

Перспективное многоцентровое наблюдательное исследование ПРОТОКОЛ: Персонализированная терапия клопидогрелом при стентировании по поводу Острого Коронарного синдрома с учётом генетических полиморфизмов

Лифшиц Г.И.^{1,2}, Апарцин К.А.^{2,3}

¹ — Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН

² — Иркутский научный центр Сибирского отделения РАН

³ — Иркутский научный центр хирургии и травматологии

Резюме. Клопидогрел остаётся основным препаратом для антитромбоцитарной терапии у пациентов, получивших стентирование коронарных сосудов (СКС) по поводу острого коронарного синдрома (ОКС). Представлены обоснование и дизайн наблюдательного исследования, направленного на проверку гипотезы о том, что высокая частота генетического полиморфизма цитохрома CYP2C19*2 ассоциирована с тромбозом коронарного стента, а также с парадоксальным ответом на приём клопидогрела у жителей Сибири, получивших СКС по поводу ОКС. Регистрация ответа на клопидогрел будет проведена с помощью световой трансмиссионной агрегометрии (турбидиметрический метод) в присутствии АДФ. На протяжении 30 сут после СКС пациенты, получающие клопидогрел, пройдут 4 визита для оценки эффективности (конечная точка — ранний тромбоз стента) и безопасности (все случаи кровотечения) антитромбоцитарной терапии с учётом генетического профиля. Этическое сопровождение исследования проводится как в учреждениях — разработчиках протокола, так и в исследовательских центрах. В настоящее время открыто 4 центра, имеющих опыт участия в многоцентровых клинических исследованиях, с ожидаемыми количеством СКС и частотой осложнений, локальная практика которых предусматривает рутинное определение агрегации тромбоцитов. Организаторы приглашают к участию в исследовании ПРОТОКОЛ заинтересованные центры Сибирского Федерального округа в 2015 г.

Ключевые слова: клопидогрел, стентирование коронарных сосудов, острый коронарный синдром, персонализированная терапия, световая трансмиссионная агрегометрия, резистентность к клопидогрелу, парадоксальный ответ, генетические полиморфизмы, наблюдательное исследование

Prospective multicenter observational the personalized therapy with clopidogrel for stenting in acute coronary syndrome regarding the genetic polymorphisms (PROTOCOL) study

Lifshits G.I.^{1,2}, Apartsin K.A.^{2,3}

¹ — Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of Siberian Branch of the Russian Academy of Science

² — Irkutsk Scientific Centre of Siberian Branch of the Russian Academy of Science

³ — Irkutsk Scientific Centre for Surgery and Traumatology

Abstract. Clopidogrel remains the main antiplatelet therapy drug for patients after coronary stenting (CS) due to acute coronary syndrome (ACS). The paper contains substantiation and design of an observatory study with the purpose to test the hypothesis that high frequency of of cytochrome CYP2C19*2 polymorphism is associated with coronary stent thrombosis and with paradoxical response to clopidogrel in Siberian residents after CS due to ACS. Response to clopidogrel will be registered by means of light transmission aggregometry (turbidity method) in presence of adenosine diphosphate. Over the period of 30 days after coronary stenting, patients receiving clopidogrel will undergo 4 visits to assess antiplatelet therapy efficacy (end point — early stent thrombosis) and safety (all bleeding events), with consideration of genetic profile. Ethic support of the study

is provided both by protocol-developing institutions and research centers. Four centers with experience of participation in multicenter clinical trials are presently available, with anticipated number of coronary stenting and frequency of end-point events and requiring routine measurement of platelet aggregation. Authors are inviting all interested centers of the Siberian Federal District to participate in the PROTOCOL study in 2015.

Keywords: clopidogrel, coronary stenting, acute coronary syndrome, personalized therapy, light transmission aggregometry, clopidogrel resistance, paradoxical response, genetic polymorphisms, observational study

Автор, ответственный за переписку:

Лифшиц Галина Израилевна — доктор медицинских наук, заведующая лабораторией персонализированной медицины Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН; E-mail: gl62@mail.ru, тел. +7 (913) 907-16-19

Актуальность проблемы антиагрегантной терапии у пациентов, получивших стентирование коронарных сосудов (СКС) по поводу острого коронарного синдрома (ОКС)

Одним из основных препаратов для антитромбоцитарной терапии в кардиологии является клопидогрел, использование которого позволяет снизить частоту тромботических осложнений. Так, клопидогрел применяется у пациентов с ОКС, включая тех, которым было проведено СКС при чрескожном коронарном вмешательстве (ЧКВ). Стандартная схема назначения клопидогрела предусматривает нагрузочную дозу в 300 мг и затем поддерживающую дозу 75 мг ежедневно; увеличенная дозировка включает введение 600 мг в нагрузочной дозе, затем 150 мг на протяжении 6 дней и после этого — 75 мг в сутки [1] или же поддерживающую дозу 150 мг в сутки на протяжении 6 мес. [2]. Часто используется двойная антитромбоцитарная терапия, подразумевающая совместный приём клопидогрела и препаратов ацетилсалициловой кислоты, как для длительного лечения, так и кратковременно (в течение 1 месяца после ЧКВ со стентированием) [2], хотя в настоящее время показано, что применение клопидогрела без сочетания с аспирином ассоциировано с существенным снижением геморрагических осложнений без повышения частоты тромботических событий [3]. Несмотря на присутствие на рынке новых антитромбоцитарных препаратов — прасугреля и тикагрелора, которые рекомендованы всем пациентам с ОКС без противопоказаний, клопидогрел остаётся препаратом первой линии в силу значительных различий в доступности инновационных ингибиторов P2Y₁₂ в странах Европы [4]. Антитромбоцитарная терапия для оптимизации результатов СКС должна обеспечивать баланс между минимизированным риском тромбоза стентов и риском кровотечения [4].

