

# Изучение ассоциации нуклеотидных полиморфизмов в генах тромбоцитарных рецепторов и цитохрома P450 с развитием резистентности к антитромбоцитарным препаратам у пациентов с ишемической болезнью сердца

Семащенко К.С.<sup>1\*</sup>, Монгуш Т.С.<sup>2,3</sup>, Косинова А.А.<sup>2</sup>, Субботина Т.Н.<sup>1</sup>, Гринштейн Ю.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Сибирский федеральный университет, Красноярск, Россия

<sup>2</sup> Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия

<sup>3</sup> Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии, Красноярск, Россия

**Цель.** Изучить ассоциацию нуклеотидных полиморфизмов в генах тромбоцитарных рецепторов и цитохрома P450 с развитием резистентности к антитромбоцитарным препаратам у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС).

**Материал и методы.** В анализ включено 243 пациента с диагнозом ИБС после коронарного шунтирования (КШ), из них 140 пациентов в группе на терапии ацетилсалициловой кислотой (АСК) и 103 пациента – в группе на двойной антитромбоцитарной терапии (ДАТ). Всем пациентам проводилось исследование агрегации тромбоцитов на оптическом агрегометре с индукторами: АДФ 5 мМ и арахидоновой кислотой (АК) 1 мМ. С образцами ДНК была проведена аллель-специфичная ПЦР для выявления полиморфизмов rs2046934, rs1126643, rs5918, rs6065, rs4244285 в генах тромбоцитарных рецепторов и цитохрома P450.

**Результаты.** При сравнении распространенности изучаемых полиморфизмов в генах тромбоцитарных рецепторов и цитохрома P450 между группами чувствительных и резистентных к АСК пациентов, а также группами чувствительных и резистентных к клопидогрелу пациентов статистически значимых различий выявлено не было. Ассоциаций между носительством минорных и мажорных аллелей изученных полиморфизмов и развитием резистентности к антитромбоцитарным препаратам не обнаружено. В группе пациентов на терапии АСК носители аллели С полиморфизма T1565C (rs5918) *ITGB3* имели более высокий показатель АК-индуцированной агрегации тромбоцитов по сравнению с носителями аллели Т (18,49±25,92 против 10,43±17,34, p=0,004).

**Заключение.** Полиморфизмы генов *P2RY12* (rs2046934), *ITGA2* (rs1126643), *ITGB3* (rs5918), *GP1BA* (rs6065), *CYP2C19\*2* (rs4244285) не связаны с резистентностью к антитромбоцитарным препаратам как у пациентов на терапии АСК, так и на ДАТ. Наличие минорных аллелей полиморфизмов rs2046934, rs1126643, rs6065, rs4244285 не связано с повышенной агрегационной активностью тромбоцитов до КШ. Однако в группе пациентов на терапии АСК носители аллели С полиморфизма rs5918 гена *ITGB3* имели более высокий показатель АК-индуцированной агрегации тромбоцитов по сравнению с носителями аллели Т.

**Ключевые слова:** генетические полиморфизмы, резистентность, ацетилсалициловая кислота, rs2046934, rs1126643, rs5918, rs6065, rs4244285.

**Для цитирования:** Семащенко К.С., Монгуш Т.С., Косинова А.А., Субботина Т.Н., Гринштейн Ю.И. Изучение ассоциации нуклеотидных полиморфизмов в генах тромбоцитарных рецепторов и цитохрома P450 с развитием резистентности к антитромбоцитарным препаратам у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии* 2022;18(3):289-296. DOI:10.20996/1819-6446-2022-06-15.

## Study the Association of Nucleotide Polymorphisms in Platelet Receptor and Cytochrome P450 Genes with the Development of Resistance to Antiplatelet Drugs in Patients with Coronary Artery Disease

Semashchenko K.S.<sup>1\*</sup>, Mongush T.S.<sup>2,3</sup>, Kosinova A.A.<sup>2</sup>, Subbotina T.N.<sup>1</sup>, Grinshtein Y.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia

<sup>2</sup> Professor V.F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

<sup>3</sup> Federal Center for Cardiovascular Surgery, Krasnoyarsk, Russia

**Aim.** To study the association of nucleotide polymorphisms in platelet receptor and cytochrome P450 genes with the development of resistance to antiplatelet drugs in CHD patients.

**Material and Methods.** The study included 243 patients diagnosed with CHD after coronary artery bypass surgery (CABG), including 140 patients in the acetylsalicylic acid (ASA) treatment group and 103 patients in the dual antiplatelet therapy (DAT) group. All patients were tested for platelet aggregation using an optical aggregometer with inducers: 5 mM ADP and 1 mM arachidonic acid (AA). DNA samples were analyzed by allele-specific PCR for the presence of polymorphisms rs2046934, rs1126643, rs5918, rs6065, rs4244285 in the platelet receptor and cytochrome P450 genes.

**Results.** No statistically significant differences were found during comparison of the prevalence of the studied polymorphisms in the platelet receptor and cytochrome P450 genes between the groups of aspirin-sensitive and aspirin-resistant patients, as well as between the groups of clopidogrel-sensitive and clopidogrel-resistant patients. No association between carriage of the minor and major alleles of the polymorphisms studied and the development of antiplatelet drug resistance was found. In the group of patients on ASA therapy, carriers of the C allele of the T1565C (rs5918) *ITGB3* polymorphism had a higher rate of AA-induced platelet aggregation compared to carriers of the T allele (18,49±25,92 vs 10,43±17,34, p=0,004). **Conclusion.** Polymorphisms of *P2RY12* (rs2046934), *ITGA2* (rs1126643), *ITGB3* (rs5918), *GP1BA* (rs6065), *CYP2C19\*2* (rs4244285) genes are not associated with antiplatelet drug resistance in both patients on ASC therapy and on DAT. The presence of minor alleles of the rs2046934, rs1126643, rs6065, rs4244285 polymorphisms are not associated with increased platelet aggregation activity before CABG. However, in the group of patients on ASA therapy C-allele carriers of the rs5918 polymorphism of the *ITGB3* gene had a higher rate of AA-induced platelet aggregation compared to T-allele carriers.

