



ИЮНЬСКАЯ
КОНФЕРЕНЦИЯ
В КАРДИОКЛИНИКЕ

Персонализированные генетические решения в терапии антиагрегантами – возможны ли они?

Сироткина О.В.



НМИЦ им. В.А. Алмазова Минздрава России

Кафедра лабораторной медицины с клиникой

Санкт-Петербург, 25 июня 2026 г.

Конфликт интересов в данном выступлении отсутствует

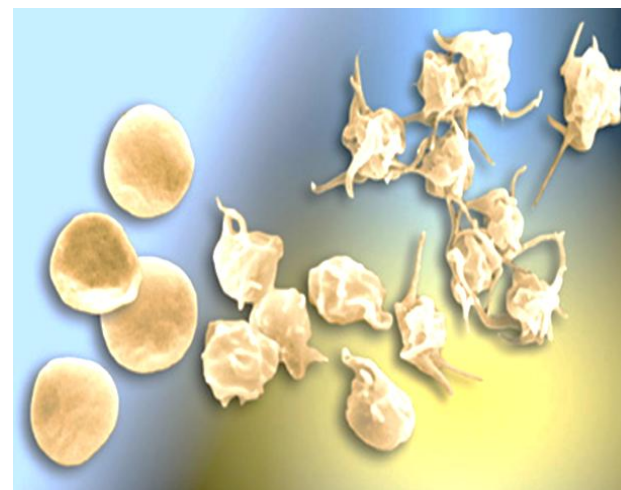
ВОЗ: ежегодно от БСК в мире умирает примерно 18 млн. человек¹

Болезни системы кровообращения (БСК) – ведущая причина смертности в РФ; в 2024 г. **выявлено 1 729 827 сл.**

Суммарный коэффициент смертности от БСК в РФ в 2021 г – 612,6 + 106 на 1000 тыс. населения²

Высокий относительный СС риск в возрасте 18-39 лет - 6,8%; 40-64 года – 19,1% (доклад на «Человек и лекарство»)

Патологическое тромбообразование в первичном и коагуляционном звене гемостаза является основной причиной сосудистых событий.



Antithrombotic Trialists' Collaboration 2002:

Антиагрегантная терапия защищает пациентов с ОИМ, ИИ, ИБС, ЗПА от повторных сосудистых событий.

Аспирин в дозе 75-150 мг также эффективен, как большие дозы³

Резистентность к антиагрегантным препаратам наблюдается у 20-60% пациентов и увеличивает риск сосудистых событий и смертности в 3-6 раз⁴

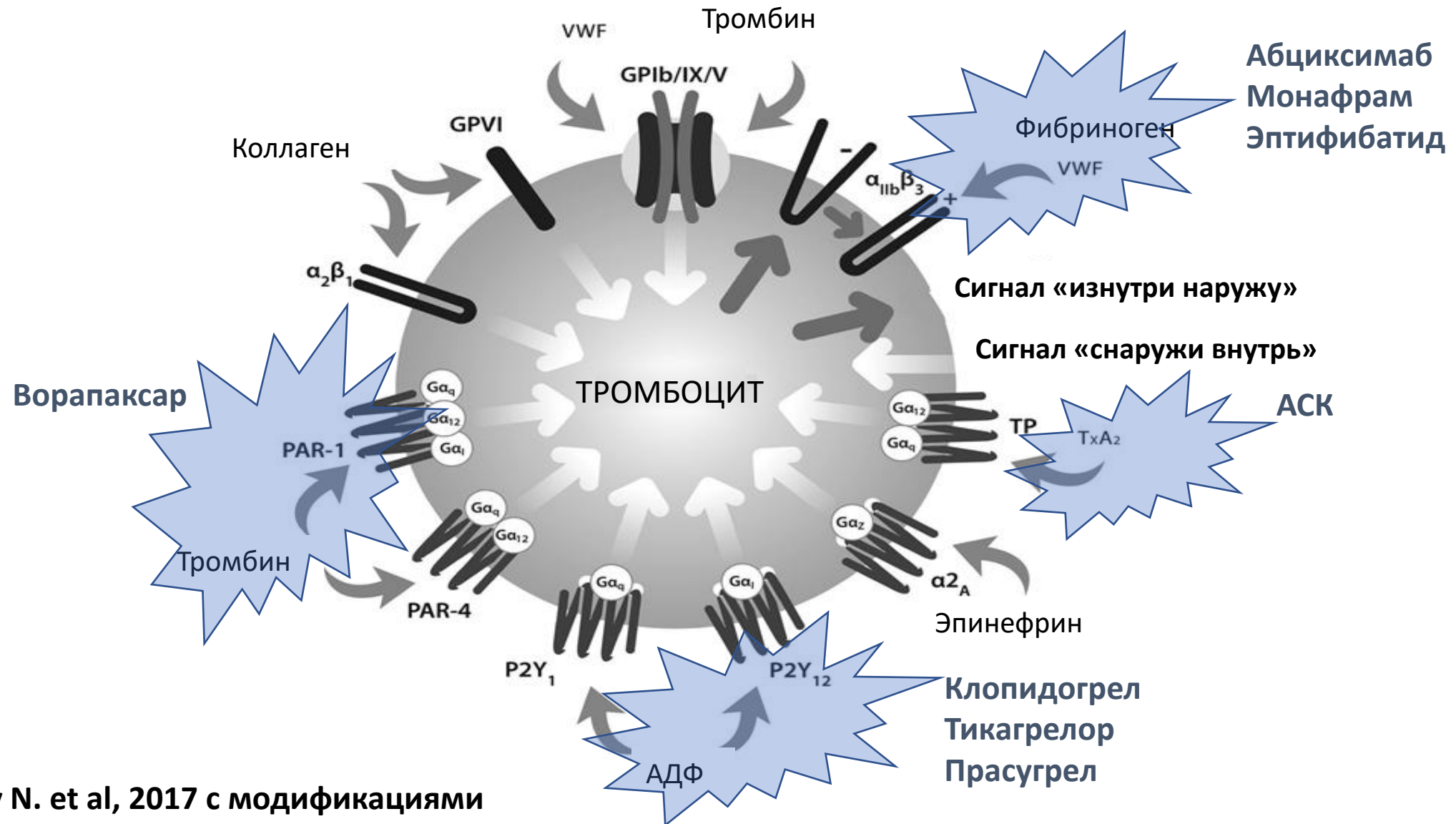
¹ <https://www.who.int/ru/health-topics/cardiovascular-diseases>

² Самородская И. В., Старинская М. А., Бойцов С. А. Российский кардиологический журнал 2023;28(4):5256 doi:10.15829/1560-4071-2023-5256

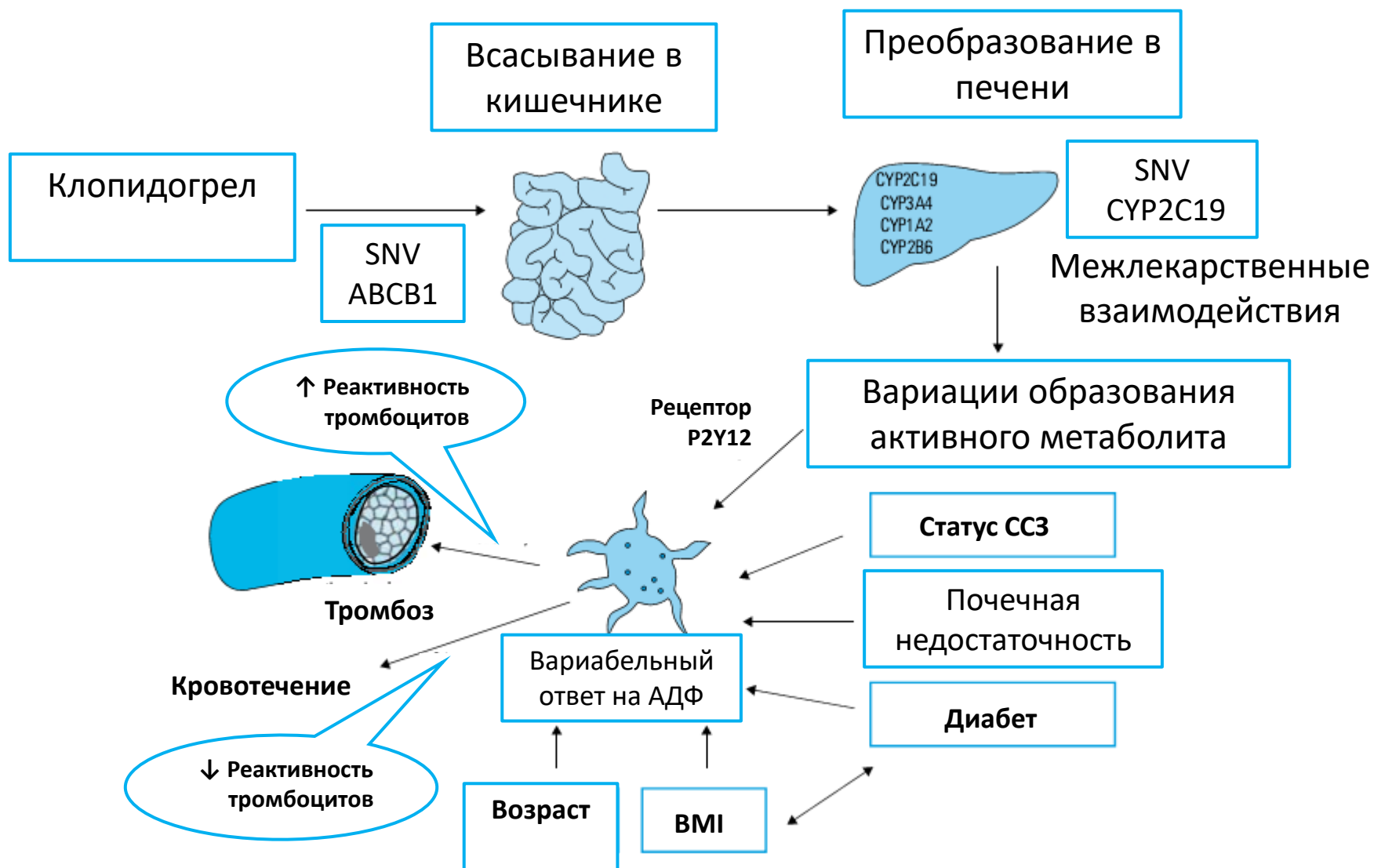
³ BMJ 2002;324:71 doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.324.7329.71>

