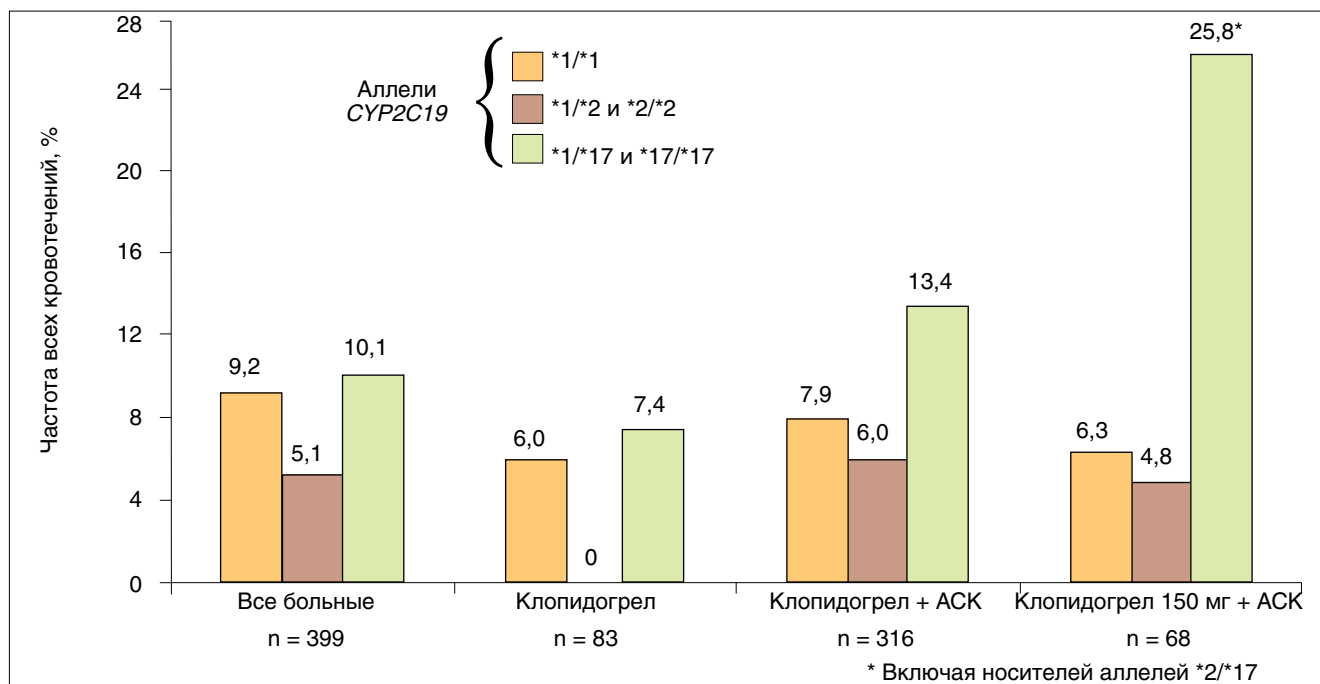


Рис. 3. Частота случаев кровотечений в зависимости от режима назначения клопидогрела и носительства аллелей *CYP2C19\**, %

тические системы, специально разработанные для быстрого проведения теста у постели больного (например, VerifyNow P2Y12 и Plateletworks) [22, 23, 29]. Принято считать, что высокая OPT, сохраняющаяся несмотря на прием антиагреганта, является предиктором неблагоприятных сосудистых исходов [8]. Данный факт нашел подтверждение и в нашем относительно небольшом исследовании, обнаружившем ухудшение прогноза у больных с высокой OPT на фоне лечения клопидогрелом.

