

©Коллектив авторов

## ИНТЕГРАЛЬНЫЕ ТЕСТЫ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

*О.С. Мельничникова<sup>1\*</sup>, И.А. Назарова<sup>1</sup>, О.В. Сироткина<sup>1,2</sup>, А.В. Панов<sup>1</sup>,  
И.Т. Абесадзе<sup>1</sup>, М.З. Алушивили<sup>1</sup>, Н.Л. Лоховинина<sup>1</sup>, Т.В. Вавилова<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2; \*эл. почта: olga4403@gmail.com

<sup>2</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова  
Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”,  
188300, Ленинградская область, Гатчина, Орлова Роща, 1

Несмотря на то, что ацетилсалициловая кислота (АСК) является золотым стандартом профилактики сердечно-сосудистых осложнений (ССО) у больных ишемической болезнью сердца (ИБС), всё же у ряда пациентов сохраняются риски атеротромбоза. В настоящем исследовании проведена оценка антитромботического эффекта АСК у пациентов с ИБС с помощью интегральных тестов исследования гемостаза: системы T-TAS (total thrombus-formation analysis system) и теста генерации тромбина (ТГТ) в богатой тромбоцитами плазме (PRP — platelet rich plasma). Обследовано 34 пациента со стабильной ИБС (11 женщин, 23 мужчины) и 33 человека (15 женщин, 18 мужчин) группы контроля. В результате оценки активности тромбообразования с помощью системы T-TAS обнаружено значимое снижение площади под кривой (AUC10) в группе с ИБС по сравнению с контрольной (135,6 [88,0-222,3] и 260,5 [217,3-301,9],  $p < 0,05$  соответственно). По данным анализа ТГТ в PRP у пациентов с ИБС по сравнению с группой контроля обнаружено снижение пиковой концентрации тромбина (PTh) и скорости образования тромбина (VI) (100,5 [78,3-127,7] и 125,7 [118,7-161,5], нмоль; 7,2 [4,7-11,1] и 14,9 [11,6-18,1], нмоль/мин,  $p < 0,01$  соответственно), наблюдалось удлинение временных параметров теста. Число больных с повышенной реактивностью тромбоцитов, выявленной по данным T-TAS, было больше таковых, обнаруженных с помощью ТГТ (38,2% (n=13) и 20,8% (n=7) соответственно). В ходе корреляционного анализа обнаружена зависимость увеличения VI с возрастанием показателя AUC10 по данным T-TAS в группе пациентов с ИБС ( $r=0,37$ ,  $p=0,03$ ). Таким образом, исследования T-TAS и ТГТ в PRP показали свою эффективность в оценке антитромботических свойств АСК у пациентов с ИБС.

**Ключевые слова:** генерация тромбина; тромбообразование в потоке; ацетилсалициловая кислота

**DOI:** 10.18097/PBMC20216705427

### ВВЕДЕНИЕ

Всё большее число пациентов, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), особенно ишемической болезнью сердца (ИБС), получают ацетилсалициловую кислоту (аспирин, АСК) и/или клопидогрел для профилактики сердечно-сосудистых осложнений (ССО) [1]. Благодаря выгодному соотношению между пользой и риском у пациентов со стабильной ИБС, а также низкой цене, аспирин остаётся золотым стандартом фармакологической профилактики артериального тромбоза.

Хотя АСК обладает доказанным антитромботическим действием, от 10% до 20% пациентов имеют рецидивирующие артериальные тромботические события в течение длительного

периода наблюдения [2]. Как известно, резистентность к аспирину повышает риск повторных ССО. Недавний мета-анализ, в котором обобщены результаты 11 исследований и включено 11857 пациентов с ИБС, получавших аспирин, показал, что резистентность к аспирину была связана с повышенным риском смертности от всех причин (OR=2,42, 95% ДИ 1,86-3,15) [3]. В другом мета-анализе показано, что нечувствительность к аспирину повышает риск повторных ССО в четыре раза [4]. В то же время, некоторые авторы утверждают, что ССО у пациентов с ИБС, получавших аспирин, в большей степени зависят от исходного сердечно-сосудистого профиля, нежели от высокой реактивности тромбоцитов (HPR — high platelet reactivity) [5]. Кроме того,

*Принятые сокращения:* СК – ацетилсалициловая кислота; ГТ – генерация тромбина; ДИ – доверительный интервал; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания; ССО – сердечно-сосудистые осложнения; ТГТ – тест генерации тромбина; AUC10 – area under curve (площадь под кривой давления потока); ETP – endogenous thrombin potential (эндогенный тромбиновый потенциал); HPR – high platelet reactivity (высокая реактивность тромбоцитов); LT – lag time (время инициации свертывания); LTA – light transmission aggregometry (оптическая индуцированная агрегатометрия); OR – odds ratio (отношение шансов); PFT – platelet function tests (тесты оценки функциональной активности тромбоцитов); PL – platelet chip (тромбоцитарный чип); PPP – platelet poor plasma (бедная тромбоцитами плазма); PRP – platelet rich plasma (богатая тромбоцитами плазма); T10 – время инициации свертывания; PTh – peak thrombin (высота пика образования тромбина); T-TAS – total thrombus-formation analysis system (система измерения общего тромбообразования); ttPeak – time to peak (время достижения пика тромбина); VI – velocity index (индекс скорости образования тромбина).