⁴ Khan H et al. Int. J. Mol. Sci. 2022, 23, 11317. <https://doi.org/10.3390/ijms231911317>

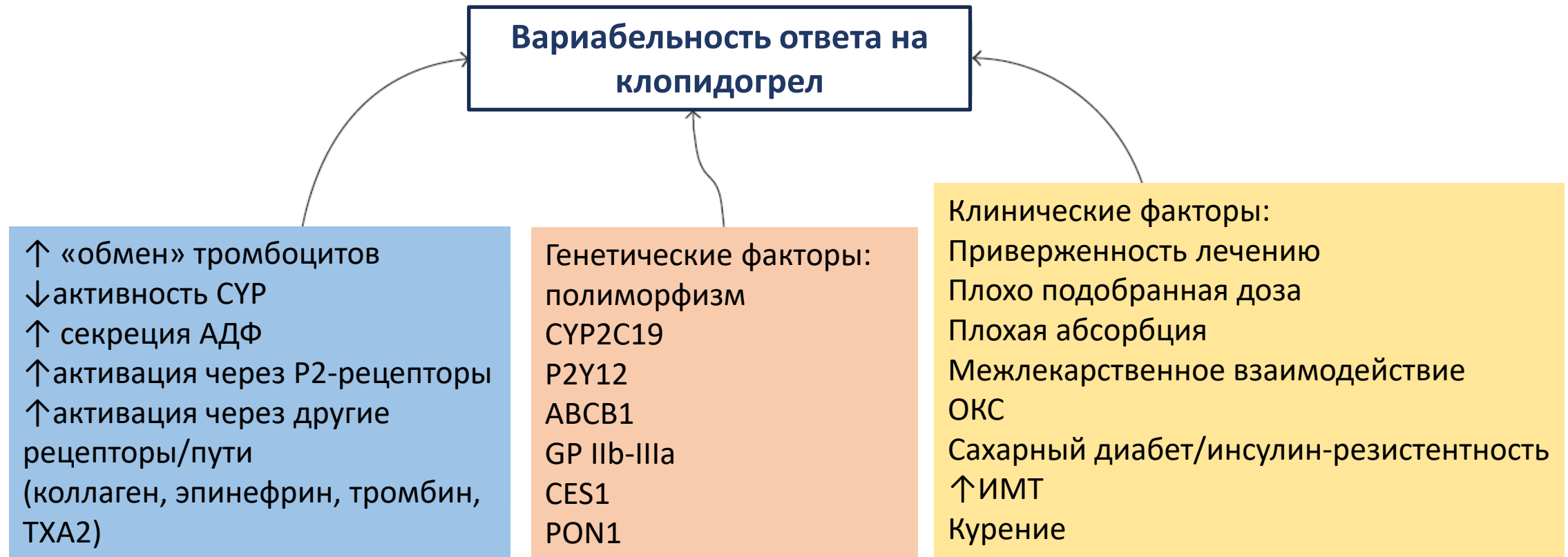
Рецепторы тромбоцитов – мишень для антиагрегантов



