

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КАРПЕНКО ОЛЕНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 616.12-005.4:616.379-008.64:616.151.5:575.113.2

ДИСЕРТАЦІЯ

ГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ АКТИВНОСТІ СИСТЕМИ ГЕМОКОАГУЛЯЦІЇ
ТА ЕФЕКТИВНОСТІ АНТИТРОМБОТИЧНОГО ЛІКУВАННЯ У
ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ, ПОЄДНАНУ З
ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2-го ТИПУ

22 «Охорона здоров'я»

222 «Медицина»

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне
джерело

_____ О.О. Карпенко

Науковий керівник – **Нетяженко Василь Захарович**, член-кореспондент
НАМН України, доктор медичних наук, професор

Київ – 2021

АНОТАЦІЯ

Карпенко О.О. **Генетичні аспекти активності системи гемокоагуляції та ефективності антитромботичного лікування у хворих на ішемічну хворобу серця, поєднану з цукровим діабетом 2-го типу.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 «Медицина» – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, Київ, 2021.

Зміст анотації

У дисертаційній роботі запропоноване комплексне застосування аналізу тромбоцитарної та плазмової ланок гемостазу та генетичного аналізу обраної системи генів-кандидатів для персоналізованого підходу до діагностики та лікування пацієнтів з різними формами ішемічної хвороби серця (ІХС) та при поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу (ЦД).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана в рамках ініціативно-пошукової науково-дослідної роботи кафедри пропедевтики внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Особливості змін системи гемокоагуляції при коморбідному перебігу ішемічної хвороби серця, лабораторні та генетичні предиктори тромботичних ускладнень» (державний реєстраційний номер №0118U001391).

Мета: встановлення особливостей змін тромбоцитарної та плазмової ланок гемостазу у хворих на ішемічну хворобу серця із супутнім цукровим діабетом 2-го типу, залежно від G20210A поліморфізму гена FII, G455A поліморфізму гена FGB, T1565C поліморфізму гена ITGB3, G681A поліморфізму гена CYP2C19 та визначення ефективності антитромботичного лікування.

Мета, поставлена у дисертаційній роботі, є актуальною в зв'язку з високою поширеністю даної коморбідної патології серед українського

населення, а також, виходячи з численних ускладнень, що розвиваються на тлі поєданого перебігу хвороб, існує необхідність в інтенсивному вивченні діагностичних показників однієї з найбільш залученої ланки – системи гемостазу. Знання генетичних факторів, що сприяють розвитку захворювання та його ускладнень, може мати важливе прогностичне значення і використовуватися при виборі препаратів і методів лікування.

Завдання дослідження:

1. Встановити особливості змін тромбоцитарного та плазмового гемостазу у хворих на ІХС із супутнім ЦД.
2. Вивчити частоту G20210A поліморфізму гена FII, G455A поліморфізму гена FGB, T1565C поліморфізму гена ITGB3, G681A поліморфізму гена CYP2C19 та проаналізувати їх превалювання при різних формах ІХС.
3. Дослідити активність тромбоцитарної ланки гемостазу та визначити ймовірний зв'язок G20210A поліморфізму гена FII, G455A поліморфізму гена FGB, T1565C поліморфізму гена ITGB3 з спонтанною та індукованою агрегацією тромбоцитів.
4. Визначити стан згортаючої активності крові залежно від G20210A поліморфізму гена FII, G455A поліморфізму гена FGB, T1565C поліморфізму гена ITGB3.
5. Встановити чутливість до клопідогрелю залежно від генотипів за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 на підставі комплексної оцінки тромбоцитарного гемостазу.

Всього за період дослідження було обстежено 120 пацієнтів із різними формами ІХС, що поступали на лікування у кардіологічне відділення КНП «Київська міська клінічна лікарня №1» (за договором про наукову співпрацю з НМУ імені О.О. Богомольця), серед яких 56 чоловіків (46,67%) та 64 жінки (53,33%), середній вік становив $64 \pm 8,69$ років, а також 15 здорових добровольців, співставні за віком та статтю, що склали контрольну

групу (КГ). Відповідно до поставлених завдань дисертаційної роботи пацієнти були розподілені за групами: 30 хворих на гострий коронарний синдром (ГКС) – I група (серед них 16 чоловіків та 14 жінок), 30 хворих на ГКС у поєднанні з ЦД – II група (відповідно 8 чоловіків та 22 жінки), 30 хворих на хронічний коронарний синдром (ХКС) – III група (18 чоловіків та 12 жінок), 30 хворих на ХКС у поєднанні з ЦД – IV група (14 чоловіків та 16 жінок).

Аналізуючи основні діагнози, що стали причиною госпіталізації, виявлено, що 12 пацієнтів I групи поступили з ГКС з елевацією сегмента ST, 15 – без елевації сегмента ST, а 3 – з нестабільною стенокардією. У групі II розподіл був наступний: 9 пацієнтів з елевацією сегмента ST, 4 – без елевації сегмента ST, а 17 – з нестабільною стенокардією. Стабільна стенокардія II функціонального класу спостерігалася у 15 пацієнтів III групи та 16 пацієнтів IV групи, а III функціонального класу – 15 і 14 пацієнтів, відповідно. У III групі зустрічалися наступні клінічні варіанти ХКС: пацієнти зі стенокардією та/або задишкою та підозрою на коронарну хворобу серця – 15 (50%), пацієнти зі стабільними симптомами <1 року після ГКС чи реваскуляризації – 5 (16,7%), пацієнти з симптомами >1 року після встановлення діагнозу чи реваскуляризації – 10 (33,3%). В свою чергу клінічні варіанти ХКС серед хворих IV групи розподілилися наступним чином: пацієнти зі стенокардією та/або задишкою та підозрою на коронарну хворобу серця – 11 (36,7%), пацієнти зі стабільними симптомами <1 року після ГКС чи реваскуляризації – 2 (6,7%), пацієнти з симптомами >1 року після встановлення діагнозу чи реваскуляризації – 17 (56,7%).

ЦД, що мав місце у пацієнтів II та IV груп, тривав в середньому $10,2 \pm 5,0$ та $13,67 \pm 5,24$ років, відповідно ($p < 0,05$). Аналізуючи кількість макро- та мікросудинних ускладнень ЦД, відмічено, що у групі II було 2 хворих на діабетичну макроангіопатію судин нижніх кінцівок (6,7%), 1 пацієнт з діабетичною нефропатією (3,3%) та 1 пацієнт – з дисциркуляторною

енцефалопатією (3,3%). В свою чергу, у IV групі було 2 хворих, які мали діабетичну макроангіопатію судин нижніх кінцівок (6,7%), 3 хворих страждали на облітеруючий атеросклероз судин нижніх кінцівок (10%), 5 пацієнтів мали дисциркуляторну енцефалопатію (16,7%), 1 пацієнт (3,3%) страждав на діабетичну ретинопатію сітківки та 1 пацієнт (3,3%) мав діабетичну нефропатію. Середній рівень глікемії на момент поступлення у групі II складав $8,97 \pm 2,97$ ммоль/л, а у групі IV – $6,8 \pm 2,08$ ммоль/л ($p < 0,01$). Щодо лікування ЦД, то 30 хворих для корекції рівню глюкози крові використовували метформін, 28 пацієнтів – препарати сульфанілсечовини, 7 - інсулін.

У всіх пацієнтів досліджували показники тромбоцитарного гемостазу. На агрегатограмах оцінювали наступні параметри, які характеризували функціональну активність тромбоцитів: ступінь спонтанної агрегації тромбоцитів (СпАТ), швидкість СпАТ, середній розмір агрегатів (СРА), ступінь та швидкість АК- та АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів.

Досліджувані показники гемостазу були підібрані таким чином, щоб вони відображали всі фази згортання крові, а також дозволяли оцінити активність антикоагулянтів та системи фібринолізу.

Типування молекулярно-генетичних маркерів здійснювалося всім пацієнтам, які приймали участь у дослідженні, в імунологічній лабораторії Клінічної лікарні «Феофанія» ДУС (за договором про наукову співпрацю з НМУ імені О.О. Богомольця). Аналіз генотипів за G20210A поліморфізмом гена FII, G455A поліморфізмом гена FGB, T1565C поліморфізмом гена ITGB3, G681A поліморфізмом гена CYP2C19 здійснювався методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) синтезу ДНК. ПЛР локусів проводилася на апараті Applied Biosystems 7500, USA для ПЛР в режимі RealTime з використанням готових наборів реагентів.