Генетические предпосылки развития резистентности и подходы в персонализированной терапии клопидогрелом. Одной из причин неэффективности антитромбоцитарной терапии, манифестирующей тромбозом стента после СКС, является изменение активности белков, участву-

ющих в транспорте и метаболизме клопидогрела, в частности, Р-гликопротеина (кодируемого геном ABCB1) и белков системы цитохрома P450, особенно, CYP2C19. Изменение функциональных свойств белков может быть обусловлено наличием полиморфных вариантов кодирующих их генов. Так, полиморфные варианты *2 и *3 CYP2C19 ассоциированы со снижением активности фермента и повышением риска тромбозов, что в свою очередь приводит к увеличению риска смерти от сердечно-сосудистых событий на 53% [5].

Показано, что пациенты — носители хотя бы одного аллеля CYP2C19*2 имеют более высокую реактивность тромбоцитов после приёма клопидогрела, что ассоциируется с плохим клиническим исходом после СКС и повышением вероятности тромбоза [4-7].

Неравномерностью встречаемости генетических полиморфизмов в разных этнических группах объясняются различия клинической эффективности и безопасности клопидогрела. Так, встречаемость носителей двух дефектных генов CYP2C19, определяющих изменённый метаболизм составляет у европеоидов и негроидов 1-8% и 13-23% у азиатов [8], а это является существенным для гетерогенной популяции Сибири [9].

Генетически детерминированная высокая реактивность тромбоцитов, измеренная в присутствии АДФ, является мощным предиктором тромбоза у пациентов, получающих клопидогрел после СКС. В исследовании GRAVITAS было получено доказательство эффективности назначения повышенной дозировки клопидогрела (нагрузочная доза в 600 мг и поддерживающая доза 150 мг в сутки) у этой группы пациентов [10-11]. Считается, что пациенты с высоким риском тромбоза стентов, определённым путём оценки реакции тромбоцитов на антиагрегантную терапию, могут получить больше пользы от интенсификации лечения, чем субъекты с низким риском тромбоза [4]. В то же время необходимы дальнейшие исследования режимов персонализированной антитромбоцитарной терапии, учитывающей функциональное состояние тромбоцитов в ответ на терапию и возможности дифференцированного подхода к назначению антиагрегантов — прасугреля, тикагрелора и клопидогреля — для улучшения исходов у пациентов с ОКС [12].

Способы инструментальной оценки функционального состояния тромбоцитов как показателя эффективности терапии клопидогрелом. Как установлено в исследовании POPULAR, методы, основанные на регистрации агрегации тромбоцитов, а именно световая трансмиссионная агрегометрия в присутствии АДФ, тесты Verify Now P2Y12 (автоматизированный) и Plateletworks (полуавтоматический), позволяют выявить высокую реактивность тромбоцитов при лечении, в отличие от других методов оценки функционального состояния. При этом дискриминационная способность была наибольшей у трансмиссионной агрегометрии. Этот тест позволял выявить пациентов с повышенным риском тромбоза наиболее точно по сравнению с двумя другими [13] или несущественно отличался по операционным характеристикам от более высокотехнологичного теста VerifyNow [14], несмотря на большое количество технических ограничений и преаналитических особенностей. К таковым относятся: необходимость коррекции соотношения объёмов антикоагулянта (ЭДТА или цитрата) и крови при величине гематокрита менее 30 и более 55%; выраженное влияние сопутствующей терапии (НПВП, ацетилсалициловая кислота) на агрегационную функцию тромбоцитов; нестандартное количество тромбоцитов в образце; неточности определения оптической плотности из-за царапин на пробирках/кюветках; некачественная обработка магнитных мешалок при повторном использовании [15]. Другой проблемой применения световой трансмиссионной агрегометрии является отсутствие стандартизации метода и строгих рекомендаций по концентрации АДФ как индуктора агрегации, применяемого в концентрациях 5-20 мкмоль/л (концентрация 10 мкмоль/л соответствует 4,27 мкг/мл АДФ) [16-24].

Существует так называемый парадоксальный лабораторный ответ на клопидогрел, когда приём препарата приводит не к снижению, а к повышению агрегации тромбоцитов с АДФ. В исследовании на сибирской популяции выявлена существенно более высокая частота этого ответа, чем описанная в литературе — 12,5% против 2% [16], что позволяет предположить большую генетическую вариабельность цитохрома CYP2C19 и ожидаемо высокую частоту тромбоза стентов в этой связи.

