

The background of the top half of the page features a semi-transparent profile of a human head facing right, overlaid with a field of red blood cells. The overall color palette is warm, with shades of red, orange, and yellow.

КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ НЕЗРЕЛЫХ ТРОМБОЦИТОВ

Определение слабой эффективности антитромбоцитарных препаратов и связанных рисков на раннем этапе

Тромбоциты играют важную роль в восстановлении поврежденного эндотелия, тромбообразовании после повреждения сосудов и регулировании процесса заживления ран. Они также необходимы для образования кровяных сгустков и помогают уменьшить циркуляцию крови в кровеносной системе. Ранний анализ реактивности тромбоцитов *in vivo* важен при определении развития тромботических осложнений. Для большинства пациентов данные анализы могут также использоваться для прогнозирования будущих осложнений и помогают оценить эффективность антитромбоцитарных препаратов.

У пациентов с острым коронарным синдромом часто наблюдается высокое количество незрелых тромбоцитов [1, 2], которые образуются для компенсации потери тромбоцитов, обусловленной агрегацией тромбоцитов вследствие атеросклероза. Выяснилось, что незрелые тромбоциты играют важную роль при оценке риска и мониторинге терапии ишемической болезни сердца. Количество (фракция) незрелых тромбоцитов (IPF) – новый диагностический параметр. Значение IPF отра-

жает абсолютное количество вновь образованных тромбоцитов в периферической крови.

Незрелые тромбоциты обладают большей реактивностью, чем зрелые, и имеют повышенный протромботический потенциал

Молодые незрелые тромбоциты, имеющие большую плотность и остаточное количество РНК (традиционно называемые ретикулированными тромбоцитами), обладают большей реактивностью, поскольку они способны образовывать и высвобождать больше тромбогенных веществ (например, тромбоксан TX) и могут иметь больше специфических поверхностных рецепторов (например, гликопротеины IIb/IIIa, P-селектин (CD62P)), которые являются важными маркерами активации тромбоцитов. Более высокий по сравнению со зрелыми формами протромботический потенциал незрелых тромбоцитов был подтвержден в ряде публикаций [3–6].

В рамках исследования Stratz с соавт. (2016 г.) было установлено, что у пациентов с более высокими значе-

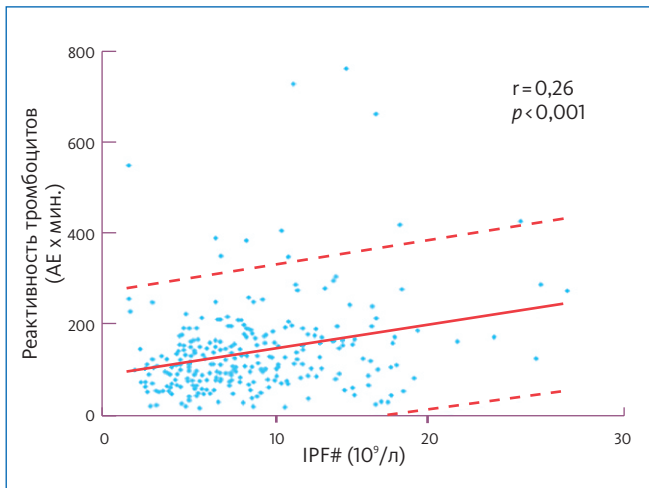


Рис. 1 Корреляция между количеством незрелых тромбоцитов и реактивностью тромбоцитов. На основе исследования Stratz с соавт [5].

ниями IPF реактивность тромбоцитов была выше. Наблюдалась существенная корреляция между количеством незрелых тромбоцитов и реактивностью тромбоцитов, вызванной аденозиндифосфатом (рис. 1) [5].