Першим фрагментом дисертаційної роботи було вивчення особливостей тромбоцитарної та плазмової ланок гемостазу у всіх

досліджуваних групах. Слід зазначити, що нами виявлено значне порушення мікрореологічних властивостей крові як при ГКС, так і при ХКС, що проявлялось у достовірному збільшенні СпАТ у порівнянні з КГ - у 2,5 рази в I групі та у 4,6 разів в II групі ($p < 0,001$), в 1,3 рази у групі III та в 1,4 рази у групі IV ($p < 0,01$). Водночас, ступінь агрегації тромбоцитів у відповідь на АК-стимуляцію у групі I був у 1,9 разів та у групі II у 1,5 разів достовірно нижчим у порівнянні з КГ ($p < 0,001$). Звертало на себе увагу, що у пацієнтів із поєднаним перебігом ГКС та ЦД ступінь АК-індукованої агрегації тромбоцитів на 29,7 % перевищував значення групи без ЦД ($p = 0,018$). У той час як виразність пригнічення ступеню АК-агрегації асоціювалась із супутнім ЦД - його поєднання із ГКС супроводжувалось менш адекватною відповіддю на лікування ацетилсаліциловою кислотою (АСК). У групі III ступінь АК-агрегації виявився на 22% нижче КГ ($p < 0,01$) та у 1,4 рази меншим, ніж у групі IV ($p < 0,001$). Слід зауважити, що помірне зменшення ступеню АДФ-агрегації спостерігалось лише в I групі, показники якої були в 1,42 рази нижчими, ніж в КГ ($p < 0,01$). У той же час, у пацієнтів II групи не тільки не реєструвалося зниження функціональної активності тромбоцитів, а, навпаки, простежувалась чітка тенденція до пришвидшення утворення агрегатів. На противагу, у III групі ступінь АДФ-агрегації тромбоцитів був на 24% нижчим за КГ ($p < 0,05$).

При аналізі коагуляційної ланки гемостазу нами було показано прокоагулянтну активність більшості показників серед всіх обстежених пацієнтів. Але, слід вказати, що у I групі наявне вкорочення протромбінового часу (ПТЧ) по відношенню до КГ на 24,1% ($p < 0,001$), зростання рівня фібриногену (ФГ) на 20,3% ($p < 0,001$) та розчинних фібринмономерних комплексів (РФМК) в 2,4 рази ($p < 0,001$), а також вкорочення таких показників, як активований частковий тромбoplastиновий час (АЧТЧ), тромбіновий час (ТЧ) ($p < 0,001$), що свідчило про посилення тромбогенного потенціалу крові. В той самий час,

у II групі достовірні зміни виявлені на всіх етапах коагуляції: зменшення ПТЧ на 29,3%, вкорочення ТЧ на 45,5% та АЧТЧ на 22,8%, підвищення рівня ФГ на 47,2% та зростання вмісту РФМК в 3,8 разів ($p < 0,001$) відносно контролю. Міжгруповий аналіз у когорті хворих із ГКС вказав на вплив ЦД на вкорочення показника ТЧ на 26,3% ($p < 0,001$) та АЧТЧ на 10,2% ($p < 0,001$), збільшення рівня ФГ на 22,3% ($p < 0,001$) та РФМК в 1,6 разів ($p < 0,001$). Посилення протромбогенного потенціалу крові відбулося не тільки за рахунок прокоагулянтних змін, а і у зв'язку з пригніченням фібринолітичної активності як в I, так і в II групі. При цьому XIIa-ЗФ виявився в 1,6 рази подовженим в II групі, у порівнянні з аналогічним показником I групи ($p < 0,001$). Вкорочення АЧТЧ на 14% у групі III та на 22% - у групі IV ($p < 0,05$) в порівнянні з КГ супроводжувалось вкороченням ТЧ на 20,4% в групі IV в порівнянні з групою III ($p < 0,001$). Вміст ФГ був більшим у групі IV (на 13,04% та 34,5%) у порівнянні із групою III та КГ ($p < 0,05$ та $p < 0,001$ відповідно). Концентрація РФМК виходила за межі референтних значень в групі III у 1,6 разів та зростала при приєднанні ЦД на 64,3% ($p < 0,001$). Привернув увагу той факт, що зниження активності протеїну С (PrC) було виявлено лише в групі IV у порівнянні з КГ ($p < 0,05$) та підтверджувалося подовженням часу XIIa-ЗФ у цій же групі на 39,7% ($p < 0,001$).

Отже, проведені нами дослідження показали, що у хворих на ІХС має місце односпрямований характер змін агрегаційних властивостей тромбоцитів при різних клінічних варіантах перебігу. Однак найбільш виражені зміни показників агрегації, а саме SpAT, були виявлені у групі хворих на ГКС, що також супроводжувалось більш пригніченою індукованою агрегацією тромбоцитів. Узагальнюючи результати дослідження тромбоцитарного гемостазу, слід зазначити, що у хворих на ЦД в 1,8 рази більш інтенсивно відбувається спонтанна агрегація тромбоцитів

($p < 0,001$), при цьому значна частина тромбоцитів є задіяною у формування агрегатів.

Зміни, виявлені в результаті вивчення коагуляційної ланки гемостазу в досліджуваних групах виявлено підвищення концентрації в плазмі ФГ та РФМК, що найвиразнішим при ГКС, підтверджує факт тромбофілії при ГКС та може слугувати індикатором ступеню прогресування ІХС. У хворих на ГКС відмічено стабільно низькі рівні активності АТІІІ та фібринолізу, що у поєднанні з підвищеними показниками згортання крові дозволяють констатувати наявність гіперкоагуляції в судинному руслі. Зменшення вмісту природних антикоагулянтів у ІІІ групі свідчить про підвищене їх споживання.

Крім того виявлене значне подовження показників ХІІа-ЗФ, що також є свідченням гальмування процесів фібринолізу з максимальним пригніченням в 1,6 рази у пацієнтів з поєднаним перебігом ГКС та ЦД. Отже, наявність ЦД у хворих із ГКС та ХКС характеризується цілим рядом змін з боку системи гемостазу, що обумовлюють підвищений ризик тромботичних ускладнень.

Наступний етап був присвячений вивченню генетичних аспектів тромбозу серед досліджуваних пацієнтів з метою оцінки стану тромбоцитарного та плазмового гемостазу за наявності певного поліморфізму. Вивчення генетичних аспектів тромбозу свідчить про переважання останнього у людей з «несприятливими» алелями білків-учасників гемостатичного каскаду. Один з ефективних підходів до вивчення ролі генетичних механізмів пов'язаний з виділенням генів, що мають найбільший внесок у регуляцію первинної ланки гемостазу, забезпечуючи адекватність тромбоцитарної відповіді.

Найважливіша особливість при активації тромбоцитів – модифікація комплексу мембранних глікопротеїдів ІІb/ІІІа. З метою вивчення зв'язку

T1565C поліморфізму гена ITGB3 з активністю гемостазу було проаналізовано результати у пацієнтів з ГКС та ХКС у поєднанні з ЦД.

Аналіз розповсюдження генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 мав наступний розподіл: у когорті хворих на ГКС нативний T/T генотип був присутній у 71,7% пацієнтів (n=43), T/C – 16,6% (n=10), C/C – 11,7% (n=7). У когорті хворих на ХКС вказані генотипи зустрічалися з такою частотою: T/T – 88,3% (n=53), T/C – 8,3% (n=5), C/C – 3,3% (n=2). Показник ступеня СпАТ у когорті хворих на ГКС достовірно відрізнявся від КГ в усіх підгрупах та найбільше при генотипі C/C - в 5,5 разів ($p < 0,001$). Наявність С-алелі була пов'язана зі зростанням ступеню СпАТ на 76,9% у підгрупі T/C ($p < 0,01$) та на 94,7% у підгрупі C/C ($p < 0,001$) відносно T/T поліморфізму. Ступінь АК-агрегації у підгрупі хворих з C/C генотипом був більший на 22% у порівнянні з підгрупою T/T та на 16,6% - у порівнянні з підгрупою T/C ($p > 0,05$). Ступінь АДФ-агрегації у підгрупі C/C виявився в 1,68 разів вищим за КГ ($p < 0,01$).

У когорті хворих на ГКС ступінь СпАТ також достовірно відрізнявся від КГ у всіх підгрупах, а найвищий показник був зафіксований у підгрупі C/C – 2,18 [2,04; 2,31], що у 2,5 рази перевищувало контрольне значення ($p < 0,05$). Ступінь АК-агрегації не продемонстрував чіткої залежності від генотипу, однак швидкість у підгрупі з генотипом C/C була в 2,3 рази вищою, ніж у підгрупі T/T ($p < 0,05$). Носійство С-алелі спричиняло зростання АДФ-агрегації на 63,1% у підгрупі T/C ($p < 0,01$) та значне збільшення у 2,4 рази підгрупі C/C ($p < 0,05$) відносно T/T генотипу. Загальна тенденція змін показників агрегації тромбоцитів у групі III та IV повторювала зміни, характерні для груп I та II, а саме: зростання показника ступеню та швидкості СпАТ, АК- та АДФ- агрегації з появою С-алелі, проте при міжгруповому аналізі достовірної різниці зазнали лише показники ступеню агрегації.

Наявність у когорті хворих на ГКС С-алелі за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, особливо гомозиготної форми, супроводжувалась

прискоренням згортання крові у порівнянні з нативним генотипом, що супроводжувалось підвищеним рівнем ФГ на 8,5% ($p < 0,01$) у цієї категорії хворих. Проте, ступінь змін фібринолітичної ланки не залежав від генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3. Загальна спрямованість гемостазіологічних зрушень у когорті хворих на ХКС та її асоціації з T1565C поліморфізмом гена ITGB3 практично не відрізнялись від групи з ГКС, що підвищує значимість виявлених зв'язків.