**Keywords.** Genetic polymorphisms, resistance, acetylsalicylic acid, rs2046934, rs1126643, rs5918, rs6065, rs4244285.

**For citation:** Semashchenko K.S., Mongush T.S., Kosinova A.A., Subbotina T.N., Grinshtein Y.I. Study the Association of Nucleotide Polymorphisms in Platelet Receptor and Cytochrome P450 Genes with the Development of Resistance to Antiplatelet Drugs in Patients with Coronary Artery Disease. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology* 2022;18(3):289-296. DOI:10.20996/1819-6446-2022-06-15.

\*Corresponding Author (автор, ответственный за переписку): kseniya.semashchenko@mail.ru

Received/Поступила: 20.01.2022

Accepted/Принята в печать: 15.04.2022

## Введение

Заболевания системы кровообращения, в том числе – ишемическая болезнь сердца (ИБС) на протяжении многих лет возглавляют статистику смертности как в Российской Федерации, так и в большинстве стран мира [1].

Главный этиологический фактор развития ИБС – атеросклероз коронарных артерий с последующим атеротромбозом. Известно, что воспаление, развивающееся на фоне заболевания, вносит особый вклад в патогенез атеросклероза за счет рекрутирования и адгезии циркулирующих лейкоцитов к сосудистому эндотелию с последующим образованием тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов [2,3]. Повышенный уровень воспаления вследствие повышенной реактивности тромбоцитов может приводить к недостаточному ответу тромбоцитов на ацетилсалициловую кислоту (АСК) у пациентов с ИБС, что снижает эффективность вторичной профилактики и повышает риск кардиоваскулярных событий [2,3].

Определенной группе пациентов с ИБС по показаниям назначается двойная антитромбоцитарная терапия (ДАТ) – комбинация АСК и ингибитора тиенопиридина P2Y<sub>12</sub> – клопидогрела. Одновременный прием данных препаратов приводит к взаимному усилению их действия за счет ингибирования разных путей индукции агрегации тромбоцитов: тромбоксан A<sub>2</sub>-зависимого и АДФ-зависимого [4]. Однако даже на фоне ДАТ у некоторых пациентов сохраняется высокая агрегация тромбоцитов, что может повышать риск развития тромботических осложнений после хирургического вмешательства.

На развитие резистентности к антитромбоцитарным препаратам могут влиять полиморфизмы в генах основных тромбоцитарных рецепторов, которые играют роль в процессах адгезии, активации и агрегации тромбоцитов: ген АДФ-рецептора тромбоцитов *P2RY12* (H1/H2, rs2046934), ген рецептора к коллагену *ITGA2* (C807T, rs1126643), ген рецептора к фибриногену *ITGB3* (T1565C, rs5918), ген тромбоцитарного рецептора фактора Виллебранда *GP1BA* (C482T, rs6065) и ген цитохрома P450 *CYP2C19\*2* (G681A, rs4244285). Изучение данных генов является важным для практики, поскольку наличие описанных выше полиморфизмов

приводит к повышению агрегационной активности тромбоцитов, а это, в свою очередь, ведет к повышенному риску тромбообразования, воспаления, тем самым способствуя развитию резистентности к антитромбоцитарным препаратам [5].

Цель исследования – изучить ассоциацию нуклеотидных полиморфизмов в генах тромбоцитарных рецепторов и цитохрома P450 с развитием резистентности к антитромбоцитарным препаратам у пациентов с ИБС.

## Материал и методы

В анализ с 2014 по 2021 гг. было включено 243 пациента с диагнозом ИБС, стабильная стенокардия II-IV функционального класса (ФК) согласно Канадской классификации, поступивших на лечение в ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии» (г. Красноярск).

Критерии включения: стабильная стенокардия II-IV ФК, атеросклероз коронарных артерий (КА), подтвержденный результатами коронарографии, подписанное информированное согласие. Критерии исключения: почечная недостаточность (скорость клубочковой фильтрации < 60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup> по СКД-EPI), язвенная болезнь желудка и/или двенадцатиперстной кишки в стадии обострения, непереносимость АСК и/или клопидогрела.

Всем пациентам было выполнено коронарное шунтирование (КШ), из них у 183 (75,3%) – с искусственным кровообращением, и у 60 (24,7%) – на работающем сердце. Пациенты были разделены на две группы: 140 пациентов вошли в группу на терапии АСК после КШ и 103 пациента – в группу ДАТ (АСК+клопидогрел) после КШ. Пациенты, получавшие до включения в исследование АСК, продолжили ее прием после КШ (группа АСК). ДАТ получали пациенты, у которых с момента острого коронарного синдрома (в анамнезе) не прошло 12 мес. За 5 дней до КШ больные прекращали получать антиагреганты, с первого дня после операции назначалось 100 мг/сут АСК, пациентам с ДАТ клопидогрел добавлялся к АСК на 2-3 сут (группа ДАТ).

Исследование было выполнено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики и

принципами Хельсинской декларации. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого. Пациентами было подписано информированное согласие об участии в исследовании.