выявлена достаточно большая вариабельность частоты встречаемости пациентов с резистентностью. Так, согласно результатам 65 исследований (10729 пациентов), проведенных с января 2000 г. по февраль 2018 г., распространенность “лабораторной резистентности” к аспирину у пациентов с ССЗ составила 24,7% [95% ДИ 21,4-28,4] [6]. По оценкам другой работы вариабельность ответов на аспирин встречается у 5-60% пациентов [7]. В связи с этим требуется дальнейшее изучение роли лабораторной оценки функции тромбоцитов при приёме антитромботических препаратов у пациентов с факторами риска ССО.

На сегодняшний день существуют разнообразные тесты оценки функциональной активности тромбоцитов (PFT — platelet function tests) для определения эффективности антиагрегантной терапии и выявления HPR. Широко используемые PFT включают оптическую индуцированную агрегометрию (LTA — light transmission aggregometry), PFA-200 (platelet function analyzer), экспресс-тест — VerifyNow, применяемый по месту оказания медицинской помощи. Однако существует ряд ограничений для PFT, что значительно затрудняет измерение реактивности тромбоцитов и влияет на оптимизацию лечения. Эти системы не отражают физиологическую функцию тромбоцитов *in vivo*, так как используют активацию клеток отдельными агонистами, в то время как в сосудистом русле происходит множественная стимуляция. Обычно влияние коагуляции или фибринолиза не оценивается, агрегация тромбоцитов измеряется при условиях низкого сдвига. Еще одно ограничение широко используемых PFT касается большого влияния преаналитических условий на результаты теста, включая тип используемого антикоагулянта, время задержки от забора крови до измерения, а также концентрации используемых агонистов [8]. Наконец, для существующих PFT отсутствует стандартизация анализов и консенсус относительно оптимальных пороговых значений для HPR [9, 10]. Связь между реактивностью тромбоцитов и ССО в большей степени изучена для PFT, предназначенных для мониторинга препаратов — ингибиторов пуринергических рецепторов P2Y<sub>12</sub>, чем для аспирина [11]. Кроме того, количество выявляемых случаев резистентности к аспирину варьирует в зависимости от применяемого PFT [4]. Соответственно, продолжается поиск единого лабораторного теста для анализа HPR, который был бы применим для оценки эффективности АСК и резистентности к ней.

Изучение функции тромбоцитов в цельной крови представляется более значимым клинически в отношении оценки эффективности антитромботических препаратов и приближает исследователя к условиям *in vivo*. В настоящее время разработан интегральный анализ тромбообразования в потоке — T-TAS (total thrombus-formation analysis system), который позволяет произвести количественную оценку формирования тромбоцитарных масс в условиях переменного тока цельной крови

на микрочипе с активирующим веществом. Данная система имитирует условия *in vivo* для оценки тромбогенности цельной крови. Анализ производят путём измерения давления потока в результате закупорки микрокапилляров и количественно оценивают вычислением площади под кривой давления потока (AUC). Методика предполагает использование двух вариантов микрочипов с разными тромбогенными поверхностями. Первый — тромбоцитарный (PL) чип для измерения первичной гемостатической способности, поверхность которого покрыта коллагеном I типа. Тромбоциты прикрепляются к поверхности коллагена и формируют агрегат внутри микрочипа, что приводит к закупорке капилляров микрочипа. Второй вариант микрочипа на своей поверхности содержит коллаген и тканевой тромбопластин, применяется для оценки активности тромбоцитов и системы коагуляции в целом. В результате исследований T-TAS у пациентов с ССЗ, находящихся на антиагрегантной терапии, показано, что данная система может оценивать эффективность антитромботических препаратов, их влияние на активацию тромбоцитов и реакции коагуляции [12-14].