У пацієнтів з ГКС нативний G/G генотип за G455A поліморфізмом гена FGB був присутній у 76,67% пацієнтів ($n=46$), генотип G/A – 18,33% ($n=11$), A/A – 5% ($n=3$). У когорті хворих на ХКС G/G генотип – 70% ($n=47$), G/A – 30% ($n=13$). Ступінь СпАТ у когорті хворих на ГКС достовірно перевищував КГ в обох підгрупах обстежених хворих ($p < 0,001$), а швидкість СпАТ у підгрупі G/A-A/A на 79,8% була більшою за КГ ($p < 0,05$). Ступінь та швидкість АК- та АФД-агрегації не набували статистичної значущості між підгрупами ($p > 0,05$). Вивчення активності тромбоцитів у хворих з ХКС дозволило виявити значущі зміни ступеня СпАТ у підгрупі G/G, який на 37,5% був вищим за КГ ($p < 0,01$).

У пацієнтів з ГКС виявлено посилення активності згортання крові за рахунок показників ПТЧ та АЧТЧ, що були достовірно більш пригніченими саме при А-алелі за G455A поліморфізмом гена FGB. Але вірогідність змін антикоагулянтної та фібринолітичної ланки не залежала від генотипу за G455A поліморфізмом гена FGB. У когорті хворих на ХКС була підтверджена більш значима активація системи прокоагуляції за наявності ЦД, та звернула на себе увагу динаміка змін рівня ФГ при обох варіантах поліморфізму, особливо з А-алеллю, що і підкреслює роль вивчення G455A поліморфізму гена FGB у цій популяції хворих.

У когортах хворих як з ГКС, та і з ХКС нативний G/G генотип за G20210A поліморфізмом гена FII був присутній у 95% пацієнтів ($n=57$ в обох групах). Генотип G/A у першій когорті зустрічався у 2 пацієнтів (3,3%), A/A

- 1 пацієнт (1,7%). У когорті хворих з хронічним перебігом ІХС генотип G/A мали 3 пацієнти (5%).

Показник ступеня СпАТ серед хворих на ГКС достовірно відрізнявся від КГ при обох генотипах ($p < 0,01$), а в підгрупі з А-алеллю в 4,5 рази перевищував контрольне значення. Аналіз активності тромбоцитарної ланки хворих на ХКС при обох генотипах за G20210A поліморфізмом гена FII продемонстрував відсутність достовірної різниці між показниками та з КГ ($p > 0,05$).

Загальні тенденції змін плазмового гемостазу у групі хворих на ГКС мали схильність до активації коагуляційних процесів, однак вони не залежали від генотипів за G20210A поліморфізмом гена FII, однак при наявності А-алелі достовірно відрізнялися від КГ. Саме в цій підгрупі хворих була продемонстрована активація згортувальних процесів та подовження фібринолітичних як у групі хворих на ГКС, так і на ХКС.

Отже, результати аналізу тромбоцитарно-плазмового гемостазу у хворих на ІХС та його зв'язки з досліджуваними генами дозволило дійти висновків про те, що T1565C поліморфізм гена ITGB3, G455A поліморфізм гена FGB та G20210A поліморфізм гена FII не асоціюється із наявністю супутнього ЦД. Ступінь СпАТ має чітку залежність із генотипом за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, при цьому наявність С-алелі супроводжується збільшенням агрегаційної здатності, максимальні значення якої спостерігаються у випадку гомозиготного С/С генотипу. Для кожної когорти хворих, як з супутнім ЦД, так і без нього, характерні загальні тенденції змін: зростання показників ступеня та швидкості СпАТ при появі С-алелі. Достовірний вплив ЦД в основному мав на показник ступеня СпАТ, та, певним чином, на ступінь АК- та АДФ-індукованої агрегації, проте тільки у підгрупах з Т/Т генотипом за T1565C поліморфізмом гена ITGB3. Наявність у когорті хворих на ГКС С-алелі за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, особливо гомозиготної форми, супроводжувалась прискоренням згортання

крові у порівнянні з нативним генотипом, що підтверджувалось підвищеним рівнем ФГ. Проте ступінь змін фібринолітичної ланки не залежав від генотипів за T1565C поліморфізмом гена ITGB3. Загальна спрямованість гемостазіологічних зрушень у когорті хворих на ХКС та її асоціації з T1565C поліморфізмом гена ITGB3 практично не відрізнялась від групи з ГКС, що підвищує значимість виявлених зв'язків.

Нами не було виявлено впливу наявності А-алелі за G455A поліморфізмом гена FGB на показники тромбоцитарного гемостазу, в зв'язку з відсутністю статистично значимих змін між досліджуваними підгрупами, а ось при вивченні плазмового гемостазу відмічено, що у групі хворих на ГКС спостерігалось посилення активності згортання крові за зовнішнім шляхом при будь-якому генотипі за G455A поліморфізмом гена FGB, свідченням чого було вкорочення показника ПТЧ, а наявність супутнього ЦД суттєво вплинула на пригнічення показників антикоагулянтної та фібринолітичної системи крові. У когорті хворих на ХКС була підтверджена більш значима активація системи прокоагуляції при наявності супутнього ЦД та звернула на себе увагу динаміка змін рівня ФГ при обох варіантах генотипів, особливо з А-алеллю, що і підкреслює значення вивчення G455A поліморфізму гена FGB у цій популяції хворих.

Вивчення G20210A поліморфізму гена FII та аналіз їх впливу на тромбоцитарно-плазмовий гемостаз у пацієнтів з ГКС та ХКС дозволило вказати на відсутність статистично значущих залежностей при міжгрупових аналізах показників тромбоцитарно-плазмового гемостазу. Лише при наявності А-алелі показники плазмового гемостазу достовірно відрізнялися від КГ. Саме в цій підгрупі хворих була продемонстрована активація коагулятивних процесів та подовження фібринолітичних як у групі хворих на ГКС, так і на ХКС, а особливістю для групи ХКС стало пригнічення системи ПрС.

Остання частина дисертаційної роботи присвячена аналізу ефективності антитромбоцитарного лікування клопідогрелем, що базується на G681A поліморфізмі гена CYP2C19.

Генотипування дозволило виявити, що у 73,3% когорти хворих на ГКС та у 86,4% когорти хворих на ХКС переважав генотип G/G за G681A поліморфізмом гена CYP2C19, який вважається нативним у загальній популяції. Ступінь СпАТ серед пацієнтів з G/A-A/A генотипом перевищував КГ в 4,6 рази ($p < 0,001$). Ступінь та швидкість АК-індукованої агрегації тромбоцитів була суттєво нижчою за КГ в усіх підгрупах, однак не відрізнялася між підгрупами пацієнтів з різними генотипами за G681A поліморфізмом гена CYP2C19. Ступінь та швидкість АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів не мали статистично значущих змін ні у порівнянні з КГ, ні при міжгруповому аналізі.

Ступінь СпАТ у пацієнтів зі стабільними формами ІХС був достовірно вищим за КГ. Так, при G/G генотипі він перевищував показник КГ на 28,4% ($p < 0,05$), а при наявності А-алелі – на 64,8% ($p < 0,01$). Реакція тромбоцитів досліджуваних груп хворих на АК була майже однаковою за ступенем та швидкістю з КГ. Ступінь АДФ-індукованої агрегації не мав вірогідної різниці серед обстежених обох груп ($p > 0,05$), хоча швидкість агрегації вірогідно відрізнялась від КГ та була меншою на 67,9% у пацієнтів з G/G генотипом ($p < 0,05$).

Для оцінки впливу ЦД на ефективність пригнічення функціональної активності тромбоцитів клопідогрелем у носіїв різних алельних варіантів за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 нами був досліджений ступінь АДФ-агрегації тромбоцитів. Оскільки, в кожній групі частота генотипу А/А виявилася замалою для статистичного аналізу, для подальшого порівняння осіб з наявністю А-алелі у вигляді гомо- та гетерозиготи нами було об'єднано в одну групу. Група ізольованого перебігу ІХС складалася із 48 пацієнтів з G/G генотипом (80%) та 12 пацієнтів з А-алеллю (20%). Пацієнти з

патологією вуглеводного обміну розподілились наступним чином: 47 пацієнтів мали G/G генотип (78%), а 13 – G/A – A/A (22%). Порівнюючи обидві когорти між собою, виявлено, що у групі з комбінованою патологією та G/G-генотипом ступінь АДФ-агрегації на 47,13% перевищував показник у групі ізольованого перебігу ІХС (40,1 [33,43; 48,0] проти 27,26 [12,8; 47,43]). Відношення шансів при цьому не продемонструвало суттєвої залежності від наявності супутнього ЦД (ВШ=1,035; 95% ДІ: 0,442 – 2,427; p=0,944). А при носійстві G/A-A/A генотипу аналогічна різниця становила 72,6% (57,65 [49,34; 67,8] проти 33,4 [32,47; 37,99], p<0,01). Шанс зустріти високий ступінь АДФ-індукованої агрегації серед носіїв А-алелі за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 з ЦД майже у 17 разів достовірно перевищував групу пацієнтів з ізольованим перебігом ІХС (ВШ=16,667; 95% ДІ: 2,273 – 122,218; p=0,009), продемонструвавши високу чутливість (Se=76,9%) та специфічність (Sp=83,3%) методу. Отже, у пацієнтів з порушенням вуглеводного обміну вищий ризик розвитку тромбофілії на фоні прийому клопідогрелю у порівнянні з групою без коморбідної патології.