Метаболизм клопидогрела



Причины резистентности к клопидогрелу



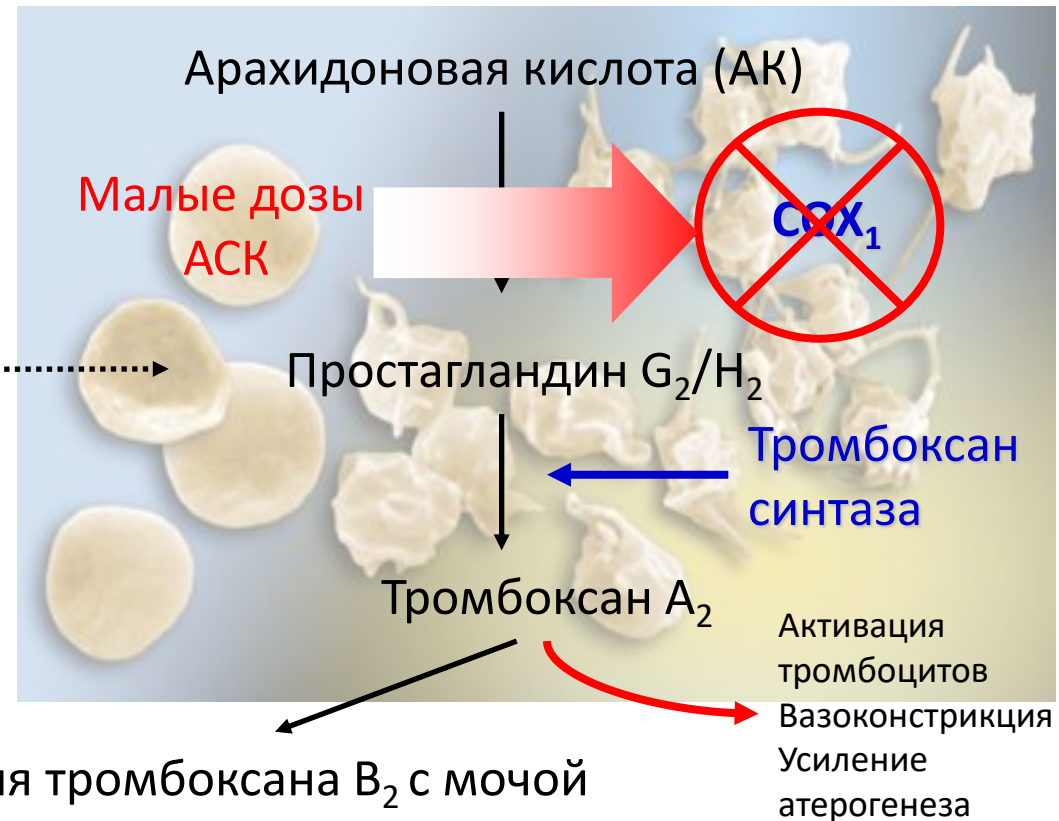
Продукция тромбоксана и действие АСК

Шунтирование
действия АСК

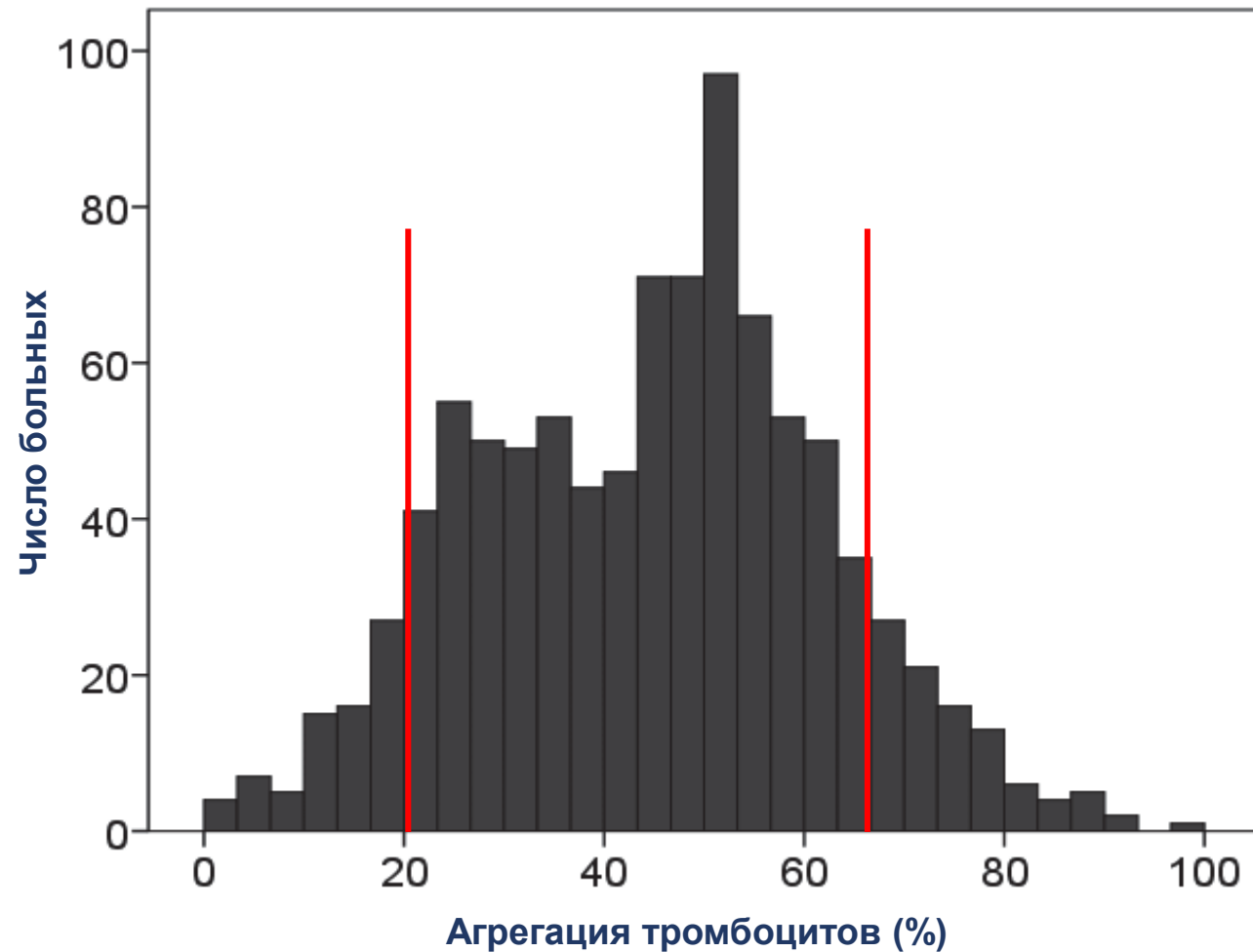


Экскреция тромбоксана V_2 с мочой

Действие АСК через COX_1
тромбоцитов



Вариабельность ответа тромбоцитов больных после ЧКВ, находящихся на двойной антиагрегантной терапии (АСК+клопидогрел)



Цель исследований:

Изучение роли молекулярно-генетических механизмов гемостатических реакций в развитии осложнений сердечно-сосудистых заболеваний и их персонифицированная коррекция на основе фармакогенетической матрицы

- «Изучение механизма активации тромбоцитарных рецепторов и генетических основ гиперагрегации тромбоцитов», грант РФФИ №05-04-49116 (2005—2007).
- «Генетическая вариабельность P2-рецепторов и функции тромбоцитов», грант РФФИ №08-04-00377 (2008—2010)
- «Фундаментальные науки — медицине», программа РАН (2008)
- «Фундаментальные науки — медицине», программа РАН (2009—2011)
- «Молекулярно-генетические механизмы синтеза белков в тромбоцитах de novo», грант РФФИ № 12-04-01296 (2012-2014)
- «Функциональная активность тромбоцитов и передача сигналов межклеточного взаимодействия - роль микрочастиц, содержащих микроРНК», грант РФФИ № 16-04-01142 (2016—2018)
- «Молекулярные механизмы регулирования плазменного гемостаза: роль эритроцитарных микрочастиц и микроРНК», грант РФФИ № 20-04-00257 (2020—2022)

- **Исследованные группы**

- Более 2000 пациентов с сердечно-сосудистыми и церебро-васкулярными заболеваниями; молодые мужчины до 45 лет, женщины репродуктивного возраста, лица старше 45 лет, пациенты с COVID-19 на госпитальном этапе...
- Более 800 условно-здоровых лиц
- 40 образцов концентрата тромбоцитов как модели активации

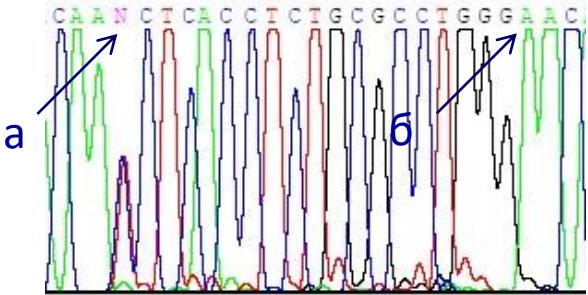
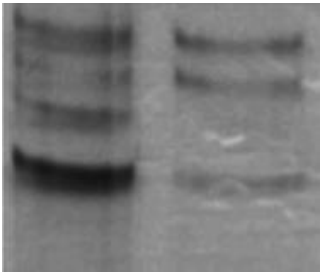
Методы	Решаемые задачи
ПЦР в реальном времени	выявление таргетных генетических вариантов
SSCP анализ денатурированных ПЦР-продуктов (анализ конформационного полиморфизма одонитевых фрагментов ДНК) в полиакриламидном геле	Выявление проб с измененной подвижностью одонитевых фрагментов ДНК
Секвенирование на автоматическом секвенаторе ABI 373 с использованием набора реагентов Thermo Sequenase II (Amersham Pharmacia).	Уточнение позиций найденных SNV и выявления новых вариантов
Проточная цитофлуориметрия с использованием меченых антител	Измерение количества рецепторов на мембране тромбоцитов, количество циркулирующих эндотелиоцитов (ЦЭК) молекулярная характеристика биообразцов
Индукцированная (оптический метод, индукторы – АДФ, коллаген, арахидоновая кислота) и спонтанная агрегация тромбоцитов	Оценка функциональной активности тромбоцитов
Иммуноблоттинг	Детекция специфических белков
Сканирующая электронная микроскопия	Микровезикуляция клеток крови

Результаты

Генетические вариации в тромбоцитарных рецепторах P2Y12, GP Ia-IIa, GP VI, GP IIb/IIIa изменяют функциональную активность тромбоцитов и модулируют эффекты антиагрегантных препаратов

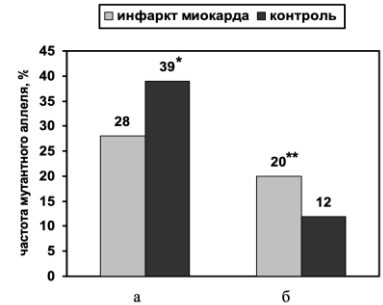
324 лиц → высокая функциональная активность тромбоцитов, без генотипа 33Pro гена GPIIIa → SSCP анализ → секвенирования кодирующей области гена P2Y12 → две нуклеотидные замены C18T (протективная) и G36T (негативная)

Разработан оригинальный метод детекции на основе ПЦР с последующим рестрикционным анализом для оценки распределения найденных нуклеотидных замен C18T и G36T гена P2Y12



SSCP анализ (анализ конформационного полиморфизма одонитевых фрагментов ДНК) для выявления пробы с измененной подвижностью

Секвенирование образца ДНК с конформационным изменением (а) и выявленные SNPs кодирующей области гена P2Y12 (б).



*p=0.04
**p=0.07

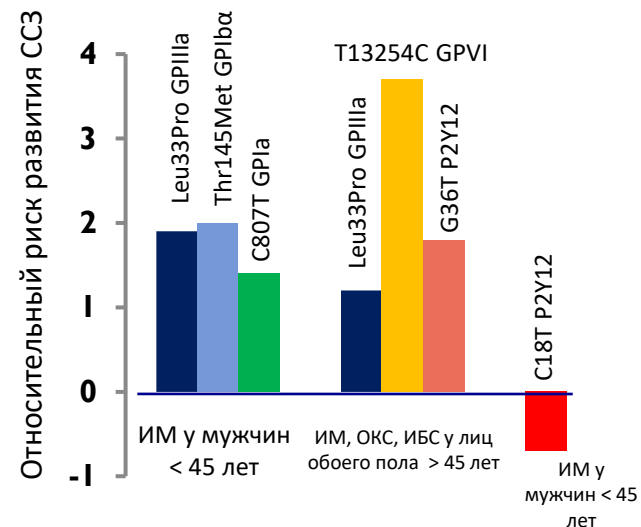
Протективное и негативное влияние C18T и G36T на функцию тромбоцитов при сравнении здоровых добровольцев у пациентов, перенесших инфаркт миокарда и в контроле.