Всем пациентам при поступлении на фоне отмены антиагрегантов проводилось исследование агрегации тромбоцитов на оптическом агрегометре Chronolog 490 (США) с индукторами: АДФ 5 мМ и арахидоновой кислотой (АК) 1 мМ. Резистентность к АСК определялась при уровне агрегации тромбоцитов >20% после инкубации, обогащенной тромбоцитами плазмы с АСК и индукции с АК. Резистентность к клопидогрелу определялась как отношение изменения максимальной интенсивности агрегации тромбоцитов под действием 5 мМ АДФ по отношению к исходному значению (на фоне отмены клопидогрела минимум за 5 сут до КШ):

$$\text{Резистентность} = \frac{\text{Амплитуда агрегации исходная} - \text{амплитуда агрегации на 10 сут}}{\text{Амплитуда агрегации исходная}} \times 100\%$$

При значениях <29% пациенты определялись как резистентные к терапии клопидогрелом [6].

Для анализа полиморфизмов rs5819 гена *ITGB3*, rs6065 гена *GP1BA*, rs4244285 гена *CYP2C19\*2*, rs1126643 гена *ITGA2*, rs2046934 гена *P2RY12* использовалась геномная ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной крови с использованием комплекта реагентов «ДНК-экспресс-кровь» (НПФ Литех). Далее с образцами выделенной ДНК была проведена ПЦР с использованием комплектов реагентов для амплификации «SNP-экспресс-РВ» (НПФ Литех) с детекцией результатов в режиме реального времени, а также «SNP-экспресс» (НПФ Литех) с электрофоретической детекцией продуктов амплификации.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0 (Statsoft Inc., США). Статистические расчеты количественных показателей включали в себя описательные статистики: среднее значение (M) и стандартное отклонение (SD), или медиана (Me) и межквартильный диапазон (25%; 75%). Проверка нормальности распределения значений проводилась с использованием критерия Колмогорова-Смирнова. Для сравнения средних значений двух независимых выборок при несоответствии нормальному закону распределения применялся критерий Манна-Уитни. Для качественных показателей вычислялись следующие показатели: число наблюдений и доля (в %) от общего количества пациентов или от количества пациентов в соответствующей подгруппе. Для категориальных переменных применяли  $\chi^2$ -тест, а также точный критерий Фишера. Соответствие распределения генотипов закону Харди-Вайнберга

оценивали при помощи точного теста Фишера с использованием портала Мюнхенского института человека генетики (<https://ihg.helmholtz-muenchen.de>), а также критерия  $\chi^2$  Пирсона. Для оценки риска развития резистентности при наличии минорной аллели изучаемых полиморфизмов производили оценку отношения шансов. Значения считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты

В анализ было включено 243 пациента, из них 49 (20,2%) женщин и 194 (79,8%) мужчины, средний возраст  $63,4 \pm 7,2$  лет. Различий по клинико-анамнестическим характеристикам среди пациентов двух групп не было, кроме наличия постинфарктного кардиосклероза (табл. 1).

Резистентность к АСК выявлена у 12,8% пациентов до КШ в группе, получавших только АСК в послеоперационном периоде, резистентность к клопидогрелу – у 25,6% пациентов с ДАТ. В ходе генетического анализа нуклеотидных полиморфизмов rs2046934 гена *P2RY12*, rs1126643 гена *ITGA2*, rs5819 гена *ITGB3*, rs6065 гена *GP1BA*, rs4244285 гена *CYP2C19\*2* была изучена распространенность разных вариантов у АСК-чувствительных (АЧ) и АСК-резистентных (АР) пациентов (табл. 2), а также у чувствительных (КЧ) или резистентных (КР) к клопидогрелу пациентов (табл. 3). Статистически значимых различий между этими группами по всем анализируемым полиморфизмам не было выявлено. При оценке ассоциаций носительства минорных и мажорных аллелей изучаемых полиморфизмов генов тромбоцитарных рецепторов и цитохрома P450 с развитием резистентности к антитромбоцитарным препаратам по каждому полиморфизму в группах на терапии АСК и ДАТ не было выявлено статистически значимых различий.

**Table 1. Clinical and demographic characteristics of patients in the studied groups**

**Таблица 1. Клинико-демографическая характеристика пациентов изучаемых групп**

Характеристика	Группа АСК (n=140)	Группа ДАТ (n=103)	p
Возраст, лет	58,0 (54,5; 62,5)	65,0 (57,5; 68,0)	0,205
Курение, %	31,5	31,1	0,768
Стабильная стенокардия, %			
II ФК	51,4	52,9	0,799
III ФК	34,2	39,5	0,378
Сахарный диабет, %	19,9	21,8	0,692
ИМ в анамнезе, %	54,1	81,5	<0,001
Ожирение, %	28,1	34,5	0,265
Данные представлены в виде Me (25%; 75%), если не указано иное			
АСК – ацетилсалициловая кислота, ДАТ – двойная антитромбоцитарная терапия, ФК – функциональный класс, ИМ – инфаркт миокарда			

**Table 2. The prevalence of allelic variants of the studied polymorphisms in ASA-sensitive and ASA-resistant patients with coronary artery disease taking ASA**

**Таблица 2. Распространенность аллельных вариантов изучаемых полиморфизмов у АСК-чувствительных и АСК-резистентных пациентов с ИБС на фоне приема АСК**

Полиморфизм/ Ген	Варианты генотипа	АР (n=18)	АЧ (n=122)	ОШ (95% ДИ)	p
H1/H2 (rs2046934) / P2RY12, n (%)	H1/H1	14 (77,8)	100 (82,0)	1,29 (0,39-4,33)	0,750
	H1/H2	3 (16,6)	17 (13,9)		
	H2/H2	1 (5,6)	5 (4,1)		
C807T (rs1126643) / ITGA2, n (%)	C/C	10 (55,6)	43 (35,3)	0,44 (0,16-1,19)	0,090
	C/T	3 (16,6)	52 (42,6)		
	T/T	5 (27,8)	27 (22,1)		
T1565C (rs5918) / ITGB3, n (%)	T/T	11 (61,1)	88 (72,1)	1,65 (0,59-4,60)	0,340
	T/C	6 (33,3)	33 (27,1)		
	C/C	1 (5,6)	1 (0,8)		
C482T (rs6065) / GPIBA, n (%)	C/C	14 (77,8)	96 (78,7)	1,05 (0,32-3,48)	1,000
	C/T	3 (16,6)	26 (21,3)		
	T/T	1 (5,6)	0		
G681A (rs4244285) / CYP2C19*2, n (%)	G/G	15 (83,3)	88 (72,1)	0,52 (0,14-1,90)	0,400
	G/A	3 (16,7)	31 (25,4)		
	A/A	0	3 (2,5)		