Отримані в нашому дослідженні дані показали, що вибірка хворих на ІХС та супутній ЦД, що мали А-алель, була менш чутливою до дії клопідогрелю, що проявлялося у більш високому ступені АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів. В той же час слід зазначити, що не тільки генетичний поліморфізм є предиктором тромботичних ускладнень. Відомо, що при ЦД виникають гемокоагуляційні та реологічні порушення, що характеризуються підвищенням агрегаційної активності тромбоцитів. Не дивлячись на доведений вплив наявності А-алелі за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 на ефективність пригнічення активності тромбоцитів при лікуванні інгібіторами P2Y₁₂-рецепторів, залишається відкритим питання корекції антиагрегантної терапії у носіїв певних алелей цього гену.

Наукова новизна отриманих результатів

У хворих на ІХС та ЦД з метою оцінки функціональної активності тромбоцитів на тлі прийому антитромбоцитарної терапії доведено необхідність використання методу оптичної лазерної агрегатометрії для визначення ступеня та швидкості спонтанної та АК- та АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів, вибір яких залежить від особливостей дії препаратів.

В дисертаційній роботі вперше проаналізовано частоту та поширеність генотипів за G20210A поліморфізмом гена FII, G455A поліморфізмом гена FGB, T1565C поліморфізмом гена ITGB3 у хворих на ІХС у поєднанні з ЦД та доведено відповідність рівновазі Харді-Вайнберга для кожного поліморфізму. Доведено відсутність асоціації ЦД з G20210A поліморфізмом гена FII, G455A поліморфізмом гена FGB, T1565C поліморфізмом гена ITGB3 у хворих на ГКС та ХКС.

Вперше вивчено зв'язок досліджуваних генів-кандидатів, а саме, G20210A поліморфізм гена FII, G455A поліморфізм гена FGB, T1565C поліморфізм гена ITGB3, G681A поліморфізм гена CYP2C19 з показниками тромбоцитарно-плазмового гемостазу хворих на коморбідну патологію.

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає в персоналізації підходу до підбору та контролю ефективності антитромбоцитарної терапії в залежності від стану системи гемостазу та особливостей поліморфізму гена CYP2C19. Доповнено наукові дані щодо зв'язку клопідогрелерезистентності та генотипів за G681A поліморфізмом гена CYP2C19.

Практичне значення отриманих результатів.

В дисертаційній роботі обґрунтовано необхідність використання лазерної оптичної агрегатометрії для оцінки функціонального стану тромбоцитів методом спонтанної та індукованої агрегації у збагаченій тромбоцитами плазмі та оцінку коагуляційного потенціалу крові. Визначено доцільність генотипування хворих на ІХС, незалежно від стабільності

перебігу та наявності супутнього ЦД, оскільки наявність гомозиготної С-алелі за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 пов'язана зі зростанням ступеню СпАТ, що відображає стан початкових ланок активації кров'яних пластинок, та прискореним згортанням крові. А наявність А-алелі за G455A поліморфізмом гена FGB та G20210A поліморфізмом гена FII, в свою чергу, продемонструвала активацію коагуляційних процесів та подовження фібринолітичних як серед хворих з гострим порушенням коронарного кровообігу, так і серед стабільних форм ІХС.

Висновки:

Серед дорослого населення України, що хворіє на ІХС, спостерігається неухильне зростання числа хворих на супутній ЦД. Коморбідний перебіг гострих та хронічних форм ІХС та ЦД у зв'язку із взаємообтяжуючими факторами впливу на активацію тромбоутворення обумовлює діагностичну цінність дослідження генетичної складової стану тромбоцитарної та плазмової ланок гемостазу, як підґрунтя персоналізованого підходу до призначення антитромботичного лікування, що становить одне з найактуальніших завдань сучасної кардіології.

1. Отримані результати продемонстрували активацію тромбоцитарної ланки гемостазу у хворих на ГКС, що підтверджувалося ступенем СпАТ, що був у 2,5 рази вище за КГ ($p < 0,001$). Однак, відмітимо, що і у групі хворих на ХКС цей показник перевищує контрольні дані в 1,3 рази ($p < 0,001$), в той час як при супутньому ЦД на фоні значно збільшеної у 4,6 разів СпАТ зберігається пригнічена відповідь на АК-індуктор та високі значення АДФ-агрегації.

2. Активація згортуючої ланки супроводжується вкороченням ПТЧ, ТЧ, АТЧТ серед усіх обстежених хворих з найбільш значимими змінами у пацієнтів з коморбідним перебігом ГКС. Зменшення протизгортуючої активності крові у хворих на ГКС та ЦД характеризується гальмуванням системи АТШ на 27,5%, ПрС на 16% та фібринолізу на 56,3%

($p < 0,001$), що поглиблює прокоагулянтні зміни у вигляді збільшення рівня фібриногену на 22,4% відносно групи ізольованого перебігу ГКС ($p < 0,001$), при цьому у хворих на ХКС та ЦД спостерігаються подібні зміни, підтверджує наявність тромбофілії як при гострому, так і при хронічному перебігу коронарного синдрому на тлі ЦД.

3. У хворих на ГКС та ХКС А-алель за G455A поліморфізмом гена FGB та G20210A поліморфізмом гена FII зустрічаються з однаковою частотою, натомість при ГКС вірогідність С-генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 – 28% проти 12% при ХКС ($p < 0,01$), а також частіше зустрічається А-алель за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 – 27% проти 14% ($p < 0,01$), при цьому жоден генотип не асоціюється із наявністю супутнього ЦД.

4. Наявність С/С генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 супроводжується вираженою активацією СПАТ у 5,5 разів ($p < 0,001$) у когорті хворих на ГКС та у 2,5 разів ($p < 0,05$) серед хворих на ХКС, а ось зростання показника ступеню та швидкості АК- та АДФ-індукованої агрегації з появою С-алелі не має достовірної міжгрупової різниці. Генотипи за G455A поліморфізмом гена FGB та G20210A поліморфізмом гена FII не мають суттєвого впливу на показники тромбоцитарного гемостазу, незалежно від супутнього ЦД, проте, у пацієнтів з гострим порушенням коронарного кровообігу спостерігається тенденція до активації СПАТ при появі А-алелі.

5. Виявлення С-алелі за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 асоціюється із прискоренням згортання крові у порівнянні з нативним генотипом, незалежно від змін фібринолітичної ланки. Активація гемокоагуляції при появі А-алелі за G455A поліморфізмом гена FGB у групі хворих на ГКС проявляється вкороченням ПТЧ на 16,8% та АЧТЧ на 10,1% ($p < 0,05$), а наявність супутнього ЦД має більший вплив на антикоагулянтну та фібринолітичну ланки, що супроводжується зростанням на 20% ($p < 0,05$) рівня ФГ при наявності А-алелі при стабільних формах ІХС. Особливістю

для групи ХКС є пригнічення системи ПрС на 27,2% при наявності А-алелі за G20210A поліморфізмом гена FII ($p < 0,05$).

6. Носії А-алелі за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 з коморбідним перебігом ІХС та ЦД, незважаючи на прийом клопідогрелю, мали високий ступінь АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів значно частіше, ніж у пацієнтів з ізольованим перебігом ІХС (ВШ=16,667; 95% ДІ: 2,273 – 122,218; $p=0,009$) при високій Se (76,9%) та Sp (83,3%) показника, що може свідчити про меншу ефективність лікування клопідогрелем у цій когорті хворих.

***Ключові слова:** тромбоцитарно-плазмовий гемостаз, ішемічна хвороба серця, цукровий діабет 2-го типу, поліморфізм генів, клопідогрелерезистентність.*

ANNOTATION

Karpenko O.O. **Genetic aspects of the activity of the hemocoagulation system and the effectiveness of antithrombotic treatment in patients with ischemic heart disease associated with type 2 diabetes.** – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for obtaining the Doctor of Philosophy degree in the field of knowledge – 22 "Health Care" in the specialty – 222 "Medicine", Bogomolets National Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2021.

Annotation content

The dissertation proposes a comprehensive application of hemostasiological analysis of platelet and plasma units and molecular genetic analysis of the selected system of candidate genes for a personalized approach to diagnosis and treatment of patients with various forms of ischemic heart disease and in combination with type 2 diabetes mellitus.

Connection of work with scientific programs, plans, themes.

The dissertation was performed within the initiative research work of the Department of Propaedeutics of Internal Medicine №1 of Bogomolets National Medical University "Features of changes in the hemocoagulation system in the comorbid course of ischemic heart disease, laboratory and genetic predictors of thrombotic complications" №0118U001391).

Aim: to establish the features of changes in platelet and plasma hemostasis in patients with coronary heart disease with concomitant type 2 diabetes mellitus, depending on G20210A polymorphism of the FII gene, G455A polymorphism of the FGB gene, T1565C polymorphism of the ITGB3 gene, G681A polymorphism of the CYP2C19 gene and antithrombotic treatment.

The aim of the study is relevant due to the high prevalence of this comorbid pathology among the Ukrainian population and based on the many complications that develop against the background of the combined course of the disease, there is a need for intensive study of diagnostic indicators of one of the most involved

links - hemostasis systems. Knowledge of genetic factors that contribute to the development of the disease and its complications can be of important prognostic value and used in the selection of drugs and treatments.