В ходе исследования Guthikonda с соавт. (2008 г.) было установлено, что доля циркулирующих незрелых тромбоцитов в значительной степени коррелирует с активацией и агрегацией тромбоцитов. Девяносто пациентов были стратифицированы на терцили в зависимости от размера тромбоцитов и доли незрелых тромбоцитов, определенной методом иммунопроточной цитометрии. Более высокое процентное количество незрелых тромбоцитов было отмечено в пуле больших тромбоцитов (верхний 20%) по сравнению с пулом малых тромбоцитов (нижний 20%; 15,4% и 1,7% соответственно, рис. 2). Большее количество гликопротеинов IIb/IIIa (5,7 против 2,1) и P-селектина (7,8 против 4,6) было обнаружено в пуле больших тромбоцитов по сравнению с пулом малых тромбоцитов. Агрегация тромбоцитов, определенная методом световой трансмиссионной агрегометрии (СТА), в ответ на аденозиндифосфат (АДФ) в концентрации 5 мкмоль/л, арахидоновую кислоту (АК) в концентрации 1,5 ммоль/л или коллаген в концентрации 1 мкг/мл была значительно выше в верхнем терциле тромбоцитов по сравнению со средним и нижним терцилями (рис. 3) [6].

Количество незрелых тромбоцитов является прогностическим фактором успеха антитромбоцитарной терапии

Ишемическая болезнь сердца и острый коронарный синдром (ОКС) являются самой распространенной причиной смерти в западных странах. ОКС возникает по причине образования тромба в месте нахождения атеросклеротической бляшки в коронарных артериях, которая ограничивает коронарное кровообращение.

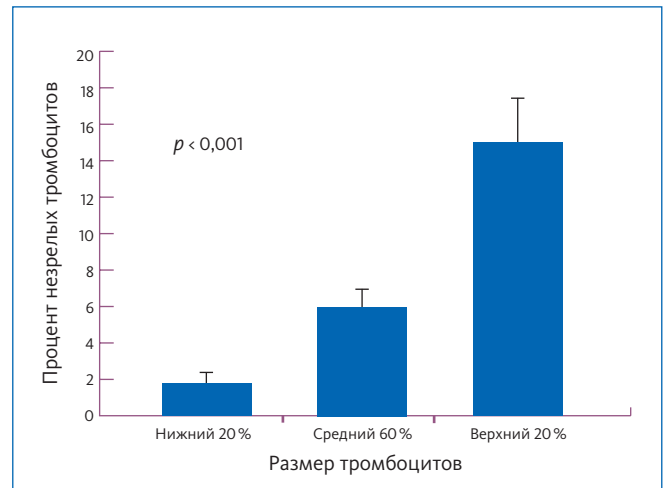


Рис. 2 Процент незрелых тромбоцитов в размере пула: нижнем 20%, среднем 60% и верхнем 20%. На основе исследования Guthikonda с соавт [6].

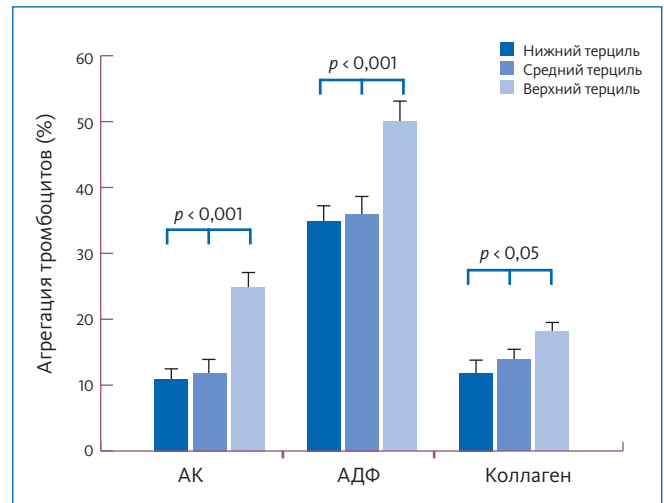


Рис. 3 Агрегация тромбоцитов в ответ на арахидоновую кислоту (АК), аденозиндифосфат (АДФ) и коллаген. Терцили соответствуют размеру тромбоцитов. Как указывалось выше, верхний терциль отражает высокое содержание незрелых тромбоцитов. На основе исследования Guthikonda с соавт. [6].