Несмотря на обнадеживающие результаты, ни один из функциональных тестов до сих пор не рекомендован к применению в рутинной клинической практике [22]. Это связано с низкой воспроизводимостью результатов и отсутствием стандартных пороговых величин, позволяющих идентифицировать больных с высоким риском развития ишемических/геморрагических осложнений. Нам также не удалось установить лабораторные критерии эффективности клопидогрела. Метод оптической АТ (G. V. Born), использованный в работе, оказался непригодным для оценки действия препарата, так как плохой прогноз мог быть ассоциирован как с высокими, так и с низкими показателями АТ. Таким образом, трактовка результатов теста крайне сложна из-за его низкой специфичности, обусловленной, по всей видимости, влиянием множества клинических факторов. Подчеркнем, что границы высокой и низкой АТ являются весьма условными и вряд ли могут быть точно воспроизведены на разных контингентах больных.

Отсутствие практической пользы от определения OPT на фоне лечения клопидогрелом было продемонстрировано и в крупном многоцентровом исследовании GRAVITAS при использовании наиболее современной полуавтоматической системы VerifyNow со стандартизованным преаналитическим этапом [26]. Высокая OPT в исследовании GRAVITAS статистически значимо ассоциировалась с худшим прогнозом у больных. Однако, как и в нашей работе, OPT у больных, получавших антиагреганты, в значительной степени определялась различными клиническими факторами риска. Важно подчеркнуть, что определение функции тромбоцитов в этом исследовании оказалось абсолютно бесперспективным и в отношении установления режима дозирования клопидогрела.

Нам удалось убедительно показать, что для выявления больных, недостаточно реагирующих на клопидогрел, в большей степени подходит фармакогенетическое исследование. Были одновременно изучены клинические эффекты генов, определяющих всасывание клопидогрела в кишечнике (ген *ABCB1*) и его трансформацию в печени (ген *CYP2C19\**). Прежде всего, результаты нашей работы позволили впервые определить частоту носительства полиморфных аллелей указанных выше генов в крупной когорте больных ( $n = 399$ ), проживающих в Центральном регионе РФ. Это представляется очень важным, поскольку предшествующие исследования фармакогенетики клопидогрела были выполнены в основном в странах Западной Европы и Северной Америки, т. е. у представителей других этнических групп. Актуальность нашей работы определила также оценка клинических эффектов аллелей медленного (*CYP2C19\*2*), ускоренного (*CYP2C19\*17*) метаболизма препарата и их сочетания, что не было выполнено ни в одном крупном клиническом испытании.

Частота носительства изученных полиморфных аллелей в целом соответствовала европейским показателям. Так, носительство генотипов промежуточного и ослабленного метаболизма (*CYP2C19\*1\*2* и *\*2/\*2*) было обнаружено почти у 20%

больных, а носительство генотипов усиленного метаболизма (*CYP2C19\*1/\*17* и *\*17/\*17*) — у 35%. Как и во многих исследованиях, выполненных, в отличие от нашего, на контингенте пациентов с ОКС, носительство аллелей низкой активности *CYP2C19\*2* (как в гомо-, так и в гетерозиготном варианте) ассоциировалось с повышением риска развития ишемических событий, а носительство аллелей *CYP2C19\*17* — с увеличением частоты геморрагий (в первую очередь у больных, получавших удвоенную дозу клопидогрела 150 мг/сут). Результаты метаанализов фармакогенетических исследований разноречивы, что определяется различными критериями оценки эффективности лечения и разными контингентами больных [7, 9, 21]. Однако отрицать влияние генотипа на реализацию клинических эффектов клопидогрела было бы абсолютно неправильным.

Недостатки клопидогрела, связанные с особенностями его обмена, послужили предпосылкой для внедрения в практику нового поколения блокаторов пуриновых рецепторов с более быстрым, стабильным и предсказуемым действием, а именно прасугрела и тикагрелора. В соответствии с последними международными рекомендациями, этим препаратам нужно отдавать предпочтение перед клопидогрелом при лечении больных с ОКС, в том числе обусловленным тромбозом стента [18, 20]. Тратить время на предварительное тестирование функции тромбоцитов или фармакогенетический анализ у таких больных, вероятно, не следует.