Objectives of the study:

1. To establish the features of changes in platelet and plasma hemostasis in patients with coronary heart disease with concomitant diabetes mellitus.

2. To study the types of G20210A polymorphism of the FII gene, G455A polymorphism of the FGB gene, T1565C polymorphism of the ITGB3 gene, G681A polymorphism of the CYP2C19 gene and to analyze their prevalence in different forms of coronary heart disease.

3. To investigate the activity of platelet hemostasis and determine the influence of G20210A polymorphism of the FII gene, G455A polymorphism of the FGB gene, T1565C polymorphism of the ITGB3 gene, on spontaneous and induced platelet aggregation activity.

4. Determine the state of blood coagulation activity depending on the G20210A polymorphism of the FII gene, G455A polymorphism of the FGB gene, T1565C polymorphism of the ITGB3 gene.

5. To establish the sensitivity to clopidogrel in genotypes of G681A polymorphism of the CYP2C19 gene based on a comprehensive assessment of platelet hemostasis.

A total of 120 patients with various forms of coronary heart disease were admitted to the cardiology department of Kyiv City Clinical Hospital №1 (under the agreement on scientific cooperation with Bogomolets National Medical University), including 56 men (46.67%) and 64 women (53.33%), the mean age was 64 ± 8.69 years, as well as 15 healthy volunteers, comparable in age and sex, who formed the control group. According to the objectives of the dissertation, patients were divided into groups: 30 patients with acute coronary syndrome (ACS) - Group I (including 16 men and 14 women), 30 patients with acute coronary syndrome in combination with type 2 diabetes mellitus (DM) - II group

(respectively 8 men and 22 women), 30 patients with chronic coronary syndrome (CCS) - III group (18 men and 12 women), 30 patients with CCS in combination with DM - IV group (14 men and 16 women).

Analyzing the main diagnoses that caused the hospitalization, it was found that 12 patients of group I were admitted with corticosteroids with ST segment elevation, 15 - without ST segment elevation, and 3 - with unstable angina. Instead, in group II, the distribution was as follows: 9 patients with ST-segment elevation, 4 without ST-segment elevation, and 17 with unstable angina. Stable angina of the II functional class was observed in 15 patients of the III group and 16 patients of the IV group, and of the III functional class - 15 and 14 patients, respectively. The following clinical variants of ACS occurred in group III: patients with angina and / or dyspnea and suspected coronary heart disease - 15 (50%), patients with stable symptoms <1 year after ACS or revascularization - 5 (16.7%), patients with symptoms > 1 year after diagnosis or revascularization - 10 (33.3%). In turn, clinical variants of ACS among patients of group IV were distributed as follows: patients with angina and / or dyspnea and suspected coronary heart disease - 11 (36.7%), patients with stable symptoms <1 year after ACS or revascularization - 2 (6.7%), patients with symptoms > 1 year after diagnosis or revascularization - 17 (56.7%).

DM in patients of groups II and IV lasted on average 10.2 ± 5.0 and 13.67 ± 5.24 years, respectively ($p < 0.05$). Analyzing the number of macro- and microvascular complications of diabetes, it was noted that in group II there were 2 patients with diabetic macroangiopathy of the lower extremities (6.7%), 1 patient with diabetic nephropathy (3.3%) and 1 patient with dyscirculatory encephalopathy (3.3%). In turn, in group IV there were 2 patients with diabetic macroangiopathy of the vessels of the lower extremities (6.7%), 3 patients with obliterating atherosclerosis of the vessels of the lower extremities (10%), 5 patients with dyscirculatory encephalopathy (16.7%), 1 patient (3.3%) had diabetic retinopathy and 1 patient (3.3%) had diabetic nephropathy. The average

level of glycemia at the time of admission in group II was 8.97 ± 2.97 mmol / l, and in group IV - 6.8 ± 2.08 mmol / l ($p < 0.01$). Regarding the treatment of diabetes, 30 patients used metformin to correct blood glucose levels, 28 patients - sulfonylurea, 7 - insulin.

Platelet hemostasis was examined in all patients. The aggregatograms evaluated the following parameters that characterized the functional activity of platelets: the degree of spontaneous platelet aggregation (SPA), the rate of SPA, the average size of aggregates, the degree and rate of AA- and ADP-induced platelet aggregation.

The studied indicators of hemostasis were selected so that they reflect all phases of blood clotting, as well as to assess the activity of anticoagulants and fibrinolysis systems.

Typing of molecular genetic markers was carried out in the immunological laboratory of the Clinical Hospital "Feofania" (under the agreement on scientific cooperation with Bogomolets National Medical University). Analysis of G20210A polymorphism of the FII gene, G455A polymorphism of the FGB gene, T1565C polymorphism of the ITGB3 gene, G681A polymorphism of the CYP2C19 gene was performed by polymerase chain reaction (PCR) by DNA synthesis. PCR loci were performed on an Applied Biosystems 7500, USA for RealTime PCR using ready-made reagent kits.

The first fragment of the dissertation was the study of the features of platelet and plasma hemostasis in all groups. It should be noted that we found a significant violation of the microreological properties of blood in both ACS and CCS, which manifested itself in a significant increase in the degree of SPA compared with the control group - 2.5 times in group I and 4,6 times in group II ($p < 0.001$), 1.3 times in group III and 1.4 times in group IV ($p < 0.01$). At the same time, the degree of platelet aggregation in response to AA-stimulation in group I was 1.9 times and in group II 1.5 times significantly lower compared to the control ($p < 0.001$). It was noted that in patients with a combined course of corticosteroids and diabetes,

the degree of AA-induced platelet aggregation was 29.7% higher than the value of the group without DM ($p = 0.018$). While the severity of the inhibition of the degree of AA-aggregation was associated with concomitant DM, its combination with ACS was accompanied by a less adequate response to treatment with acetylsalicylic acid. In group III, the degree of AA-aggregation was 22% lower than the control group ($p < 0.01$) and 1.4 times lower than in group IV ($p < 0.001$). It should be noted that a moderate decrease in the degree of ADP-aggregation was observed only in group I, which were 1.42 times lower than in the control ($p < 0,01$). At the same time, in patients of group II not only there was no decrease in the functional activity of platelets, but, on the contrary, there was a clear tendency to accelerate the formation of aggregates. In contrast, in group III the degree of platelet ADP-aggregation was 24% lower than the control ($p < 0.05$).

In the analysis of the coagulation link of hemostasis, we showed the procoagulant activity of most indicators among all examined patients. However, it should be noted that in group I there is a reduction in prothrombin time (PT) relative to control by 24.1% ($p < 0.001$), an increase in fibrinogen (FG) by 20.3% ($p < 0.001$) and soluble fibrin monomer complexes (SFMC) in 2.4 times ($p < 0,001$), as well as shortening of such indicators as activated partial thromboplastin time (APTT), thrombin time (TT) ($p < 0,001$), which indicated an increase in thrombogenic potential of the blood. At the same time, in group II significant changes were found at all stages of coagulation: reduction of PT by 29.3%, shortening of TT by 45.5% and APTT by 22.8%, increase in FG by 47.2% and increase SFMC 3.8 times ($p < 0.001$) relative to control. Intergroup analysis in a cohort of patients with ACS indicated the effect of DM on the shortening of TT by 26.3% ($p < 0.001$) and APTT by 10.2% ($p < 0.001$), an increase in the level of FG by 22.3% ($p < 0.001$) and SFMC 1.6 times ($p < 0.001$). The increase in the prothrombogenic potential of the blood occurred not only due to procoagulant changes, but also due to the inhibition of fibrinolytic activity in both groups I and II. In this case, XIIa-DF was 1.6 times longer in group II, compared with a similar

indicator of group I ($p < 0,001$). The reduction of APTT by 14% in group III and by 22% in group IV ($p < 0,05$) compared with the control group was accompanied by a reduction of TT by 20.4% in group IV compared with group III ($p < 0,001$). The FG content was higher in group IV (by 13.04% and 34.5%) compared to group III and control group ($p < 0,05$ and $p < 0,001$, respectively). The concentration of SFMC exceeded the reference values in group III by 1.6 times and increased with the addition of diabetes by 64.3% ($p < 0,001$). Attention was drawn to the fact that the decrease in the activity of protein C (PrC) was detected only in group IV compared with the control group ($p < 0,05$) and was confirmed by a prolongation of time XIIa-DF in the same group by 39.7% ($p < 0,001$).

Thus, our studies have shown that in patients with coronary heart disease there is a unidirectional nature of changes in the aggregation properties of platelets in different clinical variants. However, the most pronounced changes in aggregation parameters, namely SPA, were found in the group of patients with ACS, which was also accompanied by more suppressed induced platelet aggregation. Summarizing the results of the study of platelet hemostasis, it should be noted that in patients with diabetes 1.8 times more intense SPA ($p < 0,001$), with a significant proportion of platelets is involved in the formation of aggregates.

The changes revealed as a result of studying the coagulation of hemostasis in the studied groups revealed an increase in plasma concentrations of FG and SFMC, which is most pronounced in ACS, confirms the fact of thrombophilia in ACS and may serve as an indicator of coronary heart disease progression. Patients with ACS have consistently low levels of ATIII activity and fibrinolysis, which in combination with increased coagulation rates suggest the presence of hypercoagulation in the vascular bed. The decrease in the content of natural anticoagulants in group III indicates their increased consumption.