Несмотря на ведущиеся исследования новых препаратов для лечения атеросклероза, ингибирование тромбоцитов остается краеугольным камнем лекарственной терапии ОКС, поскольку большое количество клинических данных подтверждает, что антитромбоцитарные препараты снижают риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. Применение аспирина в монотерапии или в сочетании с ингибиторами P2Y12 (двойная антитромбоцитарная терапия) является основным методом в лечении и вторичной профилактике ОКС. Антитромбоцитарные препараты являются важным превентивным средством в лечении пациентов с ишемической болезнью сердца. Многочисленные исследования показали межиндивидуальную вариабельность в реакции на лечение аспирином. По-видимому, однократный прием аспирина в день является недостаточным для некоторых пациентов [7], поскольку тромбоцитарная функция и синтез тромбоксана A2 восстанавливаются в течение 24-часового интервала между приемами

препарата [7–9]. Положительных результатов у пациентов с факторами высокого риска (например, страдающих диабетом), с тяжелой формой атеросклероза или повышенным обновлением тромбоцитов можно добиться за счет различных режимов антитромбоцитарного лечения [8, 10–12]. Повышенное количество незрелых тромбоцитов было признано ключевым фактором, связанным с недостаточным ингибированием тромбоцитов в ответ на лечение аспирином, клопидогрелем и прасугрелом [7, 13–16].

Незрелые тромбоциты более устойчивы к функциональному ингибированию аспирином и антагонистами рецепторов P2Y12.

Аспирин в 170 раз мощнее в ингибировании ЦОГ-1, чем ЦОГ-2. Было сделано предположение, что одним из возможных объяснений устойчивости к аспирину является остаточное образование тромбоксана ЦОГ-2 тромбоцитов. Вновь образованные тромбоциты образуют ЦОГ-2 [18], в результате чего при состояниях, связанных с повышенным обновлением тромбоцитов, большая популяция незрелых тромбоцитов образует повышенные концентрации ЦОГ-2, которых может быть достаточно для получения обнаруживаемых концентраций тромбоксана, несмотря на лечение аспирином. В ряде исследований было установлено, что у пациентов с повышенным количеством незрелых тромбоцитов отмечалась более высокая остаточная реактивность тромбоцитов по сравнению с пациентами с физиологическим количеством незрелых тромбоцитов [6–7, 10, 13].

В исследовании Guthikonda с соавт. (2007 г.) оценивалась роль незрелых тромбоцитов в антитромбоцитарном действии аспирина. У 60 здоровых добровольцев исследовалось количество тромбоцитов перед приемом и спустя 24 часа после приема одной дозы аспирина в количестве 325 мг. Участники исследования были разделены на терцили в зависимости от процентного количества незрелых тромбоцитов, определенного в цельной крови методом проточной цитометрии. Незрелые тромбоциты были связаны с ослабленным антитромбоцитарным действием аспирина и повышенной устойчивостью к аспирину вследствие повышенной реактивности и активности неингибируемых ЦОГ-1 и ЦОГ-2. Частотный показатель устойчивости к аспирину был существенно выше в верхнем терциле (45%), чем в нижнем терциле (5%) [13].

Потенциальным следствием сниженной эффективности аспирина у пациентов с высоким обновлением тромбоцитов, представляющим интерес, было то, что

более короткие интервалы между приемами препарата могут дать положительный результат у данных пациентов, поскольку предполагается, что реактивность незрелых тромбоцитов будет компенсироваться доступностью аспирина (у аспирина короткий период полувыведения). В исследовании Pascale с соавт. (2012 г.) было сделано заключение, что повышенный мегакариопоэз обуславливает более короткое антитромбоцитарное действие аспирина в низкой дозировке за счет ускоренного обновления ЦОГ-1 и ЦОГ-2 тромбоцитов, и проблема нарушенного ингибирования тромбоцитов может быть решена с помощью регулирования интервала между приемами аспирина, а не самой дозировки [14]. Авторы выяснили, что двукратный прием аспирина в день снижает устойчивость к аспирину по сравнению с однократным приемом.