Помимо хорошо известного ингибирующего действия АСК на агрегацию тромбоцитов, было описано подавление генерации тромбина (ГТ). Это действие на ГТ может быть дополнительным, физиологически важным антитромботическим эффектом АСК [15]. Немногочисленные исследования по изучению влияния антиагрегантных препаратов с различным механизмом действия (аспирина, клопидогрела и антагониста гликопротеина IIb/IIIa — абциксимаба) на параметры ТГТ указывают на снижение уровня ГТ [16, 17]. Однако в работе других авторов говорится, что повышение образования тромбина происходило в одинаковой степени у пациентов без и с HPR во время лечения антиагрегантами [18]. Исследование ГТ у пациентов после транзиторной ишемической атаки или ишемического инсульта в ответ на изменение антиагрегантной терапии не показало каких-либо устойчивых эффектов в начале приёма аспирина или перехода с аспирина на клопидогрел на потенциал ГТ во время наблюдения [19]. Таким образом, ограниченные исследования и их противоречивые результаты указывают на необходимость дальнейшего анализа ТГТ у пациентов, принимающих антиагрегантную терапию.

Целью настоящего исследования была оценка антитромботического эффекта АСК у пациентов с ИБС с помощью системы T-TAS и ТГТ в богатой (PRP) и бедной (PPP — poor platelet plasma) тромбоцитами плазме.

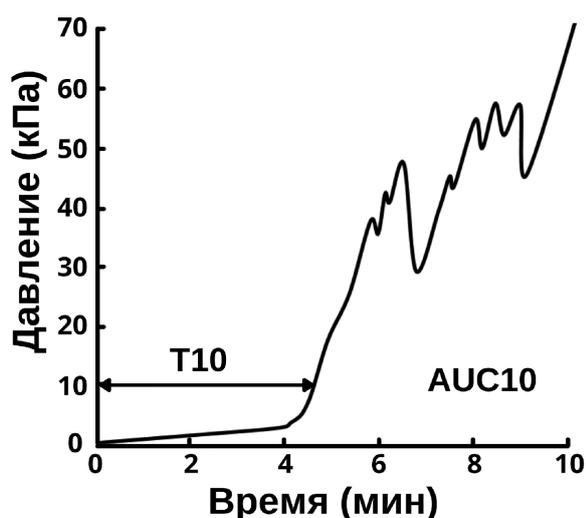
## МЕТОДИКА

Обследовано 34 пациента с ИБС (11 женщин, 23 мужчины), перенёсших в течение последних пяти лет плановое аорто-коронарное шунтирование. Все пациенты получали антиагрегантную терапию АСК (в дозе 75 мг или 100 мг). У 41,2% (n=14) пациентов

был сахарный диабет, у всех пациентов была гипертоническая болезнь на третьей стадии, 35% (n=12) курили на момент исследования. Медиана возраста пациентов составила 71,5 лет [66,7-74,2], индекс массы тела — 26,2 [28,7-24,2], значения общего холестерина — 3,4 [3,9-4,6] ммоль/л. Критериями исключения стали: злокачественные новообразования, острый коронарный синдром, определяемый как острый инфаркт миокарда (с или без электрокардиографических свидетельств подъёма сегмента ST), нестабильная стенокардия (класс 2 или 3 по классификации Браунвальда), другая антитромботическая терапия.

В группу контроля вошли 33 человека, медиана возраста составила 35 [28-40] (15 женщин, 18 мужчин), не имеющих ССЗ и не получавших каких-либо препаратов, влияющих на функцию тромбоцитов в течение 14 дней перед исследованием.

Для исследования процесса тромбообразования в потоке была использована система T-TAS ("Zacros", Япония). Исследование проводилось в цельной крови. Венозную кровь для анализа T-TAS забирали в вакуумные пробирки, содержащие гирудин ("Sarstedt", Германия). В исследовании был использован PL чип, на поверхность которого нанесён коллаген I типа. Система T-TAS позволяет выбирать скорости потока, которые составляют на PL чипе 18 и 24 мкл/мин и определяются как PL18-AUC10 и PL24-AUC 10, соответствующие напряжениям сдвига  $1500 \text{ с}^{-1}$  и  $2000 \text{ с}^{-1}$ . Исследование Agita и соавт. показало значительную положительную корреляцию между уровнями PL18-AUC10 и PL24-AUC10 (или просто AUC10) в образцах у пациентов с ССЗ [13]. В данном исследовании для анализа T-TAS устанавливали скорость сдвига  $2000 \text{ с}^{-1}$  и высчитывали следующие параметры: T10 в мин — время от начала реакции до достижения давления в 10 кПа; AUC10 — общая функциональная активность тромбоцитов, начало, рост и стабильность сформированных тромбов в течение 10 мин (рис. 1).



**Рисунок 1.** Кривая образования тромба на PL чипе системы T-TAS с измеряемыми параметрами. T10 в мин — время инициации свёртывания; AUC10 — площадь под кривой.

Для исследования ГТ кровь из периферической вены собирали в вакуумные пробирки, содержащие 3,2% цитрата натрия (соотношение крови к антикоагулянту 9:1) через иглу 21 размера.