In addition, a significant prolongation of XIIa-DF was detected, which is also evidence of inhibition of fibrinolysis processes with maximum inhibition of

1.6 times in patients with a combined course of ACS and DM. Thus, the presence of DM in patients with ACS and CCS is characterized by a number of changes in the hemostasis system, leading to an increased risk of thrombotic complications.

The next stage was devoted to the study of genetic aspects of thrombosis among the studied patients in order to assess the state of platelet and plasma hemostasis in the presence of a certain polymorphism. The study of genetic aspects of thrombosis indicates the predominance of the latter in people with "unfavorable" alleles of proteins involved in the hemostatic cascade. One of the effective approaches to studying the role of genetic mechanisms is associated with the selection of genes that have the greatest contribution to the regulation of the primary link of hemostasis, ensuring the adequacy of the platelet response.

The most important feature in platelet activation is the modification of the membrane glycoprotein IIb/IIIa complex. To investigate the association of the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene with hemostasis activity, the results of a genetic study of platelet glycoprotein receptors for FG (one of the subunits encoded by this gene) in patients with ACS and CCS in combination with DM were analyzed.

The analysis of the spread of the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene had the following distribution: in the cohort of patients with ACS native T/T genotype was present in 71.7% of patients (n = 43), T/C - 16.6% (n = 10), C/C - 11.7% (n = 7). In the cohort of patients with ACS, these genotypes occurred with the following frequency: T/T - 88.3% (n = 53), T/C - 8.3% (n = 5), C/C - 3.3% (n = 2). The rate of SPA in the cohort of patients with ACS significantly differed from the control group in all subgroups and most of all in the genotype C/C - 5.5 times (p <0.001). The presence of the C allele was associated with an increase in the degree of SPA by 76.9% in the T/C subgroup (p <0.01) and by 94.7% in the C/C subgroup (p <0.001) relative to the T/T genotype. The degree of AA-aggregation in the subgroup of patients with C/C genotype was higher by 22% compared with the subgroup T/T and 16.6% - compared with the subgroup T/C

($p > 0.05$). The degree of ADP aggregation in the subgroup C/C was 1.68 times higher than the control group ($p < 0.01$).

In the cohort of patients with ACS, the degree of SPA also differed significantly from the control group in all subgroups, and the highest rate was recorded in the subgroup C/C - 2.18 [2.04; 2.31], which was 2.5 times higher than the control value ($p < 0.05$). The degree of AA aggregation did not show a clear dependence on the genotype, but the rate in the subgroup with the C/C mutation was 2.3 times higher than in the subgroup T/T ($p < 0.05$). Carriage of the C-allele caused an increase in ADP aggregation by 63.1% in the subgroup T/C ($p < 0.01$) and a significant 2.4-fold increase in the subgroup C/C ($p < 0.05$) relative to the T/T genotype. The general trend of changes in platelet aggregation in groups III and IV repeated the changes characteristic of groups I and II, namely: an increase in the degree and rate of SPA, AA- and ADP-aggregation with the appearance of the C allele, but in the intergroup analysis there was a significant difference only indicators of the degree of aggregation.

The presence of the mutated C-allele of the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene in the cohort of patients with ACS, especially the homozygous form, was accompanied by accelerated blood coagulation compared with the native genotype, which was accompanied by an increased FG level of 8.5% ($p < 0.01$) in this category of patients. However, the degree of fibrinolytic changes did not depend on mutations in the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene. The general direction of hemostasiological changes in the cohort of patients with CCS and its association with the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene did not differ from the group with ACS, which increases the significance of the identified connections.

In patients with ACS, the native G/G genotype of the G455A polymorphism of the FGB gene was present in 76.67% of patients ($n = 46$), genotype G/A - 18.33% ($n = 11$), A/A - 5% ($n = 3$). In the cohort of patients with CCS G/G genotype - 70% ($n = 47$), G/A - 30% ($n = 13$). The degree of SPA in the cohort of

patients with ACS significantly exceeded the control group in both subgroups of examined patients ($p < 0.001$), and the rate of SPA in the subgroup G/A-A/A was 79.8% higher than the control ($p < 0.05$). The degree and rate of AA- and ADP-aggregation did not become statistically significant between subgroups ($p > 0.05$). The study of platelet activity in patients with CCS revealed significant changes in the degree of SPA in the subgroup G / G, which was 37.5% higher than the control group ($p < 0.01$).

In patients with ACS, an increase in coagulation activity was found due to PT and APTT, which were significantly more suppressed in the case of mutated G455A polymorphism of the FGB gene. But the probability of changes in the anticoagulant and fibrinolytic link did not depend on mutations in the G455A polymorphism of the FGB gene. The cohort of patients with CCS confirmed a more significant activation of the procoagulation system in the presence of DM and drew attention to the dynamics of changes in FG levels in both variants of polymorphism, especially with mutated A-allele, which emphasizes the role of G455A polymorphism of the FGB gene study in this population.

In cohorts of patients with both ACS and CCS, the native G/G genotype of the G20210A polymorphism of the FII gene was present in 95% of patients ($n = 57$ in both groups). G/A genotype in the first cohort occurred in 2 patients (3.3%), A/A - 1 patient (1.7%). In the cohort of patients with CCS, the G/A mutation had 3 patients (5%).

The rate of SPA among patients with ACS significantly differed from the control group for both genotypes ($p < 0,01$), and in the subgroup with the mutated A-allele was 4.5 times higher than the control value. Analysis of platelet activity of patients with CCS in both genotypes of the G20210A polymorphism of the FII gene showed no significant difference between the indicators and with the control group ($p > 0.05$).

The general tendencies of changes of plasma hemostasis in the group of patients with ACS tended to activate coagulation processes, but they did not

depend on mutations in the G20210A polymorphism of the FII gene, but in the presence of mutated A-allele significantly different from the control group. It was in this subgroup of patients that the activation of coagulation processes and elongation of fibrinolytics were demonstrated in both the group of patients with ACS and CCS.

Thus, the analysis of platelet-plasma hemostasis in patients with coronary heart disease and its relationship to the studied genes led to the conclusion that the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene, G455A polymorphism of the FGB gene and G20210A polymorphism of the FII gene is not associated with the presence of concomitant DM. The degree of SPA has a clear relationship with the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene, and the presence of a mutated C-allele is accompanied by an increase in aggregation capacity, the maximum values of which are observed in the case of homozygous C/C mutation. For each cohort of patients, both with concomitant DM and without it, the general tendencies of changes are characteristic: growth of indicators of degree and speed of SPA at emergence of the mutated C-allele. Significant influence of diabetes was mainly on the degree of SPA, and, to some extent, on the degree of AA- and ADP-induced aggregation, but only in subgroups with T/T genotype of the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene. The presence of the mutated C-allele of the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene in the cohort of patients with ACS, especially the homozygous form, was accompanied by an acceleration of blood coagulation compared with the native genotype, which was confirmed by elevated FG levels. However, the degree of fibrinolytic changes did not depend on mutations in the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene. The general direction of hemostasiological changes in the cohort of patients with CCS and its association with mutation of T1565C polymorphism of the ITGB3 gene did not differ from the group with ACS, which increases the significance of the identified connections.

We did not find the effect of the presence of mutated A-allele of the G455A polymorphism of the FGB gene on platelet hemostasis, due to the lack of statistically significant changes between the studied subgroups, but in the study of plasma hemostasis it was noted that in the group of patients with ACS increased coagulation activity externally in any genotype of the G455A polymorphism of the FGB gene, as evidenced by the shortening of the PT, and the presence of concomitant DM significantly affected the suppression of the anticoagulant and fibrinolytic system of the blood. The cohort of patients with CCS confirmed more significant activation of the procoagulation system in the presence of concomitant diabetes and drew attention to the dynamics of changes in FG levels in both variants of genotype, especially with mutated A-allele, which emphasizes the importance of studying the G455A polymorphism of the FGB gene in this population.

The study of G20210A polymorphism of the FII gene and analysis of their influence on platelet-plasma hemostasis in patients with ACS and CCS allowed to indicate the absence of statistically significant dependences in intergroup analyzes of platelet-plasma hemostasis. Only in the presence of a mutated A-allele, plasma hemostasis significantly differed from the control group. It was in this subgroup of patients that the activation of coagulation processes and prolongation of fibrinolytic processes was demonstrated in both the group of patients with ACS and CCS, and a feature of the ACS group was the suppression of the PrC system.

The last part of the dissertation is devoted to the analysis of the effectiveness of antiplatelet treatment with clopidogrel, based on the G681A polymorphism of the CYP2C19 gene.

Genotyping revealed that in 73.3% of the cohort of patients with ACS and in 86.4% of the cohort of patients with CCS, the G/G genotype of the G681A polymorphism of the CYP2C19 gene prevailed, which is considered native in the general population. The degree of SPA among patients with G/A-A/A genotype

exceeded control values by 4.6 times ($p < 0.001$). The degree and rate of AA-induced platelet aggregation was significantly lower than the control values in all subgroups, but did not differ between subgroups of patients with different genotypes of the G681A polymorphism of the CYP2C19 gene. The degree and rate of ADP-induced platelet aggregation had no statistically significant changes either in the control group or in the intergroup analysis.