АР – АСК-резистентные, АЧ – АСК-чувствительные, ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал, АСК – ацетилсалициловая кислота

**Table 3. The prevalence of allelic variants of the studied polymorphisms in clopidogrel-sensitive and clopidogrel-resistant patients receiving dual antiplatelet therapy**

**Таблица 3. Распространенность аллельных вариантов изучаемых полиморфизмов у КЧ и КР пациентов на ДАТ**

Полиморфизм/ Ген	Варианты генотипа	КР (n=21)	КЧ (n=82)	ОШ (95% ДИ)	p
H1/H2 (rs2046934) / P2RY12, n (%)	H1/H1	17 (81,0)	62 (75,6)	0,73 (0,22-2,42)	0,780
	H1/H2	3 (14,2)	15 (18,3)		
	H2/H2	1 (4,8)	5 (6,1)		
C807T (rs1126643) / ITGA2, n (%)	C/C	9 (42,9)	26 (31,7)	0,62 (0,23-1,65)	0,340
	C/T	9 (42,9)	30 (36,6)		
	T/T	3 (14,2)	26 (31,7)		
T1565C (rs5918) / ITGB3, n (%)	T/T	14 (66,7)	55 (67,1)	1,02 (0,37-2,82)	0,970
	T/C	7 (33,3)	25 (30,5)		
	C/C	0	2 (2,4)		
C482T (rs6065) / GPIBA, n (%)	C/C	15 (71,4)	61 (74,4)	1,16 (0,39-3,38)	0,780
	C/T	6 (28,6)	17 (20,7)		
	T/T	0	4 (4,9)		
G681A (rs4244285) / CYP2C19*2, n (%)	G/G	16 (76,2)	67 (81,7)	1,39 (0,44-4,41)	0,550
	G/A	4 (19,0)	15 (18,3)		
	A/A	1 (4,8)	0		

КР – клопидогрел-резистентные, КЧ – клопидогрел-чувствительные, ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал

Распределение частот аллелей и генотипов в изученных генах тромбоцитарных рецепторов и цитохрома P450 у АР и АЧ пациентов на терапии АСК проверено на соответствие равновесию Харди-Вайнберга (табл. 4). Выявлено, что в группе АР пациентов распределение генотипа полиморфизма rs1126643 гена *ITGA2* ( $\chi^2=7,35$ ;  $p=0,009$ ) имеет отклонение от канонического распределения. Для генотипов полиморфизмов rs2046934 гена *P2RY12*, rs5819 гена *ITGB3*, rs6065 гена *GPIBA*, rs4244285 гена *CYP2C19\*2* отклонения от распределения Харди-Вайнберга не выявлено. В группе АЧ пациентов распределение генотипа полиморфизма rs2046934 гена *P2RY12* ( $\chi^2=10,40$ ;  $p=0,001$ ) имеет отклонение от равновесия Харди-

Вайнберга. Для генотипов полиморфизмов rs1126643 гена *ITGA2*, rs5819 гена *ITGB3*, rs6065 гена *GPIBA*, rs4244285 гена *CYP2C19\*2* отклонений от распределения Харди-Вайнберга не выявлено.

При изучении распределения частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов на соответствие закону Харди-Вайнберга в группе КР и КЧ пациентов на ДАТ определено соответствие каноническому распределению по 4 из 5 изучаемых полиморфизмов (табл. 5). Однако распределение генотипов полиморфизма rs1126643 гена *ITGA2* ( $\chi^2=5,90$ ;  $p=0,01$ ) имело отклонение от равновесия Харди-Вайнберга.

При сравнении агрегационных свойств тромбоцитов в группе пациентов с ИБС при приеме АСК до КШ

**Table 4. The results of the analysis of the consistency of genotypes with the Hardy-Weinberg law in the groups of ASA-sensitive and ASA-resistant patients while taking ASA**

**Таблица 4. Результаты анализа согласованности генотипов с законом Харди-Вайнберга в группе AP и АЧ пациентов на фоне приема АСК**

Полиморфизм / Ген	Варианты генотипа	AP (n=18)			АЧ (n=122)			
		n (%)	Частота аллели	p	n (%)	Частота аллели	p	
H1/H2 (rs2046934) / P2RY12	H1/H1	14 (13,4)	H1=0,86 H2=0,14	$\chi^2=1,66$ ; $p=0,27$	100 (96,5)	H1=0,89 H2=0,11	$\chi^2=10,40$ ; $p=0,001$	
	H1/H2	3 (4,2)						17 (24,0)
	H2/H2	1 (0,4)						5 (1,5)
C807T (rs1126643) / ITGA2	C/C	10 (7,4)	C=0,64 T=0,36	$\chi^2=7,35$ ; $p=0,009$	43 (39,0)	C=0,57 T=0,43	$\chi^2=2,15$ ; $p=0,14$	
	C/T	3 (8,2)						52 (60,0)
	T/T	5 (2,4)						27 (23,0)
T1565C (rs5918) / ITGB3	T/T	11 (10,9)	T=0,78 C=0,22	$\chi^2=0,02$ ; $p=1,00$	88 (89,5)	T=0,86 C=0,14	$\chi^2=1,24$ ; $p=0,46$	
	T/C	6 (6,2)						33 (30,0)
	C/C	1 (0,9)						1 (2,5)
C482T (rs6065) / GPIBA	C/C	14 (13,4)	C=0,86 T=0,14	$\chi^2=1,66$ ; $p=0,27$	96 (97,4)	C=0,89 T=0,11	$\chi^2=1,74$ ; $p=0,36$	
	C/T	3 (4,2)						26 (23,2)
	T/T	1 (0,4)						0 (1,4)
G681A (rs4244285) / CYP2C19*2	G/G	15 (15,1)	G=0,92 A=0,08	$\chi^2=0,15$ ; $p=1,00$	88 (87,8)	G=0,85 A=0,15	$\chi^2=0,02$ ; $p=1,00$	
	G/A	3 (2,8)						31 (31,4)
	A/A	0 (0,1)						3 (2,8)