ТГТ проводили в PRP и PPP. Для получения PPP использовали режим двойного центрифугирования: 10 мин 2000 g, далее повторно центрифугировали супернатант 10 мин при 10000 g. Материал замораживали при  $-80^{\circ}\text{C}$ . Для исследования ТГТ в PRP кровь центрифугировали при 180 g 10 мин (Allegra X-12, "Beckman Coulter"). Затем для стандартизации теста в каждой пробе количество тромбоцитов было доведено до  $150 \times 10^9/\text{л}$  путём добавления PPP (10 мин 2000 g).

ТГТ представлял собой автоматическую калиброванную тромбограмму, разработанную Hemker и соавт. (thrombinoscope assay) [20]. Калибратор тромбина (REF 86192), флуорогенный субстрат (REF 86197) и триггерные реагенты (REF 86196 для PRP и REF 86193 для PPP) использовали в соответствии с инструкциями производителя ("Thrombinoscope", Нидерланды). Прибор рассчитывал 4 параметра тромбограммы: максимальная концентрация тромбина в образце (PTh), нМ; площадь под кривой образования тромбина — эндогенный тромбиновый потенциал (ETP), нмоль/мин; время инициации свертывания (LT), мин; время до пиковой концентрации тромбина (ttPeak), мин. Также высчитывали скорость образования тромбина (VI), нмоль/мин по следующей формуле [21]:  $VI = PTh/(ttPeak-LT)$ .

Полученные данные обрабатывали с использованием программного обеспечения SPSS Statistics (версия 21.0). Количественные данные описывали с помощью медианы, 25 и 75 перцентилей Me [Q1-Q3]. Анализ качественных данных проводили с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона, либо точным критерием Фишера. Для сравнения двух независимых переменных использовали тест Манна-Уитни. Для изучения связи между количественными переменными использовали ранговую корреляцию по Спирмену. Различия и корреляции считали значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования активности тромбообразования с помощью системы T-TAS обнаружено значимое снижение значения AUC10 у пациентов с ИБС по сравнению с группой контроля (табл. 1).

По данным анализа ТГТ в PRP обнаружено достоверное снижение PTh и VI у пациентов с ИБС по сравнению с группой контроля. Также в исследуемой группе по сравнению с контролем значимо увеличивались временные параметры (LT и ttPeak) (табл. 2).

В результате анализа ГТ в PPP в группе пациентов с ИБС было обнаружено значимое увеличение временного показателя LT, остальные параметры теста достоверно не отличались в группах сравнения (табл. 3).

## ИНТЕГРАЛЬНЫЕ ТЕСТЫ ГЕМОСТАЗА В ОЦЕНКЕ АСК У БОЛЬНЫХ ИБС

Таблица 1. Показатели T-TAS у пациентов с ИБС и группы контроля

Показатели	ИБС (n=34)	Контроль (n=33)	p
T10, мин	4,2 [2,5-5,0]	3,2 [3,1-4,2]	0,32
AUC10	135,6 [88,0-222,3]	260,5 [217,3-301,9]	0,02

Примечание: T10 в мин — время от начала реакции до достижения давления в 10 кПа; AUC — общая функциональная активность тромбоцитов, сформированных тромбов в течение 10 мин.

Таблица 2. Показатели теста генерации тромбина в богатой тромбоцитами плазме в исследуемых группах

Показатели	ИБС (n=34)	Контроль (n=33)	p
LT, мин	12,5 [10,2-14,5]	8,7 [8,2-8,8]	0,0001
ETP, нМоль\мин	1848,0 [1450,5-2123,5]	1874,5 [1634,0-2053,0]	0,48
RTh, нМоль	100,5 [78,3-127,7]	125,7 [118,7-161,5]	0,001
ttPeak, мин	25,6 [22,1-27,7]	17,0 [16,1-19,7]	0,0001
VI, нМоль\мин	7,2 [4,7-11,1]	14,9 [11,6-18,1]	0,0001

Примечание. Здесь и в таблице 3: LT — время инициации свертывания, мин; RTh — пиковая концентрация тромбина, нМ; ttPeak — время достижения пиковой концентрации тромбина, мин; ETP — эндогенный тромбиновый потенциал, нмоль/мин; VI — скорость образования тромбина, нмоль/мин.

Таблица 3. Показатели теста генерации тромбина в бедной тромбоцитами плазме в исследуемых группах

Показатели	ИБС (n=34)	Контроль (n=33)	p
LT, мин	2,8 [2,5-3,3]	2,4 [2,0-2,72]	0,001
ETP, нМоль\мин	1582,0 [1339,5-1698,0]	1574,0 [1303,5-1548,5]	0,448
RTh, нМоль	272,7 [237,9-309,8]	265,2 [253,1-297,4]	0,661
ttPeak, мин	5,3 [4,8-6,0]	5,0 [4,5-5,8]	0,168
VI, нМоль\мин	114,2 [90,7-139,3]	102,6 [84,8-115,8]	0,484

В ходе корреляционного анализа у пациентов с ИБС обнаружена прямая связь увеличения показателя AUC10 по данным T-TAS с возрастанием VI при анализе ТГТ (рис. 2). В группе контроля корреляционных связей между параметрами, измеряемыми двумя методами, не обнаружено ( $p>0,05$ ). Таким образом, выявлена слабая корреляция количественных параметров ТГТ и T-TAS у пациентов с ИБС, и не обнаружено связи двух тестов у здоровых доноров.