Количество незрелых тромбоцитов (IPF) является биомаркером остаточной реактивности тромбоцитов и прогностическим фактором эффективности антитромбоцитарной терапии.

Таблица 1 Антитромбоцитарное действие аспирина было снижено у пациентов с ишемической болезнью сердца с повышенной IPF. АК = арахидоновая кислота; АДФ = аденозиндифосфат; OPT = остаточная реактивность тромбоцитов. На основе исследования Grove с соавт. [10].

АК 1,0 ммоль	Нет OPT (n = 58)	+ OPT (n = 58)	Значение p
Количество тромбоцитов (10 ⁹ /л)	205 (186–234)	254 (237–305)	< 0,0001
MPV (fL)	10,8 ± 0,9	11,0 ± 0,8	0,038
IPF (%)	3,0 (2,0–4,2)	3,4 (2,3–4,9)	0,256
IPF# (10 ⁹ /л)	6,0 (4,5–9,1)	8,4 (6,4–12,4)	< 0,001
Collagen 1,0 µg/mL	Нет OPT (n = 58)	+ OPT (n = 61)	
Количество тромбоцитов (10 ⁹ /л)	194 (178–234)	250 (219–309)	< 0,0001
MPV (fL)	10,8 ± 0,8	11,1 ± 0,9	0,055
IPF (%)	3,1 (2,1–4,3)	3,4 (2,5–4,8)	0,207
IPF# (10 ⁹ /л)	6,1 (4,6–8,1)	8,4 (6,1–13,5)	< 0,0001
ADP 10 µM	Нет OPT (n = 58)	+ OPT (n = 61)	
Количество тромбоцитов (10 ⁹ /л)	194 (176–215)	262 (234–320)	< 0,0001
MPV (fL)	10,9 ± 0,8	11,0 ± 1,0	0,746
IPF (%)	2,8 (2,2–4,2)	3,4 (2,0–4,8)	0,579
IPF# (10 ⁹ /л)	5,6 (4,5–7,0)	8,4 (5,8–13,6)	< 0,0001
VerifyNow® Aspirin	Нет OPT (n = 59)	+ OPT (n = 58)	
Количество тромбоцитов (10 ⁹ /л)	214 (192–267)	238 (208–283)	0,055
MPV (fL)	11,0 ± 0,9	11,0 ± 0,9	0,860
IPF (%)	3,0 (2,1–4,3)	3,4 (2,5–4,7)	0,245
IPF# (10 ⁹ /л)	6,6 (5,0–8,9)	8,2 (5,4–11,7)	0,060

Grove с соавт. (2011 г.) исследовали влияние обновления тромбоцитов на антитромбоцитарное действие

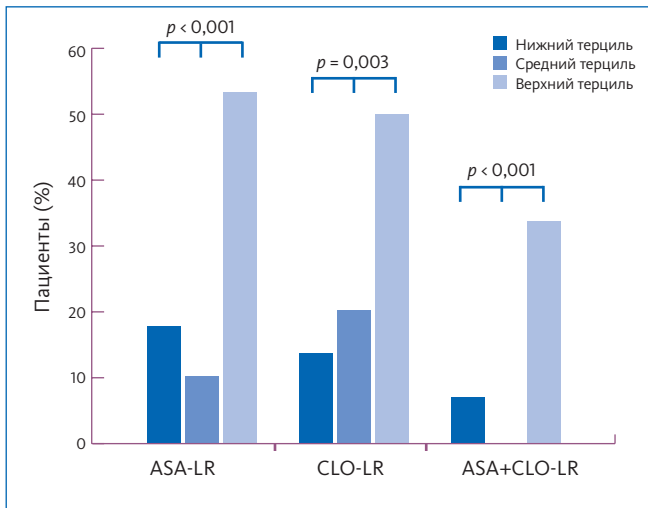


Рис. 4 Процент пациентов со слабой реакцией на аспирин (ASA-LR), клопидогрель (CLO-LR) и аспирин с клопидогрелем (ASA+CLO-LR) в терцилях незрелых тромбоцитов. На основе исследования Guthikonda с соавт. [6].