О.В. Сироткина, А.М. Шейдина, Т.В. Вавилова, Е.И. Шварц. Новая мутация гена GPIIIa в российской популяции - Leu40Arg, сцепленная с Leu33Pro // Генетика. – 2005. – Т. 41. - №6. – С.683-687.



Тромбоцитарные рецепторы GPIIb-IIIa, GPIa-IIa, GPIba, GPVI, P2X1, P2Y1, P2Y12: их количество, генотипы и экспрессия генов модулируют функциональную активность тромбоцитов и клиническую эффективность антиагрегантов



Носительство 33Pro аллеля GP IIIa увеличивает риск коронарного атеротромбоза (OR=1.9 [CI 95% 1.3-2.8]) и риск повторного ОИМ (p=0.03) одновременно с нарастанием агрегационной активности

Количество рецепторов GP IIb-IIIa, P2Y12, P2Y1, функция тромбоцитов и уровень экспрессии генов

Рецептор ¹ / функция ² / экспрессия гена ³	P ₂₋₁	P ₂₋₃
GP IIb-IIIa / функция / мРНК GP IIb	0,01	0,03
P2Y12 / функция / мРНК P2Y12	0,009	0,003
P2Y1 / функция / мРНК P2Y1	0,02	0,005

О.В. Сироткина О.В., Вавилова Т.В. с соавт. Гликопротеин IIb-IIIa в спонтанной агрегации тромбоцитов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – **2007**. – Т. 143. - №4. – С. 398-401.

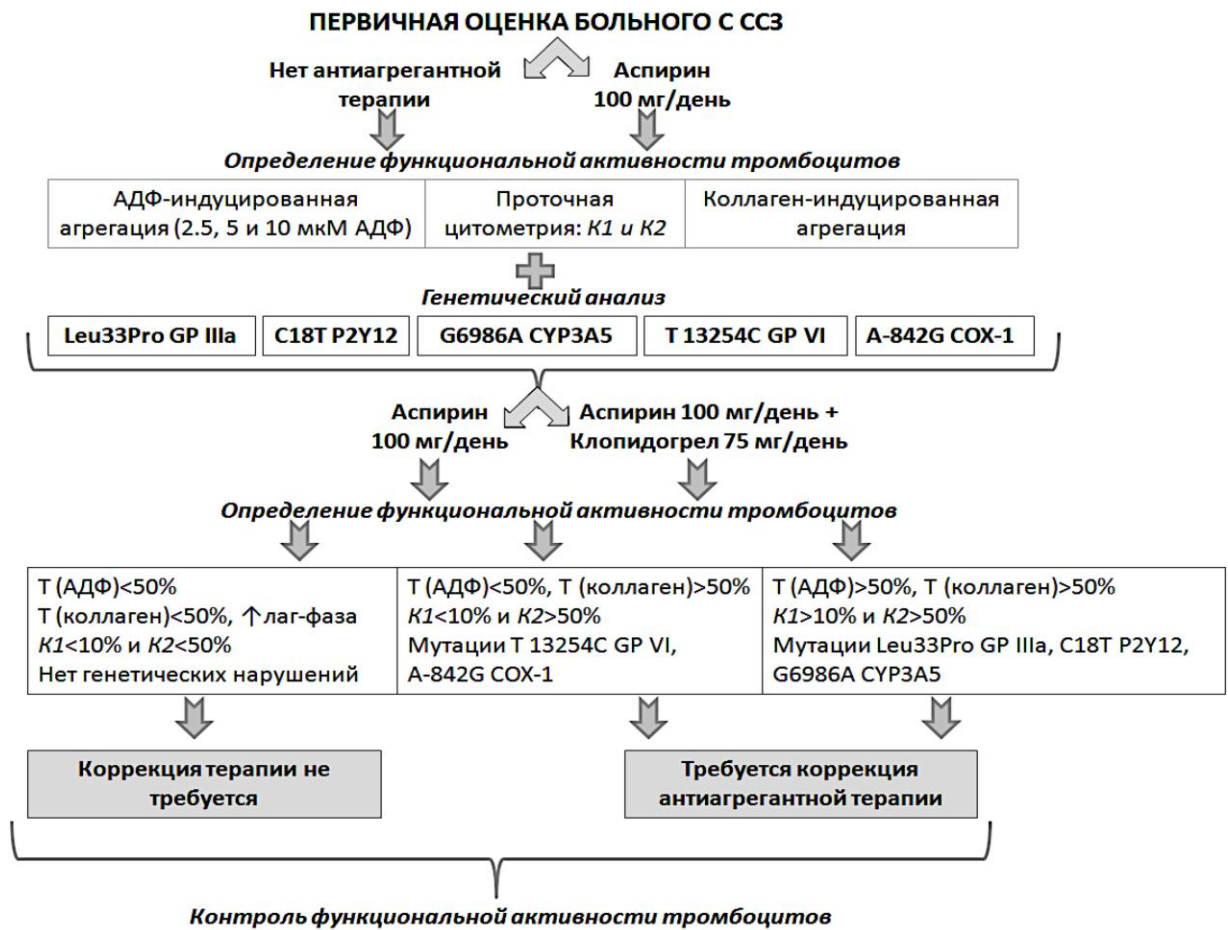
Сироткина О.В., Боганькова Н.А., Тараскина А.Е., Железняк Е.Л., Болдуева С.А., Вавилова Т.В. Молекулярно-генетический анализ АДФ-рецепторов тромбоцитов у здоровых лиц и пациентов, принимающих клопидогрел. Технологии живых систем. – **2009**. – Т. 8. – С.46-52.

Индивидуальная антиагрегантная терапия у больных с атеросклерозом нижних конечностей



Сироткина О.В., Суринт Н.А., Топанова А.А., Вавилова Т.В. Индивидуальная антиагрегантная терапия у больных с атеросклерозом нижних конечностей: миф или реальность? Медицинский совет. – 2017. - №20. – С.32-39

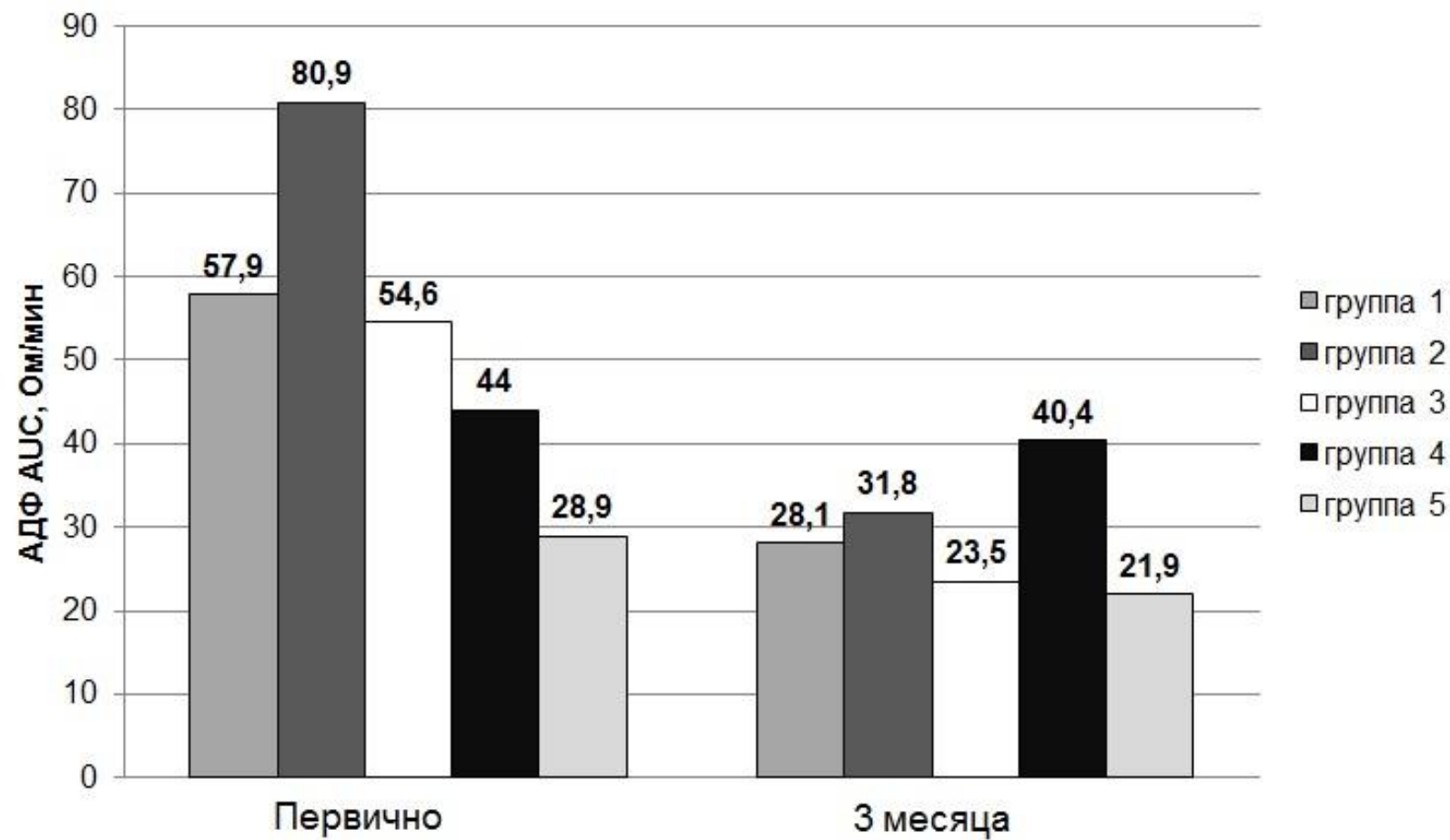
- 105 пациентов обоего пола (возраст от 40 до 79 лет), в анамнезе - реконструктивные операции на артериях по поводу облитерирующего атеросклероза нижних конечностей (наблюдаются в Городском консультативно-диагностическом центре №1 (г. Санкт-Петербург) с 2008 г. по 2017 г. (среднее время наблюдения 5,6±1,2 лет), врач-сосудистый хирург Суринт Н.А., врач КЛД Исаева Л.А.)