Таким образом, с одной стороны актуальная проблема персонализации антитромбоцитарной терапии для профилактики тромботических осложнений после СКС не нашла решения для больных ОКС на территории Сибири вследствие неизученности частоты встречаемости полиморфных вариантов цитохрома CYP2C19 и парадоксальной реакции на приём клопидогрела, основного на сегодняшний день тиенопиридина, применяемого после СКС. Известно, что гетерогенность сибирской популяции определяет особенности персонализированного подхода у пациентов с сердечно-сосудистой патологией [25, 26].

С другой стороны, успешный опыт участия исследовательских центров Сибири в международных исследованиях по профилактике тромботических осложнений показывает готовность к реализации многоцентровых исследовательских проектов в рамках региона [27]. Выбранный дизайн — наблюдательное исследование — является мощным инструментом клинической эпидемиологии и трансляционной медицины [8], развитие которой в медицинских учреждениях Российской академии наук является трендом и происходит в настоящее время. Указанные предпосылки определили содержание и дизайн исследования ПРОТОКОЛ.

Методика проведения исследования

Дизайн исследования. Многоцентровое когортное проспективное наблюдательное исследование, ограниченное территорией Сибири.

Цель исследования. Проверка гипотезы о том, что высокая частота встречаемости полиморфного варианта цитохрома CYP2C19*2 ассоциирована с тромбозом коронарного стента, а также с парадоксальным лабораторным ответом на приём клопидогрела у жителей Сибири, получивших стентирование коронарных сосудов по поводу острого коронарного синдрома.

Участники. Наблюдательное исследование, в котором пациенты, поступающие по экстренным показаниям для ЧКВ и СКС по поводу ОКС, получившие нагрузочную дозу клопидогрела в пределах 6 ч до начала ЧКВ, и ежедневно получающие клопидогрел в поддерживающей дозе до 30 сут после СКС, проходят 3 визита (48 ± 6 ч после СКС, день выписки из стационара и 30 ± 3 сут после СКС) для оценки конечных точек эффективности и безопасности. Для сравнительного анализа конечных точек пациенты будут стратифицированы по носительству CYP2C19*2 и выявлению парадоксальной реакции на приём клопидогрела, установленной в результате динамической оценки агрегации тромбоцитов турбидиметрическим методом при поступлении в стационар и 48 ± 6 ч после СКС. В качестве конечной точки эффективности выступает определённый или вероятный тромбоз коронарного стента по критериям Academic Research Consortium. В качестве конечной точки безопасности выступают большие и умеренные клинически значимые кровотечения. Сбор данных на визитах 1-3 будет проведён в форме осмотра, на визите 4 — в форме телефонного контакта.

Критерии включения в исследование:

1. диагноз ОКС, требующий неотложной госпитализации и проведения СКС;
2. наличие информированного согласия субъекта на участие в наблюдательном исследовании;
3. забор образца крови для определения агрегации тромбоцитов турбидиметрическим методом не позже, чем через 2 ч после приёма субъектом исследования нагрузочной дозы клопидогрела.

Критерии не включения/исключения из исследования:

1. предшествующий (последние 14 дней) приём клопидогрела и/или антикоагулянтов;
2. тромболитическая терапия на догоспитальном этапе;
3. активное (клинически значимое) кровотечение на момент скрининга;
4. известная непереносимость клопидогрела в анамнезе;
5. ЧКВ без СКС (например, диагностическая процедура или баллонная ангиопластика);
6. отказ пациента от участия в исследовании на любом из его этапов;
7. неспособность субъекта, по мнению исследователя, к взаимодействию (опросу) на визите 4, проводимом в форме телефонного контакта.

Процедуры исследования. Переменные для сравнительного анализа (варианты) будут регистрироваться в соответствии с литературными рекомендациями [28].

На визите 2 будет проведена регистрация следующих параметров:

- возраст, пол (критерий — мужской);
- сопутствующая патология: наличие в анамнезе артериальной гипертензии, гиперхолестеринемии, сахарного диабета;

- семейного анамнеза по ССЗ;
- курение;
- фракция выброса левого желудочка (критерий — менее 45%); почечная недостаточность; инфаркт миокарда в анамнезе;
- приём аспирина до начала текущего эпизода; нагрузочная доза клопидогреля; приём ингибиторов протонной помпы; приём варфарина;
- количество тромбоцитов, гемоглобина, лейкоцитов (последнее значение из имеющихся на момент визита);
- количество имплантированных стентов; минимальный диаметр стента (мм); общая длина стентов (мм); бифуркационное поражение коронарного сосуда; применение стента с лекарственным покрытием; стентирование ПМЖА (левая передняя нисходящая артерия).

Данные переменные будут перенесены из первичной документация (карта стационарного больного) в формы, разработанные для данного исследования и являющиеся источником данных и компонентом первичной медицинской документации.

Процедуры исследования представлены в таблице.