Несмотря на приём АСК, у части пациентов наблюдалась НРР. Так, значения AUC10 у 38,2% (n=13) пациентов с ИБС превышали нижнюю границу ДИ группы контроля (228,6 [95% ДИ 168,3-288,9]). В то же время по данным ТГТ лишь 20,5% (n=7) пациентов имели повышенные значения VI по сравнению с нижней границей ДИ в контрольной группе (15,4 [95% ДИ 12,8-18,1] нмоль/мин). Согласно результатам T-TAS, частота встречаемости НРР у пациентов с ИБС выше по сравнению с таковой по данным ТГТ. Выявлена достоверная, но слабая корреляция показателей (AUC10 и VI) двух исследуемых тестов ( $r=0,37$ ;  $p=0,03$ ); более того, не найдена связь в группе контроля, что, вероятно, связано с индивидуальными различиями в состоянии сосудистой стенки и системы гемостаза у здоровых доноров. По данным T-TAS, 13 пациентов имели НРР, тогда как ТГТ выявил НРР у 7 больных, причём оба теста одновременно показали НРР только у 5 человек. Слабая корреляция двух тестов и

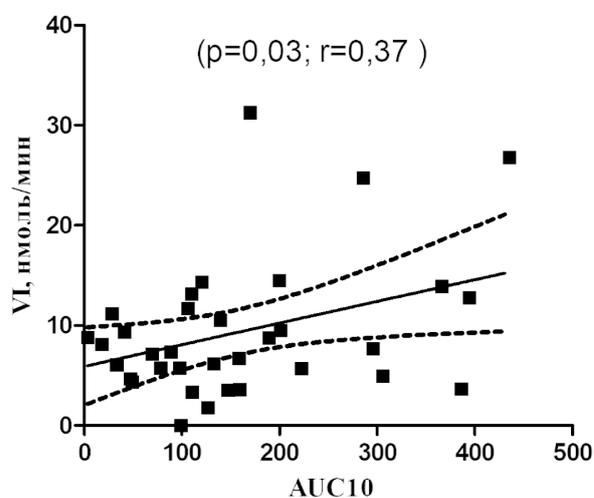


Рисунок 2. Корреляционная связь между скоростью образования тромбина в исследовании ТГТ и общей тромбогенностью при анализе T-TAS в общей группе исследования.

достаточно большая вариабельность выявленной НРР может объясняться разным принципом методов, используемых в тест-системах. В системе T-TAS анализ проводили на чипе, покрытом коллагеном, что позволяет прицельно оценить функциональную активность тромбоцитов в условиях, приближенных к *in vivo*, в ТГТ оценивается, как АСК влияет на коагуляцию и, в частности, на ГТ.

Высокая вариабельность “лабораторной резистентности” к антитромботическим препаратам подтверждается и другими исследователями. Так, у пациентов с ИБС (n=201), получавших ежедневную терапию аспирином (> или = 80 мг), производилась оценка функции тромбоцитов шестью разными методами (LTA с использованием в качестве индукторов арахидоновой кислоты и ADP, импедансная агрегометрия цельной крови, PFA — 100, VerifyNow Aspirin, определение концентрации 11-дегидротромбоксана В (2) в моче). В результате резистентность к антитромботическим препаратам варьировала от 4% до 59,5%. Результаты этих тестов не коррелировали между собой [22].

Понятие “лабораторная резистентность” подразумевает под собой то, что реактивность тромбоцитов, определяемая с помощью PFT, недостаточно заблокирована антитромботическим препаратом. Однако термин “лабораторная резистентность” следует использовать для ситуаций, когда ожидаемый эффект от перорального антиагрегантного препарата не может быть получен из-за изменения целевого фермента или рецептора, что должно быть подтверждено соответствующими тестами. Для АСК это измерение сывороточного уровня тромбоксана В<sub>2</sub> (стабильного гидролитического метаболита тромбоксана А<sub>2</sub>), полученного после 1-часового свертывания цельной крови (без антикоагулянтов) при 37°C [23]. В связи с этим в настоящей работе мы говорим лишь о повышенной реактивности тромбоцитов, несмотря на проводимую терапию. На данный момент не представлено единой технологии выявления “лабораторной резистентности”, нет стандартизации пороговых величин. Требуется дальнейшее исследование роли PFT, в том числе системы T-TAS и ТГТ в оценке клинической и “лабораторной резистентности” у пациентов с ИБС, находящихся на антиагрегантной терапии.