Однако у больных со стабильными проявлениями ИБС, при наличии достаточного времени для проведения тех или иных лабораторных тестов, появилась реальная возможность выбора между различными блокаторами P2Y12-рецепторов тромбоцитов и так называемой персонализацией антиагрегантной терапии. Рутинное же назначение тиенопиридинов третьего поколения вместо клопидогрела при плановых процедурах ЧКВ представляется нецелесообразным, поскольку доказательная база использования этих препаратов вне связи с обострениями ИБС пока отсутствует.

По мнению экспертов Американской кардиологической ассоциации и Американской коллегии кардиологов [2], разумно выполнять предварительное генотипирование у больных, подвергаемых плановым процедурам ЧКВ высокого риска (например, при сложной коронарной анатомии или многососудистом поражении). При выявлении мутантных аллелей *CYP* низкой активности у таких больных следует назначать другие блокаторы рецептора P2Y12 либо использовать более высокие дозы клопидогрела.

В рутинном увеличении дозы клопидогрела при его экстенсивном (*CYP2C19\*1/\*1*) или ускоренном (*CYP2C19\*17*) метаболизме нет необходимости.

Добавим также, что генотипирование важно у больных, в отношении которых по каким-либо причинам планируется использование клопидогрела в качестве единственного антиагреганта. По нашим данным, носительство хотя бы одной аллели *CYP2C19\*2*, встречающееся примерно в 20% случаев, должно являться противопоказанием к такому лечению.

### Выводы

1. У стабильных больных ИБС оценка OPT с использованием оптической агрегометрии непригодна для оценки клинической эффективности клопидогрела, что связано с низкой специфичностью теста, обусловленной зависимостью полученных результатов от сопутствующих клинических факторов.

- Для оценки чувствительности к клопидогрелу у стабильных больных ИБС больше подходит фармакогенетическое исследование с определением носительства аллельных вариантов фермента *CYP2C19*\*.
- В анализируемой выборке больных стабильной ИБС, проживающих в Центральном регионе РФ, носительство аллельных вариантов, связанных со сниженной функцией фермента *CYP2C19*\*1/\*2 (гетерозиготы) и \*2/\*2 (гомозиготы), составляет соответственно 18,1 и 1,8%; носительство аллельных вариантов усиленного метаболизма *CYP2C19*\*1/\*17 (гетерозиготы) и \*17/\*17 (гомозиготы) — соответственно 28,3 и 6,5%.
- Носительство генотипов низкой активности фермента *CYP2C19* \*1/\*2 и \*2/\*2 у стабильных больных ИБС повышает ОР сердечно-сосудистых осложнений в 2,4 раза (95% ДИ = 1,2–4,9;  $p = 0,01$ ) и в 5,4 раза (95% ДИ = 1,8–16,4;  $p = 0,003$ ) соответственно.
- Негативное влияние носительства *CYP2C19*\*2 на прогноз наиболее выражено у больных, получающих клопидогрел в качестве единственного антиагреганта. За 18 месяцев терапии суммарная частота сердечно-сосудистой смерти, ОКС, ИИ, ТИА у носителей хотя бы одной аллели низкой активности \*1/\*2 или \*2/\*2 составила 30,0% против 7,9% у носителей дикого генотипа ( $p = 0,003$ ), а частота всех сердечно-сосудистых осложнений, включая процедуры реваскуляризации, — 50,0 и 14,1% соответственно ( $p = 0,02$ ).
- У носителей генотипа ослабленного метаболизма *CYP2C19*\*2 увеличение поддерживающей дозы клопидогрела до 150 мг/сут снижает частоту сердечно-сосудистых осложнений при отсутствии повышения частоты кровотечений.
- Увеличение поддерживающей дозы клопидогрела до 150 мг/сут у носителей генотипа экстенсивного (*CYP2C19*\*1/\*1) и усиленного (*CYP2C19*\*17) метаболизма не уменьшает частоту сердечно-сосудистых осложнений, а сопровождается тенденцией к росту частоты кровотечений.