Таблица

Процедуры исследования ПРОТОКОЛ

Процедуры исследования	Визиты			
	1 госпитализация /включение	2 48±6 ч после СКС	3 День выписки	4 30±3 сут после СКС
Получение информированного согласия (консилиум при необходимости)	x			
Подтверждение диагноза / показаний к ЧКВ / сбор анамнеза и обследование *	x			
Забор крови на лабораторное обследование, включая агрегацию тромбоцитов * + Кровь на генетическое исследование (2 мл с ЭДТА, 2-8°C)	x*	x* x		
Регистрация времени от нагрузочной пробы (клопидогрел 300 мг) до забора крови на АгрТ (2 ч)	x			
ЧКВ: Регистрация количества и типа стентов; баллонная ангиопластика — выбитие (около 15%)	x			
Оценка критериев включения и не включения	x			
Включение пациента	x			
Регистрация переменных (вариант) для сравнительного анализа	x			
Оценка сопутствующей терапии *	x	x	x	x
Определение конечной точки эффективности: определённый или вероятный тромбоз стента согласно Academic Research Consortium (2006 г.)		x	x	x
Определение конечной точки безопасности (кровотечения) по TIMI		x	x	x
Оценка комплайенса по клопидогрелю		x	x	x
Регистрация НЯ/СНЯ		x	x	x

Примечания: * — локальная практика; НЯ — нежелательные явления; СНЯ — серьёзные нежелательные явления.

В данном наблюдательном исследовании подтверждение диагноза ОКС, определение показаний к ЧКВ, забор анализов для лабораторного обследования, процедура ЧКВ/СКС и ведение послеоперационного периода вплоть до выписки будет проводиться в соответствии с локальной практикой и существующими медико-экономическими стандартами, локальными стандартными операционными процедурами, действующими в каждом исследовательском центре.

Протокол-специфичными являются требования к забору крови для генетического исследования и времени забора анализов для определения агрегации тромбоцитов. Забор материала для данных анализов не должен причинять дополнительных неудобств пациенту, т.к. проводится вместе с забором крови для лабораторного обследования, предусмотренного стандартными операционными процедурами данного исследовательского центра. Дополнительная диагностическая информация, полученная в результате определения агрегации тромбоцитов во время текущей госпитализации не будет использована для изменения тактики лечения иначе, чем предусмотрено локальной практикой в данном исследовательском центре.

Время забора крови для определения агрегации тромбоцитов. Процедура на первом визите должна быть проведена как можно раньше при поступлении пациента в стационар, в рамках локальной практики, применимой к пациенту, поступающему в экстренном порядке. Время забора, а также выполнения анализов должно быть зафиксировано в первичной медицинской документации. В соответствии с общими требованиями, исследовать агрегацию тромбоцитов необходимо в течение 4 ч после забора анализа, сохраняя пробирку с цитратной кровью при комнатной температуре. Определение агрегации тромбоцитов на визите 2 проводится в соответствии с локальной практикой в рабочее время, соответствующее интервалу 42-54 ч с момента завершения СКС [15].

Технология определения агрегации тромбоцитов должна быть одинаковой для первичного и повторного определения, включая используемое оборудование и концентрацию АДФ. По результатам повторного определения агрегации тромбоцитов, выраженной в процентах, будет рассчитан показатель резистентности (ПР) по формуле:

$$\text{ПР (\%)} = \frac{\text{АТ}_0 - \text{АТ кл}}{\text{АТ}_0} \times 100\%,$$

где АТ_0 — агрегация тромбоцитов при поступлении (визит 1);

АТ кл — агрегация тромбоцитов (визит 2).

Парадоксальным ответом на приём клопидогреля будет считаться любое отрицательное значение ПР.

Также будут выделены группы пациентов со значениями ПР:

- 0-10% — нечувствительные к клопидогрелю;
- 11-30% — промежуточный результат;
- свыше 30% — чувствительные к клопидогрелю [17].

Забор крови и процедура молекулярно-генетического исследования. В вакутейнер или пластиковую пробирку, содержащие ЭДТА или цитрат в качестве антикоагулянта, через достаточно широкую иглу самотёком будет собрано не менее 2 мл венозной крови. Содержимое будет тщательно перемешано переворачиванием пробирки 10-15 раз для предотвращения образования микросгустков крови, которые мешают выделению ДНК. Образец будет помечен индивидуальным номером пациента и датой забора и в дальнейшем будет храниться в вертикальном положении при температуре 2-8°C (бытовой холодильник) до 30 суток, в течение которых будет организована отправка материала в лабораторию молекулярной диагностики Института химической биологии и фундаментальной медицины.

Выделение ДНК будет проводиться с помощью фенол-хлороформной экстракции по стандартной методике [29]. Молекулярно-генетическое исследование будет проведено при сборе более 48 образцов ДНК с помощью полимеразной цепной реакции в «реальном времени» с выявлением нуклеотидной замены методом конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК. Для каждого образца ДНК будет проведено определение генотипа полиморфного варианта G681A (*2) гена CYP2C19.

Данные будут находиться в лаборатории молекулярной диагностики до тех пор, пока назначенное лицо не произведёт объединение базы данных, содержащей результаты определения ПР, наличие конечных точек эффективности и безопасности. Выделенный генетический материал будет сохранён в лаборатории, чтобы обеспечить возможность проведения дополнительных молекулярно-генетических исследований в будущих протоколах, если таковая необходимость возникнет.

Оценка конечных точек эффективности. Конечной точкой эффективности будет являться определённый или вероятный ранний тромбоз коронарного стента согласно классификации Academic Research Consortium (2006 г.) [30].