В результате настоящего исследования ГТ в PRP обнаружено значимое снижение PTh и VI, удлинение временных показателей ТГТ по сравнению с контролем, что соответствует состоянию гипокоагуляции и низкой остаточной реактивности тромбоцитов. Наши данные согласуются с результатами других авторов. У пациентов с ИБС на двойной антиагрегантной терапии (аспирин и клопидогрел в стандартных дозировках), перенесших чрескожное коронарное вмешательство, наблюдалось снижение ETP, PTh и VI, а также увеличение ttPeak [17]. В исследовании *in vitro* показано, что у лиц, не получавших аспирин, в PRP при стимуляции арахидоновой кислотой значимо сокращалось время LT по сравнению с PRP без добавления агониста. Этот эффект подавлялся аспирином, что является дополнительным положительным влиянием аспирина на снижение ГТ в кровотоке и предотвращение тромбоза [15]. Также с помощью ТГТ выявлена более высокая HPR у пациентов с имплантацией аппарата вспомогательного кровообращения по сравнению с пациентами, получавшими аспирин, что соответствовало

сокращению LT (0,87 раза,  $p < 0,001$ ), увеличению PTh (1,5 раза,  $p = 0,002$ ) и VI (2 раза,  $p = 0,02$ ) [24]. Таким образом, полученные данные говорят о перспективе применения ТГТ в оценке антитромботических свойств АСК.

При исследовании ТГТ в PRP у пациентов со стабильной ИБС мы наблюдаем увеличение временного показателя LT. В ранее проведенном нами исследовании пациентов с ИБС, находящихся на стандартной терапии АСК (75-100 мг), также наблюдалось увеличение этого параметра по сравнению с группой контроля [25]. Повышение времени начала реакции коагуляции может быть связано с компенсаторной активацией ингибитора пути тканевого фактора TFPI (tissue factor pathway inhibitor). Это предположение согласуется с результатами других исследователей, которые показали, что у пациентов с нестабильным атеросклерозом на фоне дисфункции эндотелия происходит повышенная активация TFPI, в результате которой удлиняется LT [26].

При анализе функциональной активности тромбоцитов на PL-чипе системы T-TAS обнаружено значимое снижение реактивности тромбоцитов, определяемое как достоверное понижение параметра AUC10. В других исследованиях у пациентов с ИБС получены аналогичные данные [12, 13]. Использование T-TAS у пациентов (n=94) с ишемической цереброваскулярной болезнью, получавших клопидогрел и/или аспирин показало, что AUC10 была ниже у пациентов, получавших двойную антиагрегантную терапию, по сравнению с пациентами, получавшими только аспирин или клопидогрел, тогда как параметры, оцененные с помощью других тестов (LTA, VASP-фосфорилирование или определение вазодиллятор-стимулированного фосфопротеина, оценка экспрессии Р-селектина на поверхности тромбоцитов и тромбоцитарно-моноцитарных комплексов), не отражали эффективность комбинированного лечения. У пациентов на монотерапии клопидогрелом уровень AUC10 был связан с тяжестью артериального стеноза [14]. Согласно результатам настоящего исследования, а также по данным других авторов, измерение тромбообразования с использованием системы T-TAS представляет практический интерес в оценке лечения АСК [27].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Исследования T-TAS и ТГТ показали свою эффективность в оценке антитромботических свойств АСК у пациентов со стабильной ИБС. Также с помощью этих методик обнаружено, что у части пациентов наблюдается HPR, несмотря на проводимую терапию АСК. Для стандартизации указанных тестов, установления референтных интервалов и определения возможности их рутинного использования в практике клинико-диагностических лабораторий необходимы дальнейшие исследования на большой выборке пациентов и здоровых добровольцев.

**ФИНАНСИРОВАНИЕ**

Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства здравоохранения (номер 121031100305-9).

**СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ**

Все процедуры в рамках данного исследования, с участием людей как объектов исследования, были выполнены в соответствии с этическими стандартами локального Этического комитета Национального медицинского исследовательского центра имени В.А. Алмазова (выписка № 21022020 из протокола заседания № 02-20 от 17 февраля 2020 г.). Информированное согласие было получено от всех участников исследования.