### Заключение

Первые попытки персонализации антиагрегантной терапии кажутся вполне оптимистичными. Так, у носителей аллели \*2 была продемонстрирована возможность снижения исходно повышенной остаточной реактивности тромбоцитов до уровня носителей дикого генотипа *CYP2C19* как при увеличении дозы клопидогрела (исследование ELEVATE-TIMI 56 [14]), так и при его замене на прасугрел (исследование RAPID GENE [24]). Эффективность такого подхода требует уточнения в исследованиях с твердыми клиническими конечными точками. Появление в последние годы дешевых тест-систем, пригодных для быстрого прикроватного выполнения генетического анализа, безусловно, будет способствовать организации таких исследований.

### Резюме

**Цель исследования:** определение значимости функциональных и фармакогенетических показателей для оценки эффективности длительной терапии клопидогрелом у больных стабильной ИБС.

**Дизайн:** проспективное наблюдательное нерандомизированное исследование.

**Материал и методы.** 399 больных ИБС получали длительную терапию клопидогрелом 75 мг/сут либо клопидогрелом 75 или 150 мг/сут в комбинации с ацетилсалициловой кислотой (АСК). Изучали остаточную реактивность тромбоцитов (ОРТ), носительство полиморфизмов генов, контролирующей абсорбцию клопидогрела в кишечнике (*ABCB1 C3435T*) и его активацию в печени (*CYP2C19* \*1, \*2, \*3 и \*17). Анализовали взаимосвязь ОРТ, генетических и клинических показателей с развитием ишемических сосудистых осложнений и кровотечений.

**Результаты.** Показатель ОРТ оказался непригодным для определения чувствительности к клопидогрелу. Прогностическую значимость имело носительство аллельных вариантов *CYP2C19*\*1/\*2 и \*2/\*2. В группе монотерапии клопидогрелом носительство хотя бы одной аллели \*2 ассоциировалось с увеличением суммарной частоты сердечно-сосудистых осложнений до 50,0% против 14,1% у носителей дикого генотипа ( $p = 0,02$ ). При лечении клопидогрелом 75 мг/сут в комбинации с АСК суммарная частота сердечно-сосудистых осложнений также была выше у носителей аллели \*2 по сравнению с гомозиготами дикого типа ( $p = 0,02$ ). У больных, получавших клопидогрел 150 мг/сут в комбинации с АСК, ухудшения исходов, связанного с носительством *CYP2C19*\*2, не обнаружено. Увеличение дозы клопидогрела до 150 мг/сут у носителей генотипа экстенсивного (*CYP2C19*\*1/\*1) и усиленного (*CYP2C19*\*17) метаболизма не уменьшало частоту сердечно-сосудистых осложнений, сопровождалось тенденцией к росту частоты кровотечений.

Фармакогенетические показатели сохраняли высокую значимость в модели многофакторного риска.

**Заключение.** Определение носительства генетических вариантов *CYP2C19*\*, ассоциированных с нормальной (\*1), ослабленной (\*2) и усиленной (\*17) функцией фермента, может быть рекомендовано для оценки чувствительности к клопидогрелу у больных стабильной ИБС.

**Ключевые слова:** клопидогрел, остаточная реактивность тромбоцитов, фармакогенетика, *CYP2C19*.

### Summary

**Study Objective:** To determine the role of functional and pharmacogenetic parameters in assessing the efficacy of long-term therapy with clopidogrel in patients with stable CHD.

**Study Design:** This was a prospective, follow-up, non-randomized study.

**Materials and Methods:** A total of 399 patients with CHD received long-term treatment with either clopidogrel 75 mg/day alone or clopidogrel 75 or 150 mg/day combined with acetylsalicylic acid (ASA). We studied the residual platelet reactivity (RPR), and the presence of polymorphic variation in the genes that control intestinal absorption of clopidogrel (*ABCB1 C3435T*) and its activation in the liver (*CYP2C19* \*1, \*2, \*3, and \*17). We also investigated the relationship between RPR levels and genetic and clinical parameters on the one hand and the rate of ischemic vascular events and bleedings, on the other.