Ранним будет считаться тромбоз стента, произошедший в первые 30 дней после СКС, т.е. вплоть до визита 4. Конечная точка эффективности будет выявлена при осмотре пациента и изучении первичной медицинской документации на визитах 2-3 и при телефонном контакте с субъектом и/или его родственниками на визите 4. Будут использованы следующие критерии:

Определённый тромбоз стента. Требуется ангиографическое или патоморфологическое подтверждение.

1. Ангиографическое подтверждение, основанное на оценке кровотока по ТИМІ в сочетании с одним из признаков в течение 48 ч после стентирования:
 - А) новые симптомы ишемии в покое;
 - В) новые изменения на ЭКГ, соответствующие острой ишемии;
 - С) типичное изменение сердечных биомаркеров, соответствующее острому инфаркту миокарда.
2. Патоморфологическое подтверждение тромбоза стента на аутопсии или при исследовании материала после тромбэктомии.

Вероятный тромбоз стента:

1. любая необъяснимая смерть в первые 30 дней;
2. любой инфаркт миокарда на территории имплантированного стента без ангиографического подтверждения тромбоза стента и в отсутствие любой другой очевидной причины.

Оценка конечной точки безопасности. Конечной точкой безопасности будет являться любой случай большого или клинически значимого небольшого кровотечения согласно классификации Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) [31]:

Большие кровотечения:

- внутричерепные кровотечения;
- любые видимые (в т.ч. эндоскопически) кровотечения со снижением уровня гемоглобина ≥ 50 г/л или гематокрита $\geq 15\%$;
- тампонада сердца;
- смерть от кровотечения.

Умеренные кровотечения:

- любые видимые (в т.ч. эндоскопически) кровотечения со снижением уровня гемоглобина ≥ 30 г/л или гематокрита $\geq 10\%$;
- отсутствие видимого кровотечения со снижением уровня гемоглобина ≥ 40 г/л или гематокрита $\geq 12\%$.

Кроме того, к конечной точке безопасности будут отнесены все серьёзные нежелательные явления, зарегистрированные с момента включения пациента в исследование до завершения визита 4.

Оценка комплаенса по клопидогрелу. Будет проводиться на визите 3 во время осмотра пациента и на визите 4 при телефонном контакте с пациентом. Комплаенс будет рассчитан по формуле:

$$K (\%) = \frac{N_{\text{факт}}}{N_{\text{предпис}}} \times 100\%,$$

где $N_{\text{факт}}$ — фактическое количество доз клопидогрела, принятых пациентом с момента назначения первой поддерживающей дозы; $N_{\text{предпис}}$ — назначенное количество доз клопидогрела, включая первую поддерживающую дозу, до момента проведения визита.

Комплаенс менее 85% или свыше 115% будет являться поводом для стратификации пациентов по признаку комплаентности и оценке вклада некомплаентности в развитие конечных точек эффективности и безопасности.

Методы статистического анализа результатов для проверки исходной гипотезы. Для проверки гипотезы о том, что высокая частота полиморфизма гена цитохрома CYP2C19*2 ассоциирована с тромбозом коронарного стента, а также с парадоксальной реакцией на приём клопидогрела у жителей Сибири, получивших СКС по поводу ОКС, пациенты будут стратифицированы по наличию парадоксального ответа на клопидогрел, наличию полиморфизма CYP2C19 и отсутствию данных признаков, комплаентности по клопидогрелу. В сформированных стратах будет определена статистическая значимость различий по частотам развития конечных точек эффективности и безопасности с помощью точного двустороннего метода Фишера для четырёхпольной таблицы. Зарегистрированные количественные переменные будут анализированы в указанных стратах по статистической значимости различий с помощью теста Крускала-Уоллиса. Будет проведён разведочный анализ корреляций полиморфизма CYP2C19, а также наличия парадоксальной реакции с развитием конечных точек эффективности и безопасности. На основании разведочного анализа корреляций будет проведён факторный анализ с оценкой предикторных свойств полиморфизма CYP2C19 и парадоксальной реакции в отношении наступления конечных точек эффективности и безопасности.

Будет проведён анализ выживаемости пациентов в стратах носителей и не носителей полиморфизма CYP2C19*2, а также в стратах парадоксального ответа и не парадоксального ответа на клопидогрел тестом Каплана-Мейера. Будет проведён расчёт отношения шансов для когортного исследования в отношении развития конечных точек эффективности у пациентов-носителей полиморфизма CYP2C19, а также группы с парадоксальной реакцией. Данные будут представлены с 95% доверительным интервалом.

Количество исследовательских центров и пациентов в исследовательском центре. Данное наблюдательное исследование будет объединять исследовательские центры, открытые в крупных городах Сибири на базе научных и лечебных учреждений, оказывающих круглосуточную помощь пациентам с ОКС, включая высокотехнологичные виды медицинской помощи, такие как СКС, в 2013 г. Исходная концепция исследования, предусматривающая анализ распространённости полиморфизма гена CYP2C19*2 и парадоксальной реакции у жителей Сибири, предполагает возможно более широкий охват сибирских регионов и всех этнических групп, однако инициация исследовательских центров будет ограничена требованиями пригодности, а также наличием квалифицированной команды исследователей.