The degree of SPA in patients with stable coronary heart disease was significantly higher than control values. Thus, in the G/G genotype it exceeded the control group by 28.4% ($p < 0.05$), and in the mutation of the A-allele - by 64.8% ($p < 0.01$). The platelet response of the studied groups of patients with AA-aggregation was almost the same in degree and speed with the control group. The degree of ADP-induced aggregation did not have a significant difference between the examined groups ($p > 0.05$), although the rate of aggregation was significantly different from control values and was lower by 67.9% in patients with G/G genotype ($p < 0.05$).

To assess the effect of DM on the effectiveness of inhibition of platelet functional activity by clopidogrel in carriers of different allelic variants of the G681A polymorphism of the CYP2C19 gene, we investigated the degree of ADP platelet aggregation. Because the frequency of the A/A genotype in each group was too low for statistical analysis, we further combined individuals with the presence of the A allele in the form of homo- and heterozygous mutations into one group. The group of isolated coronary heart disease consisted of 48 patients with G/G genotype (80%) and 12 patients with mutated A-allele (20%). Patients with pathology of carbohydrate metabolism were distributed as follows: 47 patients had G/G genotype (78%), and 13 - G/A-A/A (22%). Comparing both cohorts, it was found that in the group with combined pathology and G/G genotype the degree of ADP-aggregation was 47.13% higher than in the group of isolated coronary heart disease (40.1 [33.43; 48.0] against 27.26 [12.8; 47.43]). The odds ratio did not show a significant dependence on the presence of

concomitant DM (OR = 1.035; 95% CI: 0.442 - 2.427; $p = 0.944$). And when carrying the G/A-A/A genotype, a similar difference was 72.6% (57.65 [49.34; 67.8] versus 33.4 [32.47; 37.99], $p < 0.01$). The chance of encountering a high degree of ADP-induced aggregation among carriers of the A-allele of the G681A polymorphism of the CYP2C19 gene with DM was almost 17 times significantly higher than the group of patients with isolated coronary heart disease (OR = 16.667; 95% CI: 2.273 - 122.218; $p = 0.009$), demonstrating high sensitivity (Se = 76.9%) and specificity (Sp = 83.3%) of the method. Therefore, patients with impaired carbohydrate metabolism have a higher risk of developing thrombophilia with clopidogrel compared with the group without comorbid pathology.

The data obtained in our study showed that the sample of patients with coronary heart disease and concomitant diabetes mellitus who had a mutated A-allele was less sensitive to the action of clopidogrel, which was manifested in a higher degree of ADP-induced platelet aggregation. At the same time, it should be noted that not only genetic polymorphism is a predictor of thrombotic complications. It is known that in diabetes there are hemocoagulation and rheological disorders characterized by increased aggregation activity of platelets. Despite the proven effect of the mutated genotype of the G681A polymorphism of the CYP2C19 gene on the efficacy of platelet inhibition in treatment with P2Y12 receptor inhibitors, the question of correction of antiplatelet therapy in carriers of certain alleles of this gene remains open.

Scientific novelty of the obtained results

In patients with coronary heart disease and type 2 diabetes mellitus to assess the functional activity of platelets on the background of antiplatelet therapy proved the need to use optical laser aggregometry to determine the degree and rate of spontaneous and AA- and ADP-induced platelet aggregation, especially the choice of platelets. action of drugs.

The dissertation first analyzed the frequency of allelic polymorphisms and the prevalence of G20210A polymorphism of the FII gene, G455A polymorphism of the FGB gene, T1565C polymorphism of the ITGB3 gene in patients with coronary heart disease in combination with DM and assessed the Hardy-Weinberg equilibrium for each polymorphism. The absence of association of diabetes with G20210A polymorphism of the FII gene, G455A polymorphism of the FGB gene, T1565C polymorphism of the ITGB3 gene in patients with ACS and CCS has been proved.

For the first time, the relationship between the studied candidate genes and the indicators of platelet-plasma hemostasis in patients with comorbid pathology was studied.

The scientific novelty of the dissertation is the personalization of the approach to the selection and control of the effectiveness of antiplatelet therapy depending on the state of the hemostasis system and the features of the G681A polymorphism of the CYP2C19 gene. Scientific data on the relationship between clopidogrel resistance and G681A polymorphism of the CYP2C19 gene have been updated.

The practical significance of the results.

The dissertation substantiates the need to use laser optical aggregometry to assess the functional state of platelets by spontaneous and induced aggregation in platelet-enriched plasma and to assess the coagulation potential of blood. The feasibility of genotyping patients with coronary heart disease, regardless of the stability and the presence of concomitant type 2 diabetes mellitus, because the presence of a homozygous mutation of the C-allele of the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene is associated with an increase in spontaneous platelet aggregation, reflecting the state of initial activation and platelets. accelerated blood clotting. A mutation in the G455A polymorphism of the FGB and G20210A polymorphism of the FII gene, in turn, showed activation of coagulation processes

and prolongation of fibrinolytic both in patients with acute coronary heart disease and in stable forms of coronary heart disease.

Conclusions:

Among the adult population of Ukraine suffering from coronary heart disease, there is a steady increase in the number of patients with concomitant type 2 diabetes. The comorbid course of acute and chronic forms of coronary heart disease and type 2 diabetes mellitus in connection with the aggravating factors influencing the activation of thrombosis determines the diagnostic value of the study of the genetic component of platelet and plasma hemostasis as a basis for personalized treatment. one of the most urgent tasks of modern cardiology.

1. The results showed the activation of platelet hemostasis in patients with ACS, which was confirmed by the degree of SPA, which was 2.5 times higher than the control group. However, we note that in the group of patients with CCS, this figure significantly exceeded the control data, which suggests the presence of residual platelet reactivity in this cohort of patients, while with concomitant diabetes on a background of significantly increased 4.6 times spontaneous aggregation remains suppressed response to AA-inductor and high values of ADP aggregation.

2. Activation of the coagulation link is accompanied by a shortening of PT, TT, APTT among all examined patients with the most significant changes in patients with comorbid corticosteroids. The decrease in anticoagulant activity of blood in patients with ACS and diabetes is characterized by inhibition of the ATIII system by 27.5%, PrC by 16% and fibrinolysis by 56.3% ($p < 0.001$), which deepens the procoagulant changes by increasing the level of fibrinogen by 22.4 % relative to the group of isolated corticosteroids ($p < 0,001$), while patients with CCS and diabetes have similar changes, confirms the presence of thrombophilia in both acute and chronic coronary syndrome on the background of diabetes.

3. In patients with ACS and CCS polymorphic alleles of the G455A polymorphism of the FGB gene and G20210A polymorphism of the FII gene

occur with the same frequency, whereas in ACS the probability of mutation of the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene is 28% versus 12% in CCS ($p < 0.01$), and the mutant allele of the G681A polymorphism of the CYP2C19 gene is more common - 27% vs. 14% ($p < 0.01$), and no gene polymorphism is associated with the presence of concomitant DM.

4. The presence of C/C genotype of the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene is accompanied by a pronounced activation of SPA in 5.5 times ($p < 0.001$) in the cohort of patients with ACS and in 2.5 times ($p < 0.05$) among patients with CCS, but the growth rate and the rates of AA- and ADP-induced aggregation with the appearance of the mutated C-allele have no significant intergroup difference. G455A polymorphism of the FGB gene and G20210A polymorphism of the FII genes do not have a significant effect on platelet hemostasis, regardless of concomitant DM, however, in patients with acute coronary circulatory disorders there is a tendency to activate SPA with the appearance of mutated alleles.

5. Detection of the mutated C-allele of the T1565C polymorphism of the ITGB3 gene is associated with accelerated blood clotting compared to the native genotype, regardless of changes in the fibrinolytic link. Activation of hemocoagulation by mutations in the G455A polymorphism of the FGB gene in the group of patients with ACS is manifested by a shortening of PT by 16.8% and APTT by 10.1% ($p < 0.05$), and the presence of concomitant DM has a greater impact on anticoagulant and fibrinolytic units, accompanied by growth by 20% ($p < 0.05$) level of FG in the presence of a mutated A-allele in stable forms of coronary heart disease. A feature of the CCS group is the suppression of the PrC system by 27.2% in the presence of a mutated A-allele of the G20210A polymorphism of the FII gene ($p < 0.05$).

6. Carriers of the A-allele of the G681A polymorphism of the CYP2C19 gene with comorbid coronary heart disease and DM, despite taking clopidogrel, had a high degree of ADP-induced platelet aggregation much more often than in

patients with isolated coronary heart disease (OR = 16,667; 2,2% CI). - 122,218; $p = 0,009$) with high sensitivity (Se = 76.9%) and specificity (Sp = 83.3%) of the indicator, which may indicate less effective treatment with clopidogrel in this cohort of patients.