КР – клопидогрел-резистентные, КЧ – клопидогрел-чувствительные, ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал

**Table 5. The results of the analysis of the consistency of genotypes with the Hardy-Weinberg law in the group of clopidogrel-sensitive and clopidogrel-resistant patients receiving dual antiplatelet therapy**

**Таблица 5. Результаты анализа согласованности генотипов с законом Харди-Вайнберга в группе КР и КЧ пациентов на фоне приема ДАТ**

Полиморфизм / Ген	Варианты генотипа	КР (n=21)			КЧ (n=82)			
		n (%)	Частота аллели	p	n (%)	Частота аллели	p	
H1/H2 (rs2046934) / P2RY12	H1/H1	17 (16,3)	H1=0,88 H2=0,12	$\chi^2=2,14$ ; $p=0,23$	62 (58,9)	H1=0,85 H2=0,15	$\chi^2=6,99$ ; $p=0,08$	
	H1/H2	3 (4,4)						15 (21,2)
	H2/H2	1 (0,3)						5 (1,9)
C807T (rs1126643) / ITGA2	C/C	9 (8,7)	C=0,64 T=0,36	$\chi^2=0,09$ ; $p=1,00$	26 (20,5)	C=0,50 T=0,50	$\chi^2=5,90$ ; $p=0,01$	
	C/T	9 (9,6)						30 (41,0)
	T/T	3 (2,7)						26 (20,5)
T1565C (rs5918) / ITGB3	T/T	14 (14,6)	T=0,83 C=0,17	$\chi^2=0,84$ ; $p=1,00$	55 (55,6)	T=0,82 C=0,18	$\chi^2=0,18$ ; $p=1,00$	
	T/C	7 (5,8)						25 (23,9)
	C/C	0 (0,6)						2 (2,5)
C482T (rs6065) / GPIBA	C/C	15 (15,4)	C=0,86 T=0,14	$\chi^2=0,58$ ; $p=1,00$	61 (58,9)	C=0,85 T=0,15	$\chi^2=3,21$ ; $p=0,08$	
	C/T	6 (5,2)						17 (21,2)
	T/T	0 (0,4)						4 (1,9)
G681A (rs4244285) / CYP2C19*2	G/G	16 (15,4)	G=0,86 A=0,14	$\chi^2=1,04$ ; $p=0,34$	67 (67,7)	G=0,91 A=0,09	$\chi^2=0,83$ ; $p=1,00$	
	G/A	4 (5,2)						15 (13,6)
	A/A	1 (0,4)						0 (0,7)

КР – клопидогрел-резистентные, КЧ – клопидогрел-чувствительные, ОШ – отношение шансов, ДИ – доверительный интервал

среди носителей минорных аллелей и гомозигот по частой аллели по 4 из 5 изучаемых полиморфизмов статистически значимых отличий выявлено не было (табл. 6). Однако были выявлены статистически значимые различия при сравнении АК-индуцированной агрегации тромбоцитов среди носителей мажорной и минорной аллелей полиморфизма T1565C (rs5918) ITGB3: носители минорной аллели С имели более высокий показатель агрегации тромбоцитов по сравнению с носителями распространенной аллели Т.

При сравнении агрегационных свойств тромбоцитов в группе пациентов с ИБС на ДАТ до КШ среди носителей минорных аллелей и гомозигот по частой аллели по всем изучаемым полиморфизмам статистически значимых отличий выявлено не было (табл. 7).

### Обсуждение

По литературным данным среди пациентов с ИБС жителей Западно-Сибирского региона распространенность разных вариантов генотипов полиморфизма

**Table 6. Comparison of platelet aggregation activity in carriers of minor and major alleles of the studied polymorphisms in the group of patients treated with acetylsalicylic acid before coronary bypass surgery**

**Таблица 6. Сравнение агрегационной активности тромбоцитов у носителей минорной и мажорной аллелей изучаемых полиморфизмов в группе пациентов на терапии АСК до КШ**

Полиморфизм / Ген	Генотип	n	АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов, (%)	p	АК-индуцированная агрегация тромбоцитов, (%)	p
H1/H2 (rs2046934) / P2RY12	H1/H1	113	50,6±17,9	0,290	12,8±20,8	0,610
	H1/H2+H2/H2	26	54,1±25,0		12,9±19,4	
C807T (rs1126643) / ITGA2	C/C	52	50,7±21,2	0,690	16,1±25,3	0,470
	C/T+T/T	87	51,5±18,4		10,8±16,9	
T1565C (rs5918) / ITGB3	T/T	98	50,6±20,0	0,500	10,4±17,3	0,004
	T/C+C/C	41	52,8±18,0		18,5±25,9	
C482T (rs6065) / GPIBA	C/C	109	52,2±19,0	0,420	11,4±16,9	0,220
	C/T+T/T	30	47,8±20,6		18,1±30,0	
G681A (rs4244285) / CYP2C19*2	G/G	102	51,1±19,1	0,910	14,5±22,7	0,050
	G/A+A/A	37	51,7±20,3		8,2±11,8	