На этапе оценки пригодности исследовательские центры пройдут анкетирование, цель которого определить соответствие мощности (количества СКС в год) и результатов работы центра обобщённым данным литературы, а именно: свыше 300 пациентов, получивших СКС по поводу ОКС в год; частота раннего тромбоза стента, острого инфаркта миокарда и смерти от сердечно-сосудистых причин, достигающих (по данным отчёта за последний полный год) в совокупности 7,8% (непосредственно тромбоз стента — до 1,9%) к 30-м суткам после СКС [32], а также возможность проводить оценку агрегации тромбоцитов в рамках локальной практики.

Расчёт необходимого количества пациентов, которых необходимо скринировать в данном центре для достижения заданного количества включённых в наблюдательное исследование субъектов будет основываться на частоте ранних тромбозов стента (конечных точек эффективности), частота которых приблизительно в 3 раза выше в группе носителей генетического полиморфизма гена CYP2C19*2 [32] и распространённости парадоксальной реакции, которая составила в пилотном исследовании, проведённом на сибирских пациентах, 12% [17].

Уровень статистической значимости различий при использовании двустороннего точного метода Фишера для четырёхпольной таблицы определён в 99% ($p \leq 0,01$) с учётом поправки Бонферрони на множественность сравнений.

Дополнительно количество скринированных пациентов будет увеличено в каждом исследовательском центре на 15% от достаточного для проверки исходной клинической гипотезы с учётом результатов ЧКВ (отказ от СКС в пользу других лечебных процедур) [33], а также возможного отзыва информированного согласия субъектом исследования и/или его законным представителем после включения. Выбывшие больные не будут заменяться в процессе исследования.

Каждому пациенту будет присвоен уникальный 8-значный номер, где первые 3 цифры обозначают код региона, в котором инициирован исследовательский центр, вторые 2 цифры — порядковый номер исследовательского центра в данном регионе, следующие 3 цифры — порядковый номер пациента в данном исследовательском центре.

Расчётная длительность исследования. Каждый пациент будет включён в исследование длительностью не более 33 суток, включая визит 4 (отдалённой оценки в форме телефонного контакта). При инициации исследовательский центр получит индивидуально рассчитанную норму включения субъектов, не превышающую количества больных, указанных в анкете по данным отчёта за последний полный год. Таким образом, максимальная продолжительность исследования превышает 1 год от мо-

мента инициации последнего исследовательского центра с ежегодным рассмотрением целесообразности сроков продления исследования (поправка к протоколу №1 от 12 февраля 2015 г.).

Общее суммарное количество включённых пациентов не является целевым показателем в отличие от числа субъектов, включённых в исследование в каждом конкретном центре, но по обобщённым оценкам не превышает 1500.

Регуляторные обязательства. Данное многоцентровое когортное проспективное наблюдательное исследование, ограниченное территорией Сибири, будет проводиться в соответствии с требованиями Национального стандарта Надлежащей клинической практики, ICH GCP в соответствии с современными представлениями о статусе наблюдательных исследований [34, 35].

Протокол разрабатывается с учётом положений STROBE, применимых в обсервационных исследованиях в интервенционной эпидемиологии [36].

Экспертный совет организации (ЭСО) / Независимый комитет по этике (НЭК). Пакет документов, включающий текст протокола многоцентрового когортного проспективного наблюдательного исследования, ограниченного территорией Сибири (ПРОТОКОЛ), форму информированного согласия, шаблоны протокол-специфичной повизитной первичной медицинской документации, будет представлен на одобрение в Комитет по биомедицинской этике Иркутского научного центра хирургии и травматологии, а после инициального одобрения — в экспертный совет по этике Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН.

Исследователь должен получить одобрение со стороны ЭСО/НЭК, осуществляющего этическое сопровождение деятельности соответствующего исследовательского центра, на участие в данном наблюдательном исследовании. В данное многоцентровое наблюдательное исследование будут включаться только те исследовательские центры, которые руководствуются этической экспертизой локальных ЭСО/НЭК и возглавлены опытным исследователем, имеющим опыт участия в клинических исследованиях, кто является одним из лидеров трансляционной медицины Сибири.

Организаторы и исследовательские центры

Учреждение, проводящее исследование:

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (директор — академик Власов В.В.), лаборатория персонализированной медицины (зав. и главный исследователь — д-р мед. наук Лифшиц Г.И.), ст. инженер Зеленская Е.М. Лаборатория фармакогенетики: зав. — канд. биол. наук Филипенко М.Л., с.н.с., к.б.н. Воронина Е.Н.

Коллабораторы:

Иркутский научный центр СО РАН (председатель Президиума — академик Бычков И.В.), отдел медико-биологических исследований и технологий, руководитель — профессор Апарцин К.А. Иркутский научный центр хирургии и травматологии (директор — член-корреспондент РАН Григорьев Е.Г.), лаборатория клинических исследований. Научные сотрудники: Выбиванцева А.В., Корякина Л.Б., Андреева Е.О.; лаборант-исследователь Демкова О.В.

Исследовательские центры:

03801 — Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Иркутская ордена «Знак Почета» областная клиническая больница. Главный врач: канд. мед. наук Дудин П.Е. Главный исследователь — д-р мед. наук Сараева Н.О. Соисследователи: Чуйко Е.С., Халтарова Т.М.