**Results:** The study showed that RPR was not an appropriate clopidogrel-sensitivity marker. The *CYP2C19*\*1/\*2 and \*2/\*2 allelic variants could be used as prognostic markers. In the clopidogrel-alone group, the presence of at least one \*2 allelic variant was associated with higher combined rates of cardiovascular events (50% vs. 14.1% in patients who had the wild-type genotype;  $p = 0.02$ ). In the group that received clopidogrel 75 mg/day in combination with ASA, the combined rate of cardiovascular events was also higher in patients who had the \*2 allele compared to those who were homozygous for the wild-type allele ( $p = 0.02$ ). In patients receiving clopidogrel 150 mg/day in combination with ASA, the presence of *CYP2C19*\*2 was not associated with more severe outcomes. In carriers of the *CYP2C19*\*1/\*1 (extensive metabolizers) or *CYP2C19*\*17 (ultra-metabolizers) alleles, the increase in the clopidogrel dose up to 150 mg/day was not associated with any reduction in the rate of cardiovascular events, but tended to increase the rate of bleedings.

The pharmacogenetic parameters maintained high significance in the multivariate risk model.

**Conclusion:** Identifying the genetic variants of *CYP2C19*\* associated with a regular (\*1), poor (\*2) or enhanced (\*17) enzyme activity may be recommended as a tool to assess clopidogrel sensitivity in patients with stable CHD.