Данные представлены в виде M±SD, если не указано иное  
 АСК – ацетилсалициловая кислота, КШ – коронарное шунтирование, АДФ – аденозиндифосфат, АК – арахидоновая кислота

**Table 7. Comparison of platelet aggregation activity in carriers of the minor and major alleles of the studied polymorphisms in the group of patients receiving dual antiplatelet therapy before coronary bypass surgery**

**Таблица 7. Сравнение агрегационной активности тромбоцитов у носителей минорной и мажорной аллелей изучаемых полиморфизмов в группе пациентов на ДАТ до КШ**

Полиморфизм / Ген	Генотип	n	АДФ-индуцированная агрегация тромбоцитов, (%)	p	АК-индуцированная агрегация тромбоцитов, (%)	p
H1/H2 (rs2046934) / P2RY12	H1/H1	74	53,0±21,9	0,77	13,1±17,8	0,59
	H1/H2+H2/H2	20	55,5±17,6		9,5±6,7	
C807T (rs1126643) / ITGA2	C/C	30	56,2±21,2	0,47	9,5±9,1	0,64
	C/T+T/T	64	52,3±21,0		13,7±18,5	
T1565C (rs5918) / ITGB3	T/T	61	53,7±20,0	0,98	12,4±16,2	0,79
	T/C+C/C	33	53,1±23,2		12,2±16,3	
C482T (rs6065) / GPIBA	C/C	70	54,5±20,8	0,49	12,5±15,5	0,73
	C/T+T/T	24	50,9±21,9		11,8±18,4	
G681A (rs4244285) / CYP2C19*2	G/G	75	53,0±21,9	0,24	12,9±17,6	0,61
	G/A+A/A	19	50,0±27,7		10,0±7,8	

Данные представлены в виде M±SD, если не указано иное  
 ДАТ – двойная антитромбоцитарная терапия, КШ – коронарное шунтирование, АДФ – аденозиндифосфат, АК – арахидоновая кислота

rs2046934 гена *P2RY12* составила – H1/H1 – 75,9%, H1/H2 – 22,9%, H2/H2 – 1,2%, полиморфизма rs5918 гена *ITGB3* – TT – 62%, TC – 36,2%, CC – 1,8%, полиморфизма rs4244285 гена *CYP2C19\*2* – GG – 74,7%, GA – 23,5%, AA – 1,8% [7,8]. Распространенность генотипов CC, CT, TT полиморфизма rs1126643 гена *ITGA2* среди пациентов со стабильной стенокардией напряжения составила 30,4%, 50% и 19,6%, соответственно [9]. Среди пациентов, перенесших инфаркт миокарда после 45 лет, распространенность разных вариантов генотипов полиморфизма rs6065 гена *GPIBA* составила: CC – 85%, CT+TT – 19,5% [10]. Полученные нами результаты сопоставимы с литературными данными.

Согласно имеющимся исследованиям минорные аллели изучаемых нами полиморфизмов ассоциируют с повышением уровня агрегации тромбоцитов, раз-

витиём ИБС и резистентности к антиагрегантам, однако информация разноречива. Так, например, считается, что нуклеотидная замена C807T (rs1126643) гена *ITGA2* приводит к увеличению количества рецепторов на поверхности тромбоцита, способствуя повышению агрегационной активности тромбоцитов и, как следствие, к высокому риску тромбообразования [11]. Между тем в других исследованиях было показано, что минорная аллель T не связана с высоким риском развития ИБС, а увеличение количества рецепторов GPIa/IIa не приводит к возрастанию тромботического риска [12]. Кроме того, сообщалось о возможном влиянии аллели T на резистентность к АСК [13], однако в нашем исследовании это не подтвердилось.

Полиморфный вариант C482T (rs6065) гена *GPIBA* может влиять на взаимодействие рецептора с фактором Виллебранда, тем самым способствуя тромбообразо-

ванию. Считается, что присутствие полиморфного варианта ассоциировано с риском развития инфаркта миокарда, ИБС [10], а также с развитием резистентности к АСК [14]. Однако в исследовании W. Renner и соавт. [15] ассоциаций данного варианта полиморфизма с ИБС не выявлено.

В исследовании Papp с соавт. [16] была показана ассоциация между гомозиготным генотипом по редкой аллели С полиморфизма T1565C (rs5918) гена *ITGB3* и устойчивостью к антиагрегантам. Однако в работе W. Zhang и соавт. показано, что полиморфизм rs5918 не ассоциирован с резистентностью к АСК в китайской популяции [17], а также с резистентностью к клопидогрелу у жителей Западно-Сибирского региона [7].

Помимо этого, предполагается, что носительство гаплотипа H2 полиморфизма rs2046934 гена *P2RY12* ассоциировано с повышенной агрегацией тромбоцитов в ответ на АДФ, а это может приводить к снижению ответу на действие антиагрегантов [18, 19]. Тем не менее, в настоящее время нет доказательств, подтверждающих подобную ассоциацию.

Полиморфизм G681A (rs4244285) в гене *CYP2C19* является одним из наиболее важных и изученных механизмов резистентности к клопидогрелу, так как именно *CYP2C19* играет главную роль в трансформации пролекарства [20]. Считается, что минорная аллель А полиморфизма rs4244285 приводит к сдвигу рамки считывания мРНК, в результате чего синтезируется измененный белок с низкой ферментативной активностью. Все это приводит к снижению антиагрегантному эффекту клопидогрела, а значит, и к высокому риску тромботических событий. Сообщалось о возможном влиянии аллели А на резистентность к клопидогрелу [7], однако в нашем исследовании это также не подтвердилось.

Противоречивые данные разных авторов могут быть обусловлены отсутствием стандартизации методов лабораторной диагностики агрегации тромбоцитов, что уменьшает шансы выявить генетическую связь.