04201 — Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний» Сибирского отделения Российской

академии медицинских наук. Директор: профессор Барбараш О.Л. Главный исследователь: д-р мед. наук Ганюков В.И. Соисследователь: Кочергин Н.А.

05401 — Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Новосибирской области «Городская клиническая больница № 1», Новосибирск. Главный врач — к.м.н. Коваленко В.Ф. Главный исследователь: к.м.н. Барбарич В.Б. Соисследователь: Извеков М.П.

08601 — Бюджетное учреждение ХМАО-Югры Окружной кардиологический диспансер «Центра диагностики и сердечно-сосудистой хирургии», г. Сургут. Главный врач: к.м.н. Урванцева И.А. Главный исследователь: профессор Николаев К.Ю. Соисследователь: Комягина К.Ю.

Конфликт интересов

Работа выполняется в рамках государственного контракта. Номер государственного контракта/ Номер соглашения о предоставлении субсидии: 14.607.21.0066.

Литература

1. *The CURRENT—OASIS 7 Investigators.* Dose Comparisons of Clopidogrel and Aspirin in Acute Coronary Syndromes. // *N Engl J Med* 2010, 363 (10): 930-42.
2. *Matthew J. Price M.J., Berger P.B., Teirstein P.S., Tanguay J.-F., Angiolillo D.J. et al.* for the GRAVITAS Investigator. Standard- vs High-Dose Clopidogrel Based on Platelet Function Testing After Percutaneous Coronary Intervention. The GRAVITAS Randomized Trial. // *JAMA* 2011, 305(11): 1097-104.
3. *Dewilde W.J.M., Oirbans T., Verheugt F.W.A., Kelder J.C., De Smet B.J.G.L., Herrman J.-P. et al.* Use of clopidogrel with or without aspirin in patients taking oral anticoagulant therapy and undergoing percutaneous coronary intervention: an open-label, randomised, controlled trial. // *Lancet* 2013, 381(9872): 1107-15.
4. *Aradi D., Storey R.F., Komócsi A., Trenk D., Gulba D., Kiss R.G. et al.* on behalf of the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology Expert position paper on the role of platelet function testing in patients undergoing percutaneous coronary intervention. // *Eur Heart J* 2014, 35(4): 209-15.
5. *Mega J.L., Simon T., Collet J.P., Anderson J.L., Antman E.M., Bliden K. et al.* Reduced-function CYP2C19 genotype and risk of adverse clinical outcomes among patients treated with clopidogrel predominantly for PCI: a meta-analysis. // *JAMA* 2010, 304(16): 1821-30.
6. *Harmsze A.M., van Werkum J.W., ten Berg J.M., Zwart B., Bouman H.J., Breet N.J. et al.* CYP2C19*2 and CYP2C9*3 alleles are associated with stent thrombosis: a case—control study. // *Eur Heart J* 2010, 31(24): 3046.
7. *Sibbing D., Stegheer J., Latz W., Koch W., Mehilli J., Derrler K. et al.* Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention. // *Eur Heart J* 2009, 30(8): 916-22.
8. *Robertson D., Williams G.H.* Clinical and translational Science: Principles of Human Research. 1st ed. Academic Press: Elsevier; 2009.
9. *Лифшиц Г.И., Данилкина С.Т., Гуськова Е.В., Воронина Е.Н., Филипенко М.Л.* Ассоциация генов, кодирующих белки гемостаза, с параметрами периферического гемостаза и предрасположенностью к атеротромбозам у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. // *Кардиоваскулярная терапия и профилактика* 2011, 4: 90-6.
10. *Price M.P., Murray S.S., Angiolillo D.J., Lillie E., Smith E.N., Tisch R.L. et al.* Influence of Genetic Polymorphisms on the Effect of High- and Standard-Dose Clopidogrel After Percutaneous Coronary Intervention. // *J Am Col Cardiol* 2012, 59 (22): 1928-37.
11. *Aradi D., Sibbing D., Bonello L.* Current evidence for monitoring platelet reactivity in acute coronary syndrome: A plea for individualized antiplatelet treatment. // *Int J Cardiol* 2013, 167 (5): 1794-97.
12. *Orban M., Sibbing D.* Platelet Function Testing in Patients with Acute Coronary Syndrome // *J Cardiovascular Translational Research* 2013, 6 (3): 371-7.
13. *Грацианский Н.А.* Некоторые методы оценки функции тромбоцитов при лечении клопидогрелем и связь их результатов с ишемическими событиями и кровотечениями — [Электронный ресурс]. — Режим доступа <http://athero.ru/Genes.pdf>. — 23 ноября 2013 г.
14. *Gremmel T., Steiner S., Seidinger D., Koppensteiner R., Panzer S., Kopp C.W.* Comparison of methods to evaluate clopidogrel-mediated platelet inhibition after percutaneous intervention with stent implantation. // *Thromb Haemost* 2009, 101 (2): 333-9.
15. *Клиническая лабораторная диагностика: Национальное руководство: в 2 т. — Т. 1. / под ред. В.В. Долгова, В.В. Меньшикова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012: 761-4.*
16. *Айнетдинова Д.Х., Удовиченко А.Е., Сулимов В.А.* Резистентность к антитромбоцитарным препаратам у больных острым коронарным синдромом с подъемом сегмента ST. // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии* 2008, 2: 23-9.
17. *Кнауэр Н.Ю., Лифшиц Г.И., Воронина Е.Н., Коледа И.В., Гуськова Е.В.* Информативность генетических маркеров для оптимизации персонализированной терапии клопидогрелем. // *Кардиология* 2013, 8: 72-5.
18. *Joshi R., Hossain R., Morton A.C., Ecob R., Judge H.M., Wales C. et al.* Evolving pattern of platelet P2Y12 inhibition in patients with acute coronary syndromes // *Platelets* 2014, 25 (6): 416-22.
19. *Lua D., Owens J., Kreutz R.P.* Plasma and whole blood clot strength measured by thrombelastography in patients treated with clopidogrel during acute coronary syndromes. // *Thromb Res* 2013, 132 (2): 94-8.