аспирина у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца (ИБС). Обновление тромбоцитов оценивалось методом подсчета незрелых тромбоцитов у 177 пациентов со стабильной ИБС, проходящих монотерапию аспирином. Как показано в таблице 1, антитромбоцитарное действие аспирина было снижено у пациентов с ИБС с повышенной IPF [10].

Тромбоз стента – опасное осложнение коронарного стентирования. В исследовании Wurtz с соавт. (2010 г.), включающем 117 пациентов, ранее прошедших чрескожную коронарную ангиопластику, было установлено, что у пациентов с перенесенным тромбозом стента антитромбоцитарное действие аспирина было снижено вследствие более высокой остаточной агрегации тромбоцитов [7].

В исследовании Guthikonda с соавт. (2008 г.) было установлено, что доля циркулирующих незрелых тромбоцитов в значительной степени коррелирует с реакцией на антитромбоцитарную терапию у пациентов со стабильной ИБС. 90 пациентов были стратифицированы на терцили в зависимости от количества незрелых тромбоцитов (в процентах), определенного методом проточной цитометрии. Как показано на рис. 4, частота слабой реакции на аспирин была значительно выше в верхнем терциле (53 %) по сравнению со средним (10 %) и нижним (17 %) терцилями. Частота слабой реакции на клопидогрель также была выше в верхнем терциле (50 %) по сравнению с двумя другими терцилями (20 % и 13 % в среднем и нижнем терцилях соответственно) (рис. 4) [6].

В исследовании Ibrahim с соавт. (2012 г.), целью которого было определение изменения антитромбоцитарного действия клопидогреля под влиянием незрелых тром-

боцитов, оценивались 29 здоровых добровольцев перед приемом и спустя неделю после приема ежедневной дозы клопидогреля в количестве 75 мг. Добровольцы были стратифицированы на терцили в зависимости от количества незрелых тромбоцитов, определенного методом проточной цитометрии. Более высокий процент пациентов со слабой реакцией на АДФ в концентрации 5 мкмоль после клопидогреля был выявлен в верхнем терциле по сравнению с нижним терцилем незрелых тромбоцитов (54 % против 23 % соответственно) [15].

Perl с соавт. (2014 г.) в своем исследовании ставили целью определить, связана ли реакция на прасугрел с долей циркулирующих незрелых тромбоцитов у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST (STEMI). В исследование было включено 62 пациента. На ранней стадии уровни незрелых тромбоцитов, полученные методом проточной цитометрии, в значительной степени коррелировали с реактивностью тромбоцитов при оценке с помощью анализа P2Y12 и многоканальной агрегометрии. В верхнем терциле незрелых тромбоцитов отмечалась повышенная реактивность тромбоцитов по сравнению со средним и нижним терцилями. Аналогичные результаты со значительными корреляциями между количеством незрелых тромбоцитов и реактивностью тромбоцитов были отмечены через 30 дней после первичной чрескожной коронарной ангиопластики (рис. 5) [16].

Недавно был опубликован ряд других исследований, аналогично демонстрирующих высокую корреляцию между агрегацией тромбоцитов и повышенной IPF или значениями IPF у пациентов с ишемической болезнью сердца, проходящих лечение тикагрелором, прасугрелом или двойную антитромбоцитарную терапию [4, 17 – 18].

Повышенное количество незрелых тромбоцитов связано с риском возникновения нежелательных сердечно-сосудистых явлений

Основные причины атеротромбоза включают нарушенное кровообращение, повреждение эндотелиальных клеток и повышенную свертываемость крови. Данные факторы могут способствовать переходу стабильной ИБС в ОКС. Существенным механизмом, лежащим в основе данных болезней, является атеросклероз. Тромбоциты являются ключевыми элементами в ОКС, поскольку они представляют собой основной компонент тромбов у пациентов с ОКС. Поскольку при образовании тромбов происходит потребление тромбоцитов, количество тромбоцитов компенсируется за счет их повышенного образования, что приводит к повышен-