- Всем пациентам выполнялись стандартные биохимические исследования, клинический анализ крови.
- Контроль функциональной активности тромбоцитов осуществлялся по показателям АДФ- (10 мкМ) и коллаген- (2 мкг) индуцированной импедансной агрегатометрии.
- Определялись полиморфные варианты генов, ассоциированных с клопидогрел- и аспирин-резистентностью.



Остаточная реактивность тромбоцитов через 3 месяца индивидуально подобранной антиагрегантной терапии
(AUC АДФ-индуцированной агрегации)



Клинический пример №1

Пациент А., ♂, 1947 г.р. Генерализованный атеросклероз. Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей (хроническая ишемия I ст.), атеросклеротический кардиосклероз (стенокардия напряжения III ф. кл.), атеросклероз сосудов головного мозга (ДЭ II). Состояние после оперативного лечения в 06.2011 года. Курит.

- Исходно: АДФ амплитуда – 19 Ом, S – 84;
коллаген амплитуда – 26 Ом, S – 90,8
CYP3A5*3 – NN, CYP2C19*2 – NN, CYP2C19*3 – NN,
CYP2C19*17 – NM,
Leu33Pro GP IIIa - NN, C807T GP Ia - NM,
G36T P2Y12 – NN

Терапия: 100 мг АСК+75 мг клопидогрел

- 3 месяца: АДФ амплитуда – 5 Ом, S – 21,3;
коллаген амплитуда – 20 Ом, S – 69,3
- 6 месяцев: АДФ амплитуда – 24 Ом, S – 103,3;
коллаген амплитуда – 13 Ом, S – 43,5

Коррекция терапии: 150 мг АСК+75 мг клопидогрел

- 24 месяца: АДФ амплитуда – 12 Ом, S – 52,4;
коллаген амплитуда – 12 Ом, S – 37,7

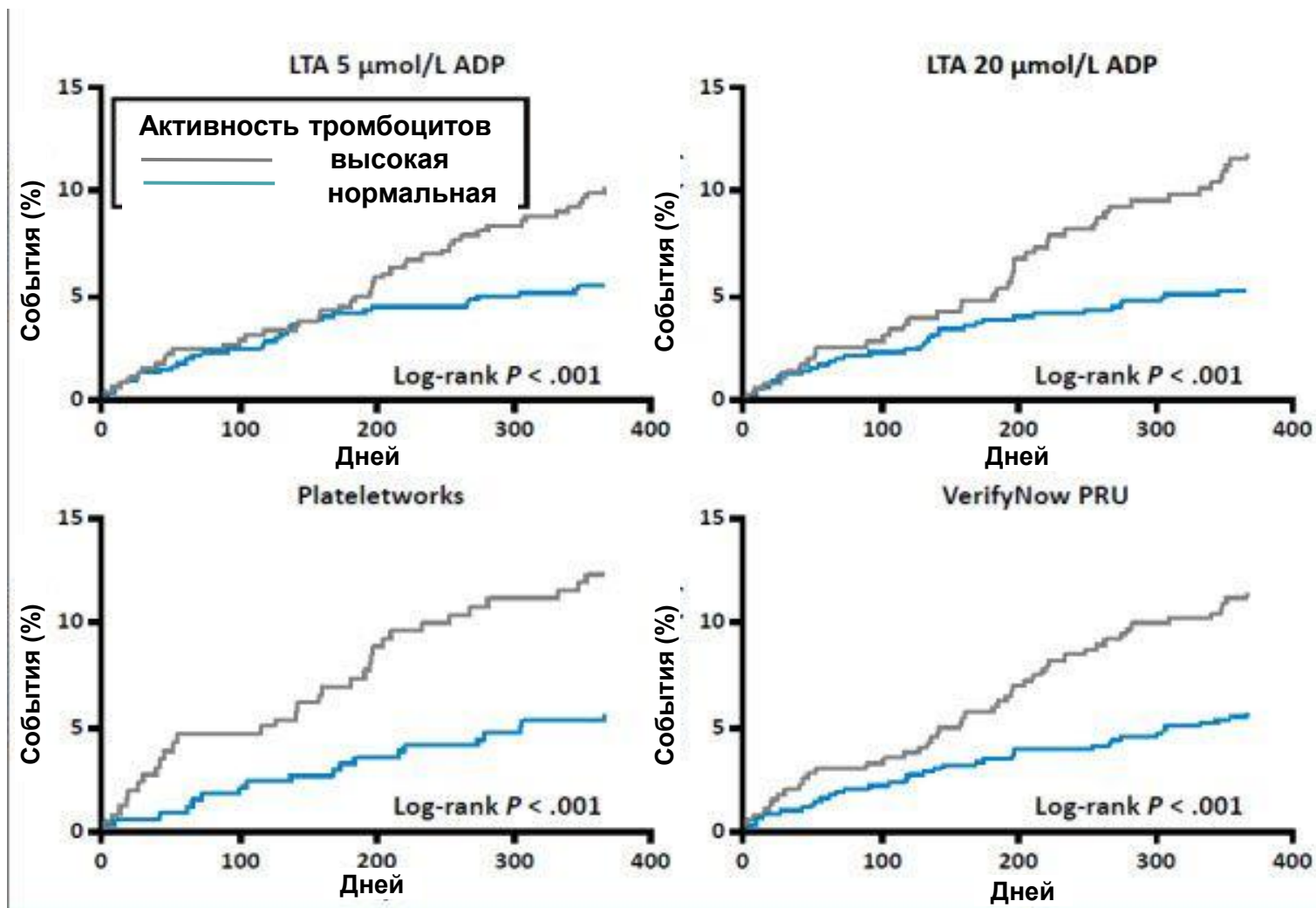
- 10 лет (отмена АСК 2 года назад): АДФ амплитуда – 8 Ом, S – 31,3;

коллаген амплитуда – 18 Ом, S – 63,8

возобновление АСК.

- Степень хронической ишемии по Покровскому - IIa (невыраженная, легкая перемежающаяся хромота). Дистанция безболевой ходьбы до 1000 метров.
- Продолжает курить. Кровотечений, синяков не отмечает. Жизнь в целом доволен, работает. Общее время наблюдения у сосудистого хирурга 10 лет.

Определение активности тромбоцитов и связь с неблагоприятными исходами у 1069 больных после ЧКВ на фоне приема клопидогрела (исследование POPular)

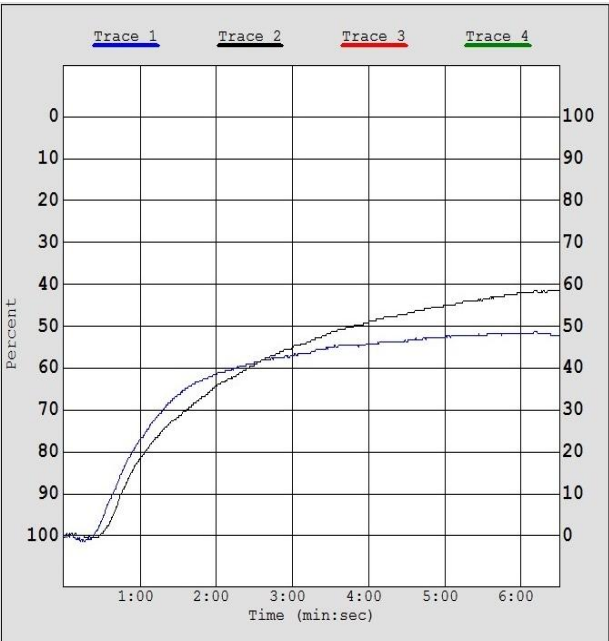


Клинический пример №2.