Key words: *platelet-plasma hemostasis, coronary heart disease, type 2 diabetes mellitus, gene polymorphism, clopidogrel resistance.*

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Karpenko, O.O. (2016). Pharmacogenetic testing for CYP2C19 gene polymorphism for optimization of using antiplatelet therapy in patients with ischemic heart disease. *ScienceRise: Medical Science*, 8(4), 15-20.
2. Karpenko, O. (2019). Стан згортуючої, антикоагулянтної та фібринолітичної активності крові у хворих на гостру ішемічну хворобу серця та особливості змін при поєднанні з цукровим діабетом типу 2 (когортне проспективне дослідження). *ScienceRise. Medical Science*, (4 (31)), 4-8.
3. Карпенко, О.О. (2019). Вплив антитромбоцитарного лікування на агрегаційну здатність тромбоцитів у хворих на ішемічну хворобу серця та у поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, (1), 11-17.
4. Karpenko, O.O., Netiazhenko, V.Z. and Plenova, O.M. (2019). ITGB3 gene polymorphism and its relation to platelet phase of hemostasis activity in patients with coronary artery disease combined with type 2 diabetes. *East European Science Journal*, 11(51), 24 – 29. (Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку)
5. Karpenko, O.O. and Netiazhenko, V.Z. (2020). Mutation of the fibrinogen gene G(-455)A and activity of platelet hemostasis in patients with acute and chronic coronary syndromes. *Norwegian Journal of development of the International Science*, 49(2020), 12 – 14. (Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів,

- висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку).*
6. Карпенко, О.О., Нетяженко, В.З. (2020). Вплив мутації гена інтегрин бета-3 та цукрового діабету 2 типу на активність тромбоцитарного гемостазу у хворих на гострі та хронічні коронарні синдроми. *Проблеми ендокринної патології*, 3(2020), 62 – 70. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку).*
 7. Karpenko, O.O. (2016). Cyp2c19 genetic testing for personalisation using of anti platelet therapy in patients with history of myocardial infarction. *Науково-практичний журнал «Український кардіологічний журнал» - Матеріали XVII Національного конгресу кардіологів України*. (3), 155.
 8. Карпенко, О.О., Нетяженко, В.З. (2019). Особливості змін функціональної активності тромбоцитів у хворих із поєднанням ІХС та цукрового діабету 2-го типу в умовах проведення подвійної антитромбоцитарної терапії. *Український кардіологічний журнал*, 26(1), 46 – 47. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено тези до друку).*
 9. Карпенко, Е.А. (2019). Особенности изменений коагуляционного гемостаза у пациентов с острой ишемической болезнью сердца и при комбинации с сахарным диабетом 2 типа. *Сборник материалов VIII Международного молодежного медицинского конгресса «Санкт-Петербургские научные чтения-2019»*, 173.

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень	40
Вступ	42
Розділ 1. Ішемічна хвороба серця – стан проблеми коморбідного перебігу, аспекти персоналізації підходу до діагностики та лікування (огляд літератури)	48
1.1. Поширеність ішемічної хвороби серця та цукрового діабету 2-го типу, особливості гемостазіологічних змін при їх коморбідному перебігу	48
1.2. T1565C поліморфізм гена ITGB3 тромбоцитарного гемостазу, G455A поліморфізм гена FGB та G20210A поліморфізм гена FII плазмового гемостазу при ішемічній хворобі серця	53
1.3. Генетичні аспекти персоналізованого підходу до антитромбоцитарного лікування ішемічної хвороби серця	61
Розділ 2. Матеріали і методи дослідження	69
2.1. Клінічна характеристика обстежених хворих	69
2.2. Методи дослідження системи гемостазу	75
2.3 Молекулярно-генетичні методи дослідження	77
2.4 Статистичні методи	78
Розділ 3. Особливості тромбоцитарного та плазмового гемостазу у хворих на гострий та хронічний коронарний синдром	80
3.1. Функціональна активність тромбоцитарного гемостазу у хворих на гострий та хронічний коронарний синдром	80
3.2. Активність плазмового гемостазу у хворих на гострий та хронічний коронарний синдром	83

Розділ 4. Особливості тромбоцитарного та плазмового гемостазу у хворих на гострий та хронічний коронарний синдром з супутнім цукровим діабетом 2-го типу	88
4.1. Функціональна активність тромбоцитарного гемостазу у хворих на гострий та хронічний коронарний синдром з супутнім цукровим діабетом 2-го типу	88
4.2. Показники коагуляційного гемостазу у хворих на різні форми ішемічної хвороби серця в поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу	94
Розділ 5. Частота та зв'язок T1565C поліморфізму гена ITGB3, G455A поліморфізму гена FGB та G20210A поліморфізму гена FII з показниками гемостазу у пацієнтів з різними формами ішемічної хвороби серця у поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу	100
5.1. T1565C поліморфізм гена ITGB3 та його зв'язок з активністю тромбоцитарного та плазмового гемостазу	100
5.2. G455A поліморфізм гена FGB та його зв'язок з активністю тромбоцитарного та плазмового гемостазу	123
5.3. G20210A поліморфізм гена FII та його зв'язок з активністю тромбоцитарного та плазмового гемостазу	140
Розділ 6. Оцінка ефективності антитромбоцитарного лікування пацієнтів з різними формами ішемічної хвороби серця поєднаної з цукровим діабетом 2-го типу	150
Аналіз та узагальнення результатів дослідження	158
Висновки	188
Практичні рекомендації	191
Список використаних джерел	192
Додатки	219

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АДФ	– аденозиндифосфат
АК	– арахідонова кислота
АТШ	– антитромбін Ш
АСК	– ацетилсаліцилова кислота
АЧТЧ	– активований частковий тромбoplastиновий час
ВШ	- відношення шансів
ГКС	– гострий коронарний синдром
ДІ	- довірчий інтервал
ДНК	– дезоксирибонуклеїнова кислота
ІМ	– інфаркт міокарда
ІХС	– ішемічна хвороба серця
КГ	– контрольна група
нс	– нормалізаційне співвідношення
РФМК	– розчинні фібрин мономерні комплекси
ПАТТ	– подвійна антитромбоцитарна терапія
ПЛР	– полімеразна ланцюгова реакція
ПрС	– протеїн С
ПТЧ	– протромбіновий час
СпАТ	– спонтанна агрегація тромбоцитів
СН	– серцева недостатність
СРА	– середній розмір агрегатів
ССЗ	– серцево-судинні захворювання
ТЧ	– тромбіновий час
ФГ	– фібриноген
ХІа-ЗФ	– ХІа – залежний фібриноліз
ХКС	– хронічний коронарний синдром
ЦД	– цукровий діабет 2-го типу

ОНП	– однонуклеотидний поліморфізм
ITGB3	– ген інтегрину бета 3
FGB	– ген фібриногену
FII	– ген протромбіну
CYP2C19	– ген цитохрому P450 2C19
AA	– arachidonic acid
ADP	– adenosine diphosphate
ACS	– acute coronary syndrome
APTT	– activated partial thromboplastin time
CCS	– chronic coronary syndrome
DM	– diabetes mellitus
FG	– fibrinogen
PrC	– protein C
PT	– prothrombin time
TT	– thrombin time
SFMC	– soluble fibrin monomer complex
SPA	– spontaneous platelets aggregation
XIIa DF	– XIIa dependent fibrinolysis

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Ішемічна хвороба серця (ІХС) - мультифакторне захворювання, в розвитку і прогресуванні якого грає роль взаємодія генетичних, фенотипових, середовищних та соціально-економічних чинників. Знання генетичних факторів, що сприяють розвитку захворювання і його ускладнень, має важливе прогностичне значення і може використовуватися як до появи будь-яких клінічних або біохімічних симптомів хвороби, так і при виборі препаратів і методів лікування. При цьому можна виділити групу так званих генів-кандидатів, продукти яких можуть бути прямо або побічно залучені в патологічний процес. Дослідження генетичної складової багатфакторних захворювань включає пошук поліморфних маркерів в генах, здатних робити внесок в розвиток хвороби, і проявляється в достовірній різниці частоти певного генотипу цього маркера у хворих і здорових осіб однієї і тієї ж популяції. Подібні дослідження дозволяють прогнозувати генетичний ризик розвитку захворювання і його перебіг, особливо при коморбідній патології. Серед таких генів-кандидатів на особливу увагу заслуговують гени системи гемостазу, які відіграють значну роль у виникненні та прогресуванні серцево-судинних захворювань (ССЗ).

Дослідження генетичної складової розвитку тромботичних ускладнень у пацієнтів із серцево-судинною патологією є надзвичайно актуальним на сьогоднішній день. Враховуючи вище сказане в нашій роботі були обрані гени, відповідальні за активність окремих ланок системи гемостазу. Зокрема, тромбоцитарний гемостаз – ген тромбоцитарного рецептора фібриногену (ITGB3), що кодує мембранний тромбоцитарний глікопротеїн IIIa, який, в свою чергу, утворює комплекс з GPIIb. Гени, що відображають активність заключних ланок системи гемокоагуляції, а саме, утворення згустку – ген протромбіну (FII), як найбільш поширений в

українській популяції, а також ген фібриногену (FGB), від якого залежить концентрація і функціональна активність самого фібриногену.

Розширення останнім часом арсеналу антитромботичних засобів, а саме, антитромбоцитарних препаратів і результати ряду проведених досліджень, які вказують на можливість потенційного обмеження їх ефективності вказують на необхідність пошуку безпосередніх причин. Так, відомо, що резистентність до використання аспірину варіює від 5% до 45% населення. Великі надії поклалися на інші антитромбоцитарні препарати, зокрема, на клопідогрель, який широко застосовується відповідно до рекомендацій, але виявилось, що і він має значні обмеження ефективності