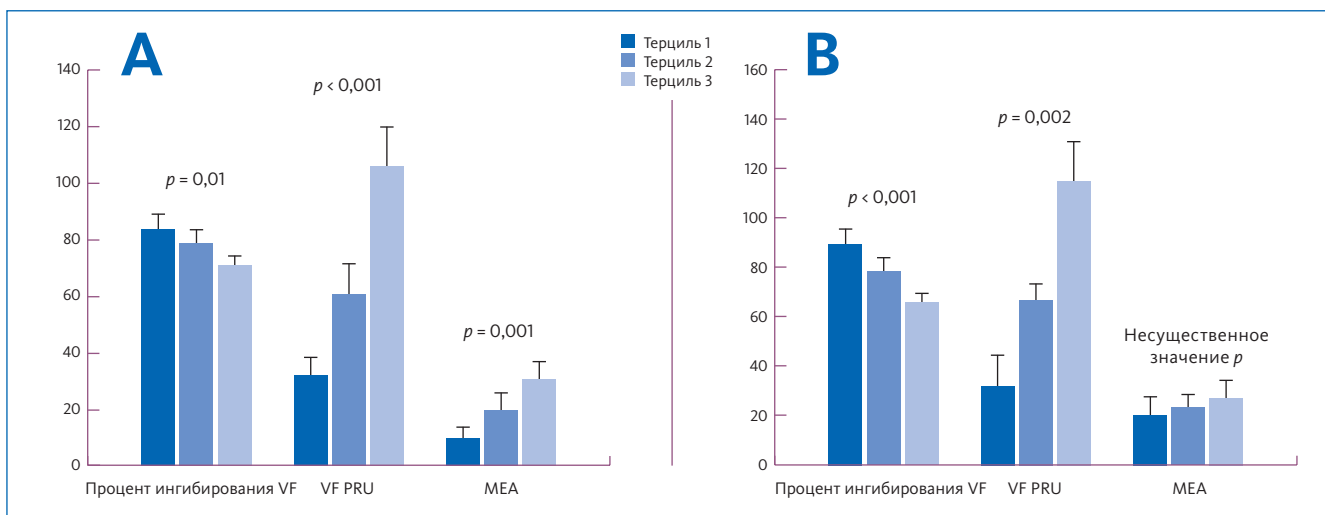


Рис. 5 Оценка реактивности тромбоцитов по терцилям незрелых тромбоцитов была выполнена путем сравнения трех терцилей после проведения чрескожной коронарной ангиопластики на 2–4 дни (А) и 30 день (В). VF: анализ тромбоцитарной функции VerifyNow P2Y12; PRU: реакционные единицы P2Y12; MEA: многоканальная агрегометрия. На основе исследования Perl с соавт [16].

Таблица 2 Терциль с высокой IPF был связан с более высокой частотностью значимых нежелательных сердечно-сосудистых явлений по сравнению с промежуточной и нижней терцилями. На основе исследования Ibrahim с соавт [22].

	Всего (n = 89)	Терциль IPF ($10^9/\text{л}$)			Значение p
		Нижний (1,364 – 5,836) (n = 30)	Средний (5,836 – 9,272) (n = 29)	Верхний (9,272 – 27,520) (n=30)	
Смерть	10 (11,2)	1 (3,3)	3 (10,3)	6 (20)	0,047
NSTEMI	11 (12,4)	1 (3,3)	3 (10,3)	7 (23,3)	0,023
Госпитализация в связи с ангиной	7 (7,9)	2 (6,7)	1 (3,4)	4 (13,3)	0,175
Реваскуляризация	6 (6,7)	1 (3,3)	1 (3,4)	4 (13,3)	0,116
ЗНССЯ (комбинация)	30 (33,7)	5 (16,7)	7 (24,1)	18 (60)	< 0,001