Пациентка К., 61 год. 23.07.2019г. (Центр профилактики инсультов, ГКДЦ №1,г. Санкт-Петербург) - ТИА в бассейне ЛСМА

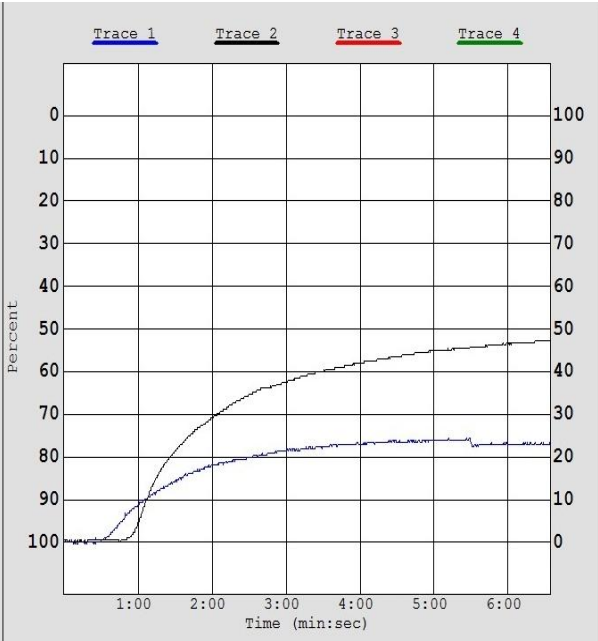
Сопутствующая патология: гипертоническая болезнь, бронхиальная астма, ТЭЛА от 2013 г., ожирение 2 ст.
Причина ТИА не уточнена, но эпизод случился на фоне не регулярного приема дженерического препарата клопидогрел 75 мг.

Test ID : ~~101-12004~~		
TRACE 1 Date: 03.09.2019 Time: 11:06:22		
Name: ~~XXXXXXXXXX~~		
ID : ~~101-12004~~ Lab :		
Blood Draw Time :		
TRACE 2 Date: 03.09.2019 Time: 11:06:22		
Name: ~~XXXXXXXXXX~~		
ID : ~~101-12004~~ Lab :		
Blood Draw Time :		
TRACE		
Instrument		
Reagent		
Stirrer		
Gain		
Amplitude		
Slope		
Lag Time		
Area Under		
Comments		



Приверженность к лечению!
Проведена беседа о
необходимости приема
лекарств!

Test ID : ~~101-12004~~		
TRACE 1 Date: 15.01.2020 Time: 10:39:20		
Name: ~~XXXXXXXXXX~~		
ID : ~~101-12004~~ Lab :		
Blood Draw Time :		
TRACE 2 Date: 15.01.2020 Time: 10:39:20		
Name: ~~XXXXXXXXXX~~		
ID : ~~101-12004~~ Lab :		
Blood Draw Time :		
TRACE		
Instrument		
Reagent		
Stirrer		
Gain		
Amplitude		
Slope		
Lag Time		
Area Under		
Comments		



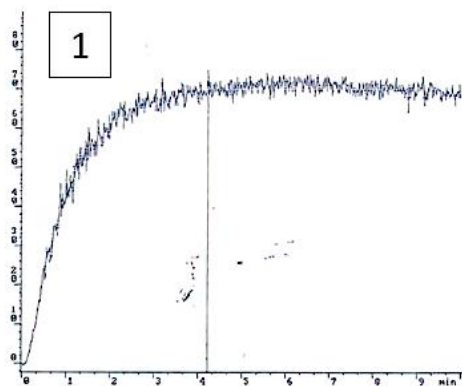
Снижение функциональной
активности тромбоцитов.
Без повторных ишемических
эпизодов до настоящего
времени

Клинический пример №2.

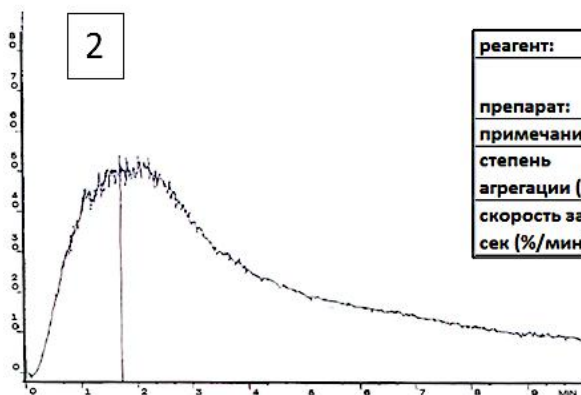
Резистентность к клопидогрелу.

Пациентка Б., 63 г. Диагноз: Атеросклероз БЦА. Стеноз правой ВСА до 70%. Поступила для оперативного лечения: ангиопластика правой ВСА с имплантацией стента.

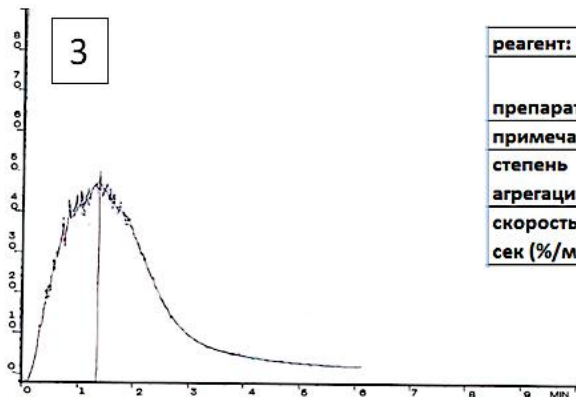
Перед назначением ДАТ была выполнена базовая агрегатометрия (рис 1), контроль через 2 дня после назначения клопидогрел 75 мг + АСК 100 мг (рис. 2). Целевой уровень для постановки церебральных стентов не достигнут. Через 5 дней приема ДАТ (рис. 3) степень агрегации 50,1%, состояние расценено как нечувствительность к клопидогрелу, терапия заменена на тикагрелор 90 мг/2 р/день + АСК 100 мг. Через 1 день после смены терапии степень агрегации 20,6% (рис. 4).



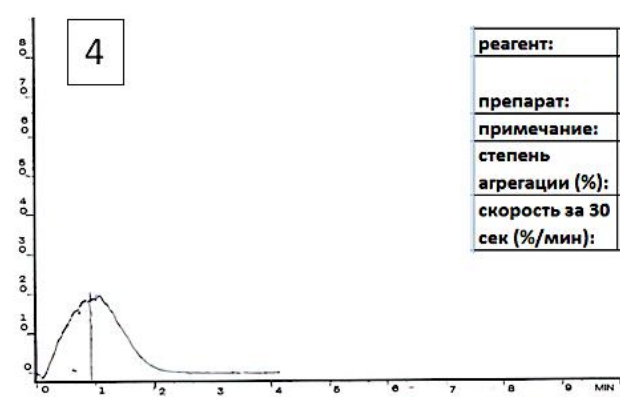
реагент:	АДФ, 5 мкмоль
препарат:	до терапии
примечание:	нет
степень агрегации (%):	74,8
скорость за 30 сек (%/мин):	60,8



реагент:	АДФ, 5 мкмоль
препарат:	клопидогрел 75 АСК 100
примечание:	2 дня приема
степень агрегации (%):	54,2
скорость за 30 сек (%/мин):	42,8



реагент:	АДФ, 5 мкмоль
препарат:	клопидогрел 75 АСК 100
примечание:	5 дней приема
степень агрегации (%):	50,1
скорость за 30 сек (%/мин):	65,0



реагент:	АДФ, 5 мкмоль
препарат:	тикагрелор 90 х 2 р/д + АСК 100
примечание:	1 день приема
степень агрегации (%):	20,6
скорость за 30 сек (%/мин):	33,6

Целевой уровень МА для постановки церебральных стентов 20-40% (порог принятия решений локальной лаборатории).

Возможные методы определения функциональной активности тромбоцитов

- Измерение индуцированной агрегации тромбоцитов в плазме и цельной крови (светопропускание, измерение импеданса)
- Использование светорассеяния (лазерный источник) для характеристики тромбоцитов и определения количества микроагрегатов в плазме и цельной крови
- Проточная цитометрия для исследования микрочастиц, тромбоцитарно-тромбоцитарных агрегатов, тромбоцитарно-лейкоцитарных агрегатов, рецепторов тромбоцитов, поверхностных маркеров активации...
- Выявление и количественная характеристика плазменных маркеров активации тромбоцитов (PF4, β -тромбоглобулин)
- Методы «прикроватной диагностики»

Клинический пример №3. Пациент М, 63 года (Отделение сосудистой хирургии СЗГМУ им И.И. Мечникова).