20. Tsantes A.E., Ikonomidis I., Papadakis I., Bonovas S., Gialeraki A., Kottaridi C. et al. Impact of the proton pump inhibitors and CYP2C19*2 polymorphism on platelet response to clopidogrel as assessed by four platelet function assays. // *Thromb Res* 2013, 132 (2): 105-11.
21. Angiolio D.J., Saucedo J.F., DeRaad R., Frelinger A.L., Gurbel P.A., Costigan T.M. et al. Increased platelet inhibition after switching from maintenance clopidogrel to prasugrel in patients with acute coronary syndromes. Results of the SWAP (SWitching Anti Platelet) study. // *J Am Coll Cardiol* 2010, 56 (13): 1017-23.
22. Rideg O., Komócsi A., Magyarlaki T., Tökés-Füzesi M., Miseta A., Kovács G.L. et al. Impact of genetic variants on post-clopidogrel platelet reactivity in patients after elective percutaneous coronary intervention. // *Pharmacogenomics* 2011, 12 (9): 1269–80.
23. Buonamici P., Marcucci R., Migliorini A., Gensini G.F., Santini A., Panicia R. et al. Impact of platelet reactivity after clopidogrel administration on drug-eluting stent thrombosis. // *J Am Coll Cardiol* 2007, 49 (24): 2312-17.
24. Mejin M., Tiong W.N., Hui Lai L.Y., Tiong L.L., Bujang A.M., Hwang S.S. et al. CYP2C19 genotypes and their impact on clopidogrel responsiveness in percutaneous coronary intervention. // *Int J Clin Pharm* 2013, 35 (4): 621-8.
25. Belozertseva L.A., Voronina E.N., Kokh N.V., Tsvetovskaya G.A., Momot A.P., Lifshits G.I. et al. Personalized approach of medication by indirect anticoagulants tailored to the patient-Russian context: what are the prospects? // *EPMA J* 2012, 3 (1): 10.
26. Лифшиц Г.И., Отева Э.А., Николаев К.Ю., Куроедов А.Ю., Николаева А.А., Масленников А.Б. Особенности формирования факторов риска ишемической болезни сердца у детей с отягощённым семейным анамнезом и подходы к профилактике. // *Консилиум* 1999,6:60-63
27. Samama C.M., Lecoules N., Kierzek G., Claessens Y.E., Riou B., Rosencher N. et al. FONDACAST Study Group. Comparison of fondaparinux with low molecular weight heparin for venous thromboembolism prevention in patients requiring rigid or semi-rigid immobilization for isolated non-surgical below-knee injury. // *J Thromb Haemost* 2013, 11 (10): 1833-43.
28. Breet N.J., van Werkum J.W., Bouman H.J., Ten Berg J.M., Hackeng C.M. et al. Platelet function tests for the monitoring of P2Y12 inhibitors. // *Expert Opin Med Diagn* 2010, 4(3):251-65.
29. Маниатис Т., Фрич Э. и Сэмбрук Дж. 1984. Молекулярное клонирование. М.: Мир.
30. http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/06/briefing/2006-4253b1_01.pdf
31. Bovill E.G., Terrin M.L., Stump D.C., Berke A.D., Frederick M., Collen D., et al. Hemorrhagic events during therapy with recombinant tissue-type plasminogen activator, heparin, and aspirin for acute myocardial infarction. Results of the Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI), Phase II Trial. // *Ann Intern Med* 1991, 115 (4): 256-65.
32. Mega J.L., Close S.L., Wiviott S.D., Shen L., Hockett R.D., Brandt J.T. et al. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel. // *Engl J Med*. 2009; 360(4): 354-62.
33. ACC/AHA/SCAI 2005 GUIDELINE UPDATE FOR PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION A Report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/SCAI Writing Committee to Update the 2001 Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention). // *J Am Coll Cardiol* 2006, 47: 1-121.
34. Вольская Е., Александрова О. Новый статус для наблюдательных исследований // *Ремедиум* 2009, 3: 6-10.
35. Вольская Е.А. Основы надлежащей практики неинтервенционных исследований лекарственных препаратов. // *Качественная клиническая практика* 2011, 1: 19-24.
36. von Elm E., Altman D.G., Egger M., Pocock S.J., Gøtzsche P.C., Vandenbroucke J.P. for the STROBE The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. // *Journal of Clinical Epidemiology* 2008, 61: 344-9.