**Keywords:** clopidogrel, residual platelet reactivity, pharmacogenetics, *CYP2C19*.



## Литература

1. A comparison of the clinical impact of bleeding measured by two different classifications among patients with acute coronary syndromes / V. Sunil [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. 2006. Vol. 47. № 4. P. 809–816.
2. ACCF/AHA Clopidogrel Clinical Alert: Approaches to the FDA Boxed Warning. A Report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents and the American Heart Association / D. R. Holmes [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. 2010. Vol. 56. № 4. P. 321–341.
3. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation / M. S. Sabatine [et al.] // N. Engl. J. Med. 2005. Vol. 352. № 121. P. 1179–1189.
4. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial / Z. M. Chen [et al.] // Lancet. 2005. Vol. 366. № 9497. P. 1607–1621.
5. Antiplatelet Drugs. American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8<sup>th</sup> Edition) / C. Patrono [et al.] // Chest. 2008. Vol. 133. Iss. 6. P. 199–233.
6. Born G. V. The aggregation of blood platelets / G. V. Born, M. G. Cross // J. Physiol. 1963. Vol. 168. № 1. P. 178–195.
7. Cardiovascular risk in clopidogrel-treated patients according to cytochrome P450 2C19\*2 loss-of-function allele or proton pump inhibitor coadministration: a systematic meta-analysis / J. S. Hulot [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. 2010. Vol. 56. № 2. P. 134–143.
8. Clopidogrel nonresponsiveness in patients undergoing percutaneous coronary intervention with stenting: a systematic review and meta-analysis / J. D. Snoop [et al.] // Am. Heart. J. 2007. Vol. 154. № 2. P. 221–231.
9. CYP2C19 Genotype, Clopidogrel Metabolism, Platelet Function, and Cardiovascular Events. A Systematic Review and Meta-analysis / M. V. Holmes [et al.] // JAMA. 2011. Vol. 306. № 24. P. 2704–2714.
10. Cytochrome P450 2C19 681G>A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents / D. Trenk [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. 2008. Vol. 51. № 20. P. 1925–1934.
11. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention / D. Sibbing [et al.] // Eur. Heart. J. 2009. Vol. 30. № 8. P. 916–922.
12. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study / J. P. Collet [et al.] // Lancet. 2009. Vol. 373. № 9660. P. 309–317.
13. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel / J. L. Mega [et al.] // N. Engl. J. Med. 2009. Vol. 360. № 4. P. 354–362.
14. Dosing clopidogrel based on CYP2C19 genotype and the effect on platelet reactivity in patients with stable cardiovascular disease / J. L. Mega [et al.] // JAMA. 2011. Vol. 306. № 20. P. 2221–2228.
15. Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting: the clopidogrel aspirin stent international cooperative study (CLASSICS) / M. E. Bertrand [et al.] // Circulation. 2000. Vol. 102. № 6. P. 624–629.
16. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial / S. R. Steinhubl [et al.] // JAMA. 2002. Vol. 288. № 19. P. 2411–2420.
17. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study / S. R. Mehta [et al.] // Lancet. 2001. Vol. 358. № 9281. P. 527–533.
18. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: the task force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC) / C. W. Hamm [et al.] // Eur. Heart J. 2011. Vol. 32. № 23. P. 2999–3054.
19. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events / T. Simon [et al.] // N. Engl. J. Med. 2009. Vol. 360. № 4. P. 363–375.
20. Guidelines on myocardial revascularization / W. Wijns [et al.] // Eur. Heart J. 2010. Vol. 31. № 20. P. 2501–2555.
21. Impact of CYP2C19 variant genotypes on clinical efficacy of antiplatelet treatment with clopidogrel: systematic review and meta-analysis / T. Bauer [et al.] // BMJ. 2011. Vol. 343. Iss. 7819. P. 353.
22. Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology / W. Kuliczowski [et al.] // Eur. Heart J. 2009. Vol. 30. № 4. P. 426–435.
23. Nguyen T. A. Resistance to clopidogrel: a review of the evidence / T. A. Nguyen, J. G. Diodati, C. Pharand // J. Am. Coll. Cardiol. 2005. Vol. 45. № 8. P. 1157–1164.
24. Point-of-care genetic testing for personalisation of antiplatelet treatment (RAPID GENE): a prospective, randomised, proof-of-concept trial / J. D. Roberts [et al.] // Lancet. 2012. Vol. 379. № 9827. P. 1705–1711.
25. Relation of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism to occurrence of drug-eluting coronary stent thrombosis / B. Giusti [et al.] // Am. J. Cardiol. 2009. Vol. 103. № 6. P. 806–811.
26. Standard-vs high-dose clopidogrel based on platelet function testing after percutaneous coronary intervention: the GRAVITAS randomized trial / M. J. Price [et al.] // JAMA. 2011. Vol. 305. № 11. P. 1097–1105.
27. Steinhubl S. R. Genotyping, clopidogrel metabolism, and the search for the therapeutic window of thienopyridines // Circulation. 2010. Vol. 121. № 4. P. 481–483.
28. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives / D. J. Angiolillo [et al.] // J. Am. Coll. Cardiol. 2007. Vol. 49. № 14. P. 1505–1516.
29. Wang T. H. Aspirin and clopidogrel resistance: an emerging clinical entity / T. H. Wang, D. L. Bhatt, E. J. Topol // Eur. Heart. J. 2006. Vol. 27. № 6. P. 647–654. ■

## Изменение инотропной функции миокарда у больных артериальной гипертензией и фибрилляцией предсердий при лечении пропafenомом

А. И. Тарзиманова, В. И. Подзолков, И. Ж. Лория, Л. Н. Мохаммади

### Effects of Propafenone on Myocardial Inotropic Function in Patients with Hypertension and Atrial Fibrillation

A. I. Tarzimanova, V. I. Podzolkov, I. Zh. Loriya, L. N. Mokhammadadi

**А**ртериальная гипертензия (АГ) занимает первое место среди причин появления фибрилляции предсердий (ФП) и диагностируется у 30% больных с различными форма-

ми аритмии. По данным Фрамингемского исследования, риск развития ФП у больных АГ в 1,9 раза выше, чем у пациентов, имеющих нормальный уровень АД [6]. Мировым медицинским