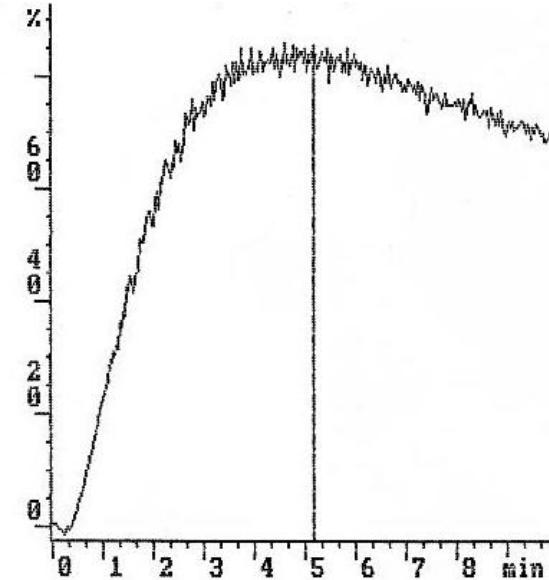
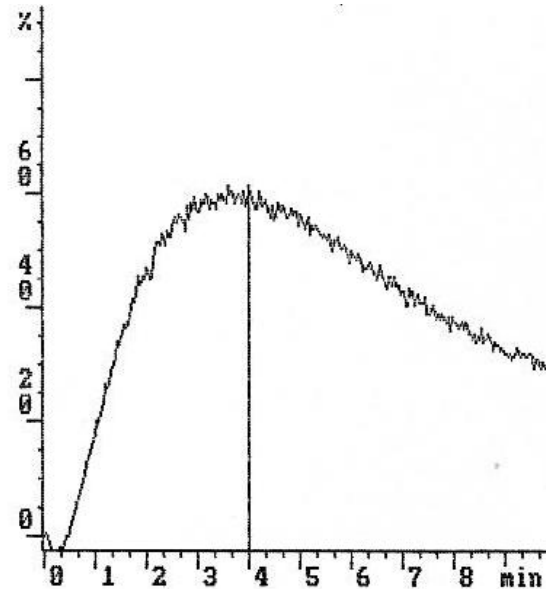
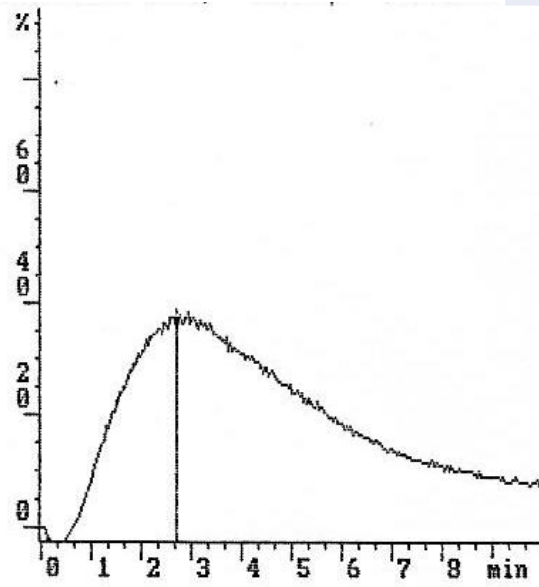
Диагноз: I70.8. Атеросклероз других артерий. Тромбоз общей бедренной артерии (ОБА).

Выполнена полужакрытая петлевая тромбэндартерэктомия из общей подвздошной и наружной подвздошной артерий с аутовенозной пластикой ОБА.

Назначена двойная антиагрегантная терапия: Клопидогрел 150 мг/сут + АСК 100 мг/сут

Функциональная активность тромбоцитов по данным оптической агрегатометрии:

Концентрация АДФ	Степень, %	Скорость, %/м	Кол-во Тр, тыс/мкл
2 мкМ	39,4	16,8	270
4 мкМ	64,4	25,6	259
20 мкМ	87,9	26,4	273

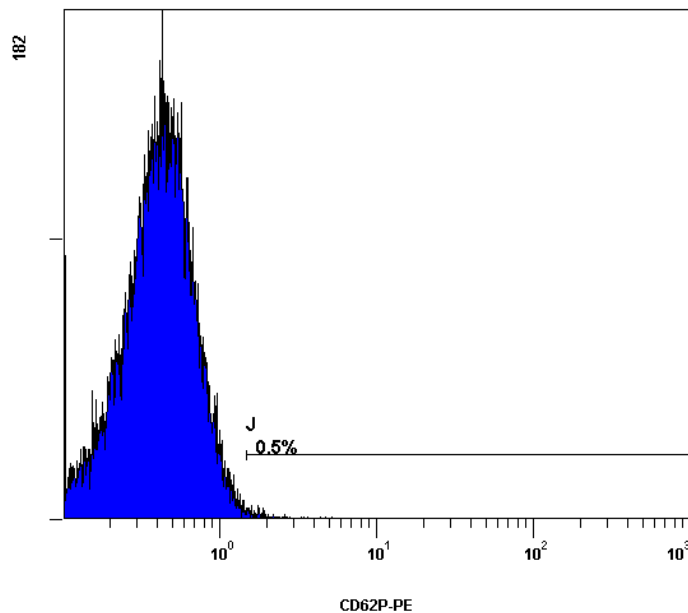


Заключение: При исследовании функциональной активности тромбоцитов отмечается явление дезагрегации на всех концентрациях индуктора-АДФ, что свидетельствует о снижении функциональной активности.

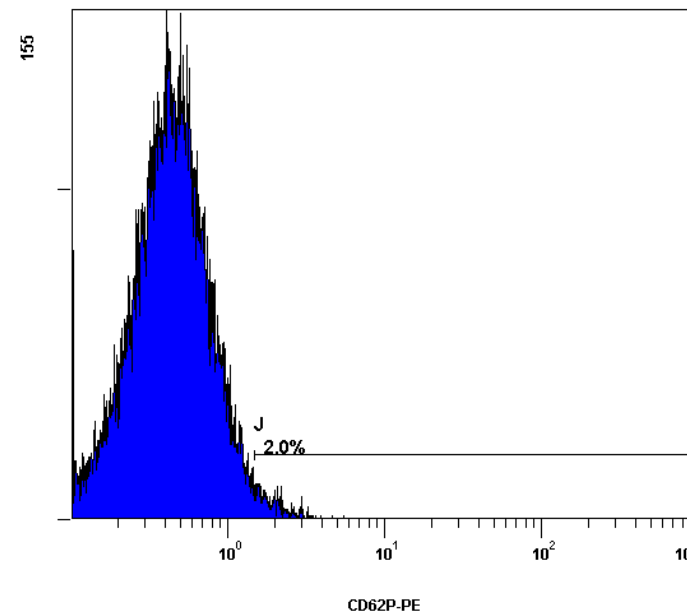
Продолжение: Двойная антиагрегантная терапия: Клопидогрел 150 мг/сут + АСК 100 мг/сут
Функциональная активность тромбоцитов по данным проточной цитометрии:

P-selectin, %	P-selectin ADF+, %
0,5	2,0

(F1)[A] 17200004698 00016280 001.LMD : FL2 Log - ADC



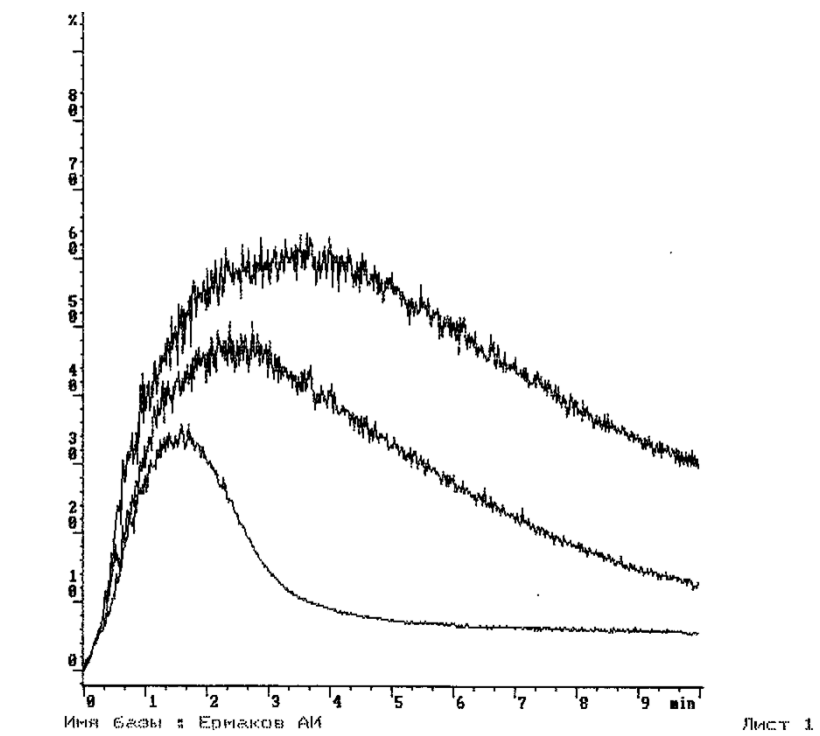
(F1)[A] 17200004698 00016281 002.LMD : FL2 Log - ADC