В нашем исследовании в группе пациентов на терапии АСК до КШ носители минорной аллели С полиморфизма T1565C (rs5918) *ITGB3* имели более высокий показатель АК-индуцированной агрегации тромбоцитов по сравнению с носителями распространенной аллели Т. Нуклеотидная замена T176C гена *ITGB3* приводит к изменению аминокислоты лейцина

в положении 33 на пролин. Тромбоциты, несущие субъединицу  $\beta 3$  интегрин  $\alpha IIb\beta 3$  с пролином вместо лейцина в положении 33, имеют более низкий порог активации различными агонистами, при этом наблюдается перестройка цитоскелета тромбоцитов, а также усиление сигнальных функций комплекса IIb-IIIa. Поэтому носители минорной аллели С полиморфизма T1565C (rs5918) гена *ITGB3* обладают повышенным риском тромбообразования с такими последствиями, как инсульт и инфаркт миокарда [21, 22].

## Ограничения исследования

При интерпретации данных исследования следует учитывать его моноцентровый характер, а также небольшой размер выборки, что могло оказать влияние на мощность полученных результатов.

## Заключение

Полиморфизмы генов *P2RY12* (rs2046934), *ITGA2* (rs1126643), *ITGB3* (rs5918), *GP1BA* (rs6065), *CYP2C19\*2* (rs4244285) не ассоциированы с резистентностью к антитромбоцитарным препаратам как у пациентов на терапии АСК, так и при ДАТ. Кроме того, наличие минорных аллелей полиморфизмов rs2046934, rs1126643, rs6065, rs4244285 не связано с повышенной агрегационной активностью тромбоцитов до коронарного шунтирования. Однако в группе пациентов на терапии АСК носители минорной аллели С полиморфизма rs5918 гена *ITGB3* имели более высокий показатель АК-индуцированной агрегации тромбоцитов по сравнению с носителями распространенной аллели Т, что может приводить к активному тромбообразованию даже на фоне приема АСК.

**Отношения и Деятельность.** Нет.

**Relationships and Activities.** None.

**Финансирование.** Исследование проведено при поддержке Сибирского федерального университета, Красноярского государственного медицинского университета им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Федерального центра сердечно-сосудистой хирургии.

**Funding.** The study was performed with the support of the Siberian Federal University, Professor V.F. Voino-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Federal Center for Cardiovascular Surgery.