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Korte W., Cattaneo M., Chassot P.G., Eichinger S., von Heymann C., Hofmann N., Rickli H., Spannagl M., Ziegler B., Verheugt F., Huber K. (2011) *Thromb. Haemost.*, **105**(5), 743-749.
2. Bagoly Z., Sarkady F., Magyar T., Kappelmayer J., Pongrácz E., Csiba L., Muszbek L. (2013) *PloS One*, **8**, e69417. DOI: 10.1371/journal.pone.0069417
3. Wang J., Liu J., Zhou Y., Wang F., Xu K., Kong D., Bai J., Chen J., Gong X., Meng H., Li C. (2019) *Sci. Rep.*, **9**, 13177. DOI: 10.1038/s41598-019-49123-y
4. Snoep J.D., Hovens M.M.C., Eikenboom J.C.J., van der Bom J.G., Huisman M.V. (2007) *Arch. Intern. Med.*, **167**(15), 1593-1599.
5. Pettersen A.-Å.R., Seljeflot I., Abdelnoor M., Arnesen H. (2012) *J. Am. Heart Assoc. Cardiovasc. Cerebrovasc. Dis.*, **1**, e000703. DOI:10.1161/JAHA.112.000703
6. Ebrahimi P., Farhadi Z., Behzadifar M., Shabaninejad H., Abolghasem Gorji H., Taheri Mirghaed M., Salemi M., Amin K., Mohammadibakhsh R., Bragazzi N.L., Sohrabi R. (2020) *Casp. J. Intern. Med.*, **11**(2), 124-134.
7. Ahluwalia K., Bhanwra S. (2017) *Int. J. Basic Clin. Pharmacol.*, **3**, 260-268.
8. Harrison P. (2012) *Platelets*, **23**(7), 510-525.
9. Spronk H.M.H., Padro T., Siland J.E., Prochaska J.H., Winters J., van der Wal A.C., Posthuma J.J., Lowe G., d'Alessandro E., Wenzel P., Coenen D.M., Reitsma P.H., Ruf W., van Gorp R.H., Koenen R.R., Vajen T., Alshaikh N.A., Wolberg A.S., Macrae F.L., Asquith N., Heemskerck J., Heinzmann A., Moorlag M., Mackman N., van der Meijden P., Meijers J.C.M., Heestermans M., Renné T., Dölleman S., Chayouá W., Ariëns R.A.S., Baaten C.C., Nagy M., Kuliopulos A., Posma J.J., Harrison P., Vries M.J., Crijns H.J.G.M., Dudink E.A.M.P., Buller H.R., Henskens Y.M.C., Själander A., Zwaveling S., Erküner O., Eikelboom J.W., Gulpen A., Peeters F.E.C.M., Douxfils J., Olie R.H., Baglin T., Leader A., Schotten U., Scaf B., van Beusekom H.M.M., Mosnier L.O., van der Vorm L., Declerck P., Visser M., Dippel D.W.J., Strijbis V.J., Pertiwi K., Ten Cate-Hoek A.J., Ten Cate H. (2018) *Thromb. Haemost.*, **118**(02), 229-250.
10. Siller-Matula J.M., Trenk D., Schrör K., Gawaz M., Kristensen S.D., Storey R.F., Huber K. (2015) *Thromb. Haemost.*, **113**, 37-52.
11. Fontana P., Roffi M., Reny J.-L. (2020) *J. Clin. Med.*, **9**(1), 194. DOI:10.3390/jcm9010194
12. Hosokawa K., Ohnishi T., Sameshima H., Miura N., Ito T., Koide T., Maruyama I. (2013) *Thromb. Haemost.*, **109**(1), 102-111.
13. Arima Y., Kaikita K., Ishii M., Ito M., Sueta D., Oimatsu Y., Sakamoto K., Tsujita K., Kojima S., Nakagawa K., Hokimoto S., Ogawa H. (2016) *J. Thromb. Haemost.*, **14**(4), 850-859.
14. Yamazaki M., Ohnishi T., Hosokawa K., Yamaguchi K., Yoneyama T., Kawashima A., Okada Y., Kitagawa K., Uchiyama S. (2016) *J. Thromb. Haemost.*, **14**(9), 1788-1797.
15. Altman R., Scazziota A., Rouvier J., Gonzalez C. (2000) *Thromb. Haemost.*, **84**, 1109-1112.
16. Altman R., Scazziota A., de Lourdes Herrera M., Gonzalez C. (2006) *J. Thromb. Haemost.*, **4**(9), 2022-2027.
17. Berezovskaya G., Smirnova O., Malev E., Khromov-Borisov N., Klokova E., Karpenko M., Papayan L., Petrishchev N. (2018) *Platelets*, **29**, 185-191.
18. Gremmel T., Panzer S., Steiner S., Seidinger D., Koppensteiner R., Pabinger I., Kopp C.W., Ay C. (2013) *Thromb. Res.*, **132**(1), e24-e30. DOI: 10.1016/j.thromres.2013.04.008
19. Tobin W.O., Kinsella J.A., Kavanagh G.F., O'Donnell J.S., McGrath R.A., Collins D.R., Coughlan T., O'Neill D., Egan B., Tierney S., Feeley T.M., Murphy R.P., McCabe D.J. (2013) *J. Neurol.*, **260**, 590-596.
20. Hemker H.C., Giesen P., Aldieri R., Regnault V., de Smed E., Wagenvoort R., Lecompte T., Béguin S. (2002) *Pathophysiol. Haemost. Thromb.*, **32**, 249-253.
21. Tripodi A. (2016) *Clin. Chem.*, **62**(5), 699-707.
22. Lordkipanidzé M., Pharand C., Schampaert E., Turgeon J., Palisaitis D.A., Diodati J.G. (2007) *Eur. Heart J.*, **28**(14), 1702-1708.
23. Kuliczowski W. (2009) *Eur. Heart J.*, **30**(4), 426-435.
24. Consolo F., Pozzi L., Pieri M., Della Valle P., Redaelli A., D'Angelo A., Pappalardo F. (2020) *ASAIO J. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, **66**(4), 415-422.
25. Мельничникова О.С., Семенов А.П., Панов А.В., Сироткина О.В., Назарова И.А., Карпенко М.А., Вавилова Т.В. (2019) *Трансляционная медицина*, **6**(2), 37-45. [Melnichnikova O.S., Semenov A.P., Panov A.V., Sirotkina O.V., Nazarova I.A., Karpenko M.A., Vavilova T.V. (2019) *Translational Medicine*, **6**(2), 37-45.]
26. Smid M., Dielis A.W.J.H., Winkens M., Spronk H.M.H., van Oerle R., Hamulyák K., Prins M.H., Rosing J., Waltenberger J.L., Ten Cate H. (2011) *J. Thromb. Haemost.*, **9**(3), 450-456.
27. Kaikita K., Hosokawa K., Dahlen J.R., Tsujita K. (2019) *Thromb. Haemost.*, **119**(10), 1554-1562.