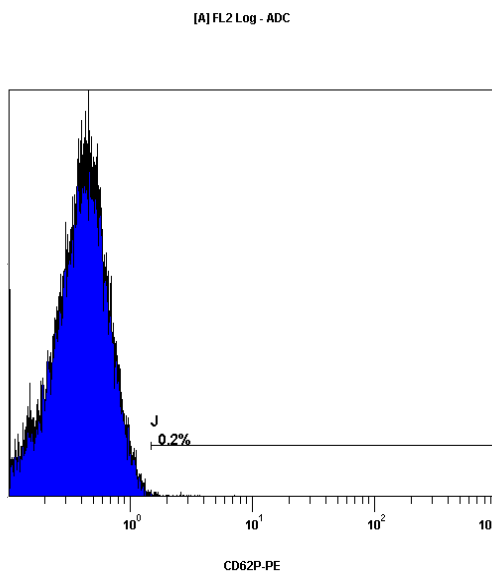
Заключение: При исследовании функциональной активности тромбоцитов отмечается снижение количества активированных клеток, что говорит о снижении функциональной активности тромбоцитов на фоне антиагрегантной терапии. Данные проточной цитометрии согласуются со стандартной индуцированной агрегатометрией.

Клинический пример №4.

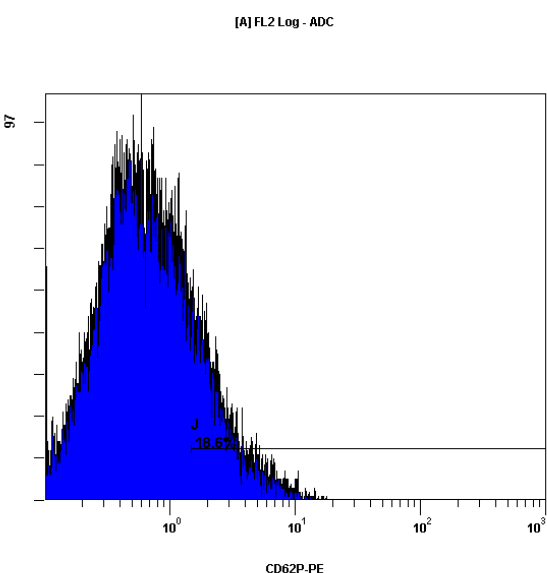
Пациент Н., 72 л. Диагноз: I20.8 ИБС. Другие формы стенокардии. Терапия антиагрегантами: АСК = 100 мг/сут



Концентрация АДФ	Степень, %	Скорость, %/м	Кол-во Тр, тыс/мкл
2 мкМ	35,9	23,6	303
4 мкМ	50,9	30,4	315
20 мкМ	63,9	39,6	297



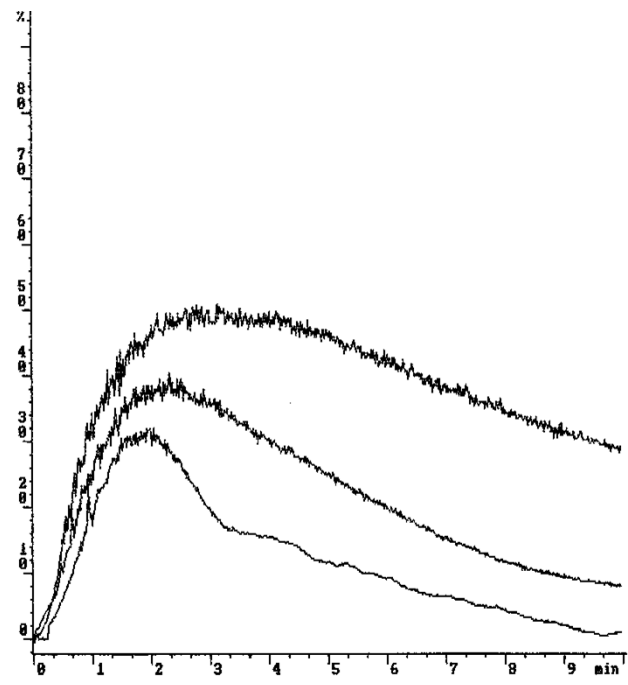
P-selectin, %
0,22



P-selectin ADF+, %
18,58

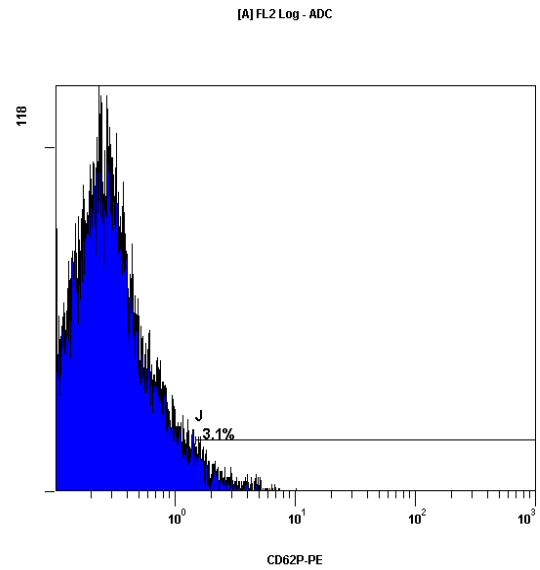
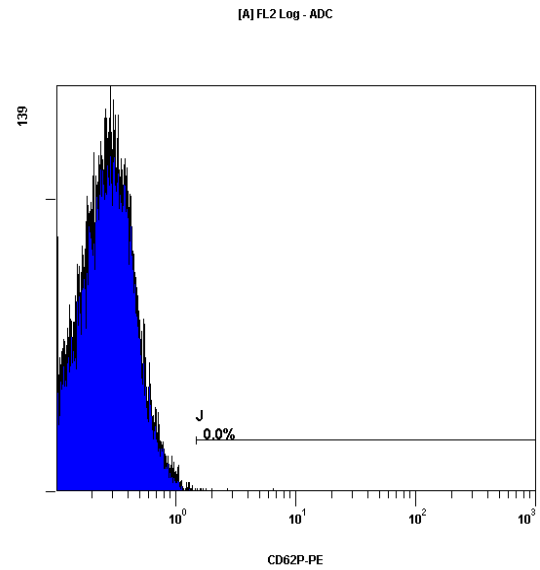
Заключение: При исследовании АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов отмечается явление дезагрегации на всех концентрациях индуктора, что может свидетельствовать о снижении функциональной активности тромбоцитов. Однако данные проточной цитометрии показывают значительное количество активированных клеток.

Продолжение:
Терапия антиагрегантами: АСК = 100 мг/сут + Клопидогрел = 75 мг/сут



Имя БЭМ : Ермаков АИ

Концентрация АДФ	Степень, %	Скорость, %/м	Кол-во Тр, тыс/мкл
2 мкМ	32,1	15,0	290
4 мкМ	40,5	22,4	285
20 мкМ	51,1↓	29,8	307



P-selectin, %	P-selectin ADF+, %
0,04	3,06↓

Закключение: При исследовании функциональной активности тромбоцитов отмечается снижение степени агрегации на всех концентрациях индуктора-АДФ и уменьшение количества активированных клеток по данным проточной цитометрии, что свидетельствует о снижении их физиологической активности.

Фенотип (остаточная реактивность тромбоцитов)

- Исследование доступно в широком круге лабораторий
- Результаты визуализированы и легко интерпретируются
- Исследования плохо стандартизованы
- Требуют навыка оператора
- Строгие правила преаналитического этапа

Что выбрать для анализа?
А может быть оба подхода?

Генотип (SNV, ассоциированные с резистентностью к терапии)

- Исследования менее доступны, но хорошо стандартизованы
- Упрощенный преаналитический этап, длительное хранение биоматериала с возможностью повторного или дополнительного исследования
- Клиническая интерпретация требует навыка и опыта
- Не все проблемы клинического эффекта тестирования решены
- Не включены в клинические рекомендации

Выводы из собственных клинических наблюдений:

- Персонализированный подход к назначению антиагрегантной терапии, наблюдение за пациентами и регулярный лабораторный контроль остаточной реактивности тромбоцитов – факторы, которые могут обеспечить приверженность лечению, низкую частоту неблагоприятных исходов, отсутствие геморрагических осложнений на фоне антиагрегантной терапии

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