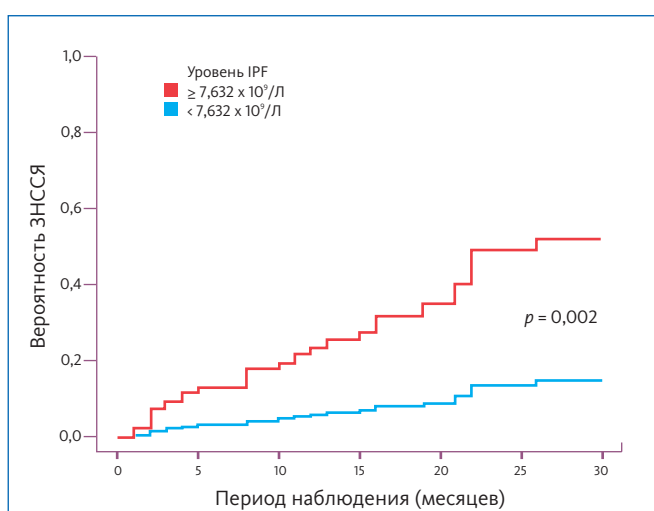


Рис. 6 Уровень IPF $\geq 7,632 \times 10^9/\text{л}$ был связан с повышенным риском развития значимых нежелательных сердечно-сосудистых явлений. На основе исследования Ibrahim с соавт [22].

ному количеству незрелых тромбоцитов в периферической крови. Несколько авторов подтвердили связь между повышенной фракцией или значениями подсчета незрелых тромбоцитов и повышенным риском развития серьезных сердечно-сосудистых явлений [1–2, 19–21].

В исследовании Ibrahim с соавт. (2014 г.) была установлена тесная связь IPF со значимыми нежелательными сердечно-сосудистыми явлениями (ЗНССЯ) [22]. В проспективном когортном исследовании пациентов с ИБС наблюдение осуществлялось по комбинированной конечной точке ЗНССЯ, определенной как комбинация смертности по всем причинам, инфаркта миокарда, внеплановой реваскуляризации или госпитализации в связи с ангиной. 89 пациентов наблюдали в среднем в течение 31 месяца. Стратификация в терциль с высокой IPF была связана с более высокой частотностью ЗНССЯ по сравнению с промежуточной и нижней терцилями (60% против 24% против 17% соответственно) (таблица 2). Анализ графика зависимости чувствительности от частоты ложноположительных заключений выявил, что уровень IPF $\geq 7,632 \times 10^9/\text{л}$ имел чувствительность 70,7% и специфичность 82,1% для ЗНССЯ. У пациентов с уровнем IPF $\geq 7,632 \times 10^9/\text{л}$ вероятность возникновения ЗНССЯ была выше (отношение шансов: 4,65) (рис. 6).

Заключение и клиническая интерпретация

Оценка эффективности антитромбоцитарных препаратов и прогнозирование будущих сердечно-сосудистых осложнений имеют большое значение для многих пациентов. Незрелые тромбоциты обладают большей реактивностью, чем зрелые, и имеют повышенный протромботический потенциал. Истощение тромбоцитов при тромбообразовании компенсируется высвобождением незрелых тромбоцитов с более высоким агрегационным потенциалом. Повышенная реактивность незрелых тромбоцитов снижает действенность нескольких антитромбоцитарных препаратов в отношении ингибирования агрегационной активности тромбоцитов.

Количество (фракция) незрелых тромбоцитов (IPF) – новый гематологический диагностический параметр, определяемый в ходе стандартного лабораторного анализа крови, который может быть выполнен вместе с общим анализом крови. IPF является биомаркером слабой эффективности антитромбоцитарных препаратов, обусловленной остаточной реактивностью тромбоцитов, и обладает более высокой прогностичностью по сравнению с традиционными исследованиями тромбоцитарной функции [23]. Количество незрелых тромбоцитов может использоваться при оценке риска возникновения нежелательных сердечно-сосудистых явлений.