## References / Литература

1. Boytsov SA, Zayratians OV, Andreev EM, et al. Comparison of coronary heart disease mortality in men and women age 50 years and older in Russia and USA. *Russian Journal of Cardiology*. 2017;6(146):100-7 (In Russ.) [Бойцов С.А., Зайратьянц О.В., Андреев Е.М., и др. Сравнение показателей смертности от ишемической болезни сердца среди мужчин и женщин старше 50 лет в России и США. *Российский Кардиологический Журнал*. 2017;6(146):100-7]. DOI:10.15829/1560-4071-2017-6-100-107.
2. Shilov AM. Acetylsalicylic acid – antiplatelet drug for prevention and treatment of cardiovascular diseases. *Difficult Patient*. 2013;11(4):3-8 (In Russ.) [Шилов А.М. Ацетилсалициловая кислота – антиагрегант для профилактики и лечения сердечно-сосудистых заболеваний. *Трудный Пациент*. 2013;11(4):3-8].
3. McCullough PA, Vasudevan A, Sathyamoorthy M, et al. Urinary 11-Dehydro-Thromboxane B2 and Mortality in Patients With Stable Coronary Artery Disease. *Am J Cardiol*. 2017;119(7):972-7. DOI:10.1016/j.amjcard.2016.12.004.
4. Steg PG, James SK, Atar D, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2012;33(20):2569-619. DOI:10.1093/eurheartj/ehs215
5. Grinshtein Yul, Kosinova AA, Grinshtein IYu. Aspirin resistance candidate genes and their association with the risk of cardiovascular events. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2013;12(1):67-72 (In Russ.) [Гринштейн Ю.И., Косинова А.А., Гринштейн И.Ю. Гены-кандидаты резистентности к ацетилсалициловой кислоте и их связь с риском развития сердечно-сосудистых катастроф. *Кардиоваскулярная Терапия и Профилактика*. 2013;12(1):67-72]. DOI:10.15829/1728-8800-2013-1-67-72.
6. Sulimov VA, Moroz EV. Resistance to antiplatelet drugs (aspirin, clopidogrel) in patients undergoing elective percutaneous coronary intervention. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2012;8(1):23-30 (In Russ.) [Сулимов В.А., Мороз Е.В. Резистентность к антиромбоцитарным препаратам (аспирину, клопидогрелу) у пациентов, подвергающихся элективному стентированию коронарных артерий. *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. 2012;8(1):23-30]. DOI:10.20996/1819-6446-2012-8-1-23-30.
7. Muslimova EF, Afanasiev SA, Rebroya TYu, et al. Association of ITGB3, P2RY12, and CYP2C19 gene polymorphisms with platelet functional activity in patients with coronary heart disease during dual antiplatelet therapy. *Ter Arkhiv*. 2017;89(5):74-8 (In Russ.) [Муслимова Э.Ф., Афанасьев С.А., Реброва Т.Ю., и др. Ассоциация полиморфизмов генов ITGB3, P2RY12, CYP2C19 с функциональной активностью тромбоцитов у пациентов с ишемической болезнью сердца на фоне двухкомпонентной антиагрегантной терапии. *Терапевтический Архив*. 2017;89(5):74-8]. DOI:10.17116/ter-arkh201789574-78.
8. Mirzaev KB, Sychev DA, Andreev DA, et al. The significance of pharmacogenetic CYP2C19 testing for personalization of the antiplatelet therapy in cardiology practice. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2013;9(4):404-8 (In Russ.) [Мирзаев К.Б., Сычев Д.А., Андреев А.Б., и др. Значение фармакогенетического тестирования по CYP2C19 для персонализации применения антиагрегантов в кардиологической практике. *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. 2013;9(4):404-8]. DOI:10.20996/1819-6446-2013-9-4-404-408.
9. Pronko TP, Snezhitskiy VA, Gorchakova OV, et al. Clinical and genetic factors associated with the risk of recurrent ischemic events in patients with stable stenocardia. *Regional Blood Circulation and Microcirculation*. 2021;20(3):18-27 (In Russ.) [Пронько Т.П., Снежицкий В.А., Горчакова О.В., и др. Клинические и генетические факторы, ассоциированные с риском повторных ишемических событий у пациентов со стабильной стенокардией напряжения. *Регионарное Кровообращение и Микроциркуляция*. 2021;20(3):18-27]. DOI:10.24884/1682-6655-2021-20-3-18-27.
10. Pina-Cabral LB, Carvalhais V, Mesquita B, et al. Myocardial infarction before and after the age of 45: Possible role of platelet receptor polymorphisms. *Revista Portuguesa de Cardiologia*. 2018;37(9):727-35. DOI:10.1016/j.repc.2018.03.015.
11. Wu G, Xi Y, Yao L, et al. Genetic polymorphism of ITGA2 C807T can increase the risk of ischemic stroke. *International Journal of Neuroscience*. 2014;124(11):841-51. DOI:10.3109/00207454.2013.879718.
12. Tsantes AE, Nikolopoulos GK, Bagos PG, et al. Lack of association between the platelet glycoprotein la C807T gene polymorphism and coronary artery disease: a meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2007;118(2):189-96. DOI:10.1016/j.ijcard.2006.06.047.
13. Ferreira M, Freitas-Silva M, Assis J, et al. The emergent phenomenon of aspirin resistance: insights from genetic association studies. *Pharmacogenomics*. 2020;21(2):125-40. DOI:10.2217/pgs-2019-0133.
14. Fujiwara T, Ikeda M, Esumi K, et al. Exploratory aspirin resistance trial in healthy Japanese volunteers (J-ART) using platelet aggregation as a measure of thrombogenicity. *The Pharmacogenomics J*. 2007;7(6):395-403. DOI:10.1038/sj.tpj.6500435.
15. Renner W, Brodmann M, Winkler M, et al. The PA1/A2 Polymorphism of Platelet Glycoprotein IIIa Is not Associated with Peripheral Arterial Disease. *Thrombosis and Haemostasis*. 2001;85(4):745-6. DOI:10.1055/s-0037-1615664.
16. Papp E, Havasi V, Bene J, et al. Glycoprotein IIIa gene (PIA) polymorphism and aspirin resistance: Is there any correlation? *Ann Pharmacother*. 2005;39(6):1013-8. DOI:10.1345/aph.1E227.
17. Zhang W, Hou H, Zhao H, et al. Correlations of P2Y1 and ITGB3 polymorphisms with aspirin resistance in patients with large artery atherosclerotic stroke. *International Journal of Cerebrovascular Diseases*. 2017;25(11):1018-22. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4165.2017.11.010.
18. Fontana P, Dupont A, Gandrille S, et al. Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation is associated with P2Y12 gene sequence variations in healthy subjects. *Circulation*. 2003;108(8):989-95. DOI:10.1161/01.CIR.0000085073.69189.88.
19. Aynetdinova DH, Udovichenko AE, Sulimov VA. Resistance to antiplatelet drugs in patients with ischemic heart disease. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2007;3(3):52-9 (In Russ.) [Айнетдинова Д.Х., Удовиченко А.Е., Сулимов В.А. Резистентность к антиромбоцитарным препаратам у больных ишемической болезнью сердца. *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. 2007;3(3):52-9]. DOI:10.20996/1819-6446-2007-3-3-52-59.
20. Liu R, Zhou ZY, Chen YB, et al. Associations of CYP3A4, NR112, CYP2C19 and P2RY12 polymorphisms with clopidogrel resistance in Chinese patients with ischemic stroke. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2016;37(7):882-8. DOI:10.1038/aps.2016.41.
21. Vasilyeva OV, Polonilov VP, Ivanov MA, et al. Molecular genetic aspects of cardiovascular and cerebrovascular diseases (review). *Kliniko-Laboratornyj Konsilium*. 2009;(4):56-9 (In Russ.) [Васильева О.В., Полонников А.В., Иванов М.А., и др. Молекулярно-генетические аспекты кардиоваскулярных и цереброваскулярных заболеваний. *Клинико-лабораторный Консилиум*. 2009;(4):56-9].
22. Khatami M, Heidari MM, Soheilyfar S. Common rs5918 (PIA1/A2) polymorphism in the ITGB3 gene and risk of coronary artery disease. *Arch Med Sci Atheroscler Dis*. 2016;1(1):e9-e15. DOI:10.5114/amsad.2016.59587.

### About the Authors / Сведения об Авторах:

**Семашенко Ксения Сергеевна** [Ksenia S. Semashchenko]  
eLibrary SPIN 3326-7769, ORCID 0000-0002-8735-2716

**Монгуш Таира Семеновна** [Taira S. Mongush]  
eLibrary SPIN 3095-1506, ORCID 0000-0003-4530-8730

**Косинова Александра Александровна** [Aleksandra A. Kosinova]  
eLibrary SPIN 2108-0220, ORCID 0000-0002-7412-2516

**Субботина Татьяна Николаевна** [Tatiana N. Subbotina]  
eLibrary SPIN 9818-7718, ORCID 0000-0001-7790-5033

**Гринштейн Юрий Исаевич** [Yuriy I. Grinshtein]  
eLibrary SPIN 1219-3804, ORCID 0000-0001-8847-235X