Поступила в редакцию: 13. 07. 2021.  
 После доработки: 30. 09. 2021.  
 Принята к печати: 04. 10. 2021.

**INTEGRAL TESTS OF THE HEMOSTASIS SYSTEM IN ASSESSING THE EFFICIENCY OF ACETYLSALICYLIC ACID IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE**

*O.S. Melnichnikova<sup>1\*</sup>, I.A. Nazarova<sup>1</sup>, O.V. Sirotkina<sup>1,2</sup>, A.V. Panov<sup>1</sup>,  
I.T. Abesadze<sup>1</sup>, M.Z. Alugishvili<sup>1</sup>, N.L. Likhovinnina<sup>1</sup>, T.V. Vavilova<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>V.A. Almazov National Medical Research Center,

2 Akkuratova str., St.Petersburg, 197341 Russia; \*e-mail: olga4403@gmail.com

<sup>2</sup>Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre “Kurchatov Institute”,  
2 Orlova Rostcha, St.Petersburg, Gatchina, 188350, Russia

Despite the fact that acetylsalicylic acid (ASA) is the “gold” standard for the prevention of cardiovascular complications in patients with coronary heart disease (CAD), a number of patients still have risks of atherothrombosis. In the present study, the antithrombotic effect of ASA in patients with CAD was assessed in platelet-rich plasma (PRP) using integral tests of the hemostasis study: the T-TAS system (Total Thrombus-formation Analysis System) and the thrombin generation test (TGT). The study involved 34 patients with stable CAD (11 women, 23 men) and people (15 women, 18 men) in the control group. As a result of assessing the activity of thrombus formation using the T-TAS system, a significant decrease in the area under the curve (AUC10) was found in the group with CAD patients compared with the control (135.6 [88.0-222.3] and 260.5 [217.3-301.9], respectively,  $p < 0.05$ ). The analysis of TGT in PRP has shown that patients, a decrease in the peak concentration of thrombin (PTh) and the rate of thrombin (VI) formation (100.5 [78.3-127.7] and 125.7 [118.7-161.5], nmol; 7.2 [4.7-11.1] and 14.9 [11.6-18.1], nmol/min,  $p < 0.01$ , respectively), lengthening the time parameters of the test with CAD compared with the control group. The number of patients with high platelet reactivity detected by T-TAS was higher than those detected by TGT (38.2% (n=13) and 20.8% (n=7), respectively). Correlation analysis revealed a relationship between an increase in VI with an increase in AUC10 according to T-TAS data in the group of CAD patients ( $r=0.37$ ;  $p=0.03$ ). As a result of the study, T-TAS and TGT in PRP have shown their effectiveness in assessing the antithrombotic properties of ASA in patients with CAD.

**Key words:** thrombin generation; thrombus formation under flow conditions; acetylsalicylic acid

**Funding.** This study was carried out as a part of the State Assignment (number: 121031100305-9).

Received: 13.07.2021, revised: 30.09.2021, accepted: 04.10.2021.