Ссылки

- [1] Grove et al. (2009): Immature platelets in patients with acute coronary syndromes. *Thromb Haemost.* 101(1):151–6.
- [2] Lakkis et al. (2004): Reticulated platelets in acute coronary syndrome: a marker of platelet activity. *J Am Coll Cardiol.* 44(10):2091–3.
- [3] McBane et al. (2014): Propensity for young reticulated platelet recruitment into arterial thrombi. *J Thromb Thrombolysis.* 37(2):148–54.
- [4] Bernlochner et al. (2015): Impact of immature platelets on platelet response to ticagrelor and prasugrel in patients with acute coronary syndrome. *Eur Heart J.* 36(45):3202–10.
- [5] Stratz et al. (2016): Comparison of Immature Platelet Count to Established Predictors of Platelet Reactivity During Thienopyridine Therapy. *J Am Coll Cardiol.* 68(3):286–93.
- [6] Guthikonda et al. (2008): Role of reticulated platelets and platelet size heterogeneity on platelet activity after dual antiplatelet therapy with aspirin and clopidogrel in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 52(9):743–9.
- [7] Wurtz M et al. (2014): 24-hour antiplatelet effect of aspirin in patients with previous definite stent thrombosis. *Int J Cardiol.* 175:274–9.
- [8] Henry P et al. (2011): 24-hour time-dependent aspirin efficacy in patients with stable coronary artery disease. *Thromb Haemost.* 105:336–44.
- [9] Christensen KH et al. (2014): Reduced antiplatelet effect of aspirin during 24 hours in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes. *Platelets.* 26:230–5.
- [10] Grove EL et al. (2011): Effect of platelet turnover on whole blood platelet aggregation in patients with coronary artery disease. *J Thromb Haemost.* 9:185–91.
- [11] Capodanno D et al. (2011): Pharmacodynamic effects of different aspirin dosing regimens in type 2 diabetes mellitus patients with coronary artery disease. *Circ Cardiovasc Interv.* 4:180–7.
- [12] Grove EL et al. (2014): Can we improve the efficacy of low-dose aspirin? *Thromb Haemost.* 112:1077–8.
- [13] Guthikonda et al. (2007): Reticulated platelets and uninhibited COX-1 and COX-2 decrease the antiplatelet effects of aspirin. *J Thromb Haemost.* 5(3):490–6.
- [14] Pascale et al. (2012): Aspirin-insensitive thromboxane biosynthesis in essential thrombocythemia is explained by accelerated renewal of the drug target. *Blood.* 119(15):3595–603.
- [15] Ibrahim et al. (2012): Immature platelet fraction (IPF) determined with an automated method predicts clopidogrel hyporesponsiveness. *J Thromb Thrombolysis.* 33(2):137–42.
- [16] Perl et al. (2014): Response to prasugrel and levels of circulating reticulated platelets in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 63(6):513–7.
- [17] Cesari et al. (2008): Relationship between high platelet turnover and platelet function in high-risk patients with coronary artery disease on dual antiplatelet therapy. *Thromb Haemost.* 99(5):930–5.
- [18] Baaten et al. (2015): Gradual increase in thrombogenicity of juvenile platelets formed upon offset of prasugrel medication. *Haematologica.* 100(9):1131–8.
- [19] Grove et al. (2011): Increased platelet turnover in patients with previous definite stent thrombosis. *J Thromb Haemost.* 9(7):1418–9.
- [20] Cesari et al. (2013): Reticulated platelets predict cardiovascular death in acute coronary syndrome patients. Insights from the AMI-Florence 2 Study. *Thromb Haemost.* 109(5):846–53.
- [21] Lopez-Jimenez et al. (2013): Immature platelet fraction: a new prognostic marker in acute coronary syndrome. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 66(2):147–8.
- [22] Ibrahim et al. (2014): Association of immature platelets with adverse cardiovascular outcomes. *J Am Coll Cardiol.* 64(20):2122–9.
- [23] Freynhofer et al. (2015): Antiplatelet drugs in patients with enhanced platelet turnover: biomarkers versus platelet function testing. *Thromb Haemost.* 114(3):459–68.

Получите новые знания из общедоступных информационных буклетов компании Sysmex:
www.sysmex.ru/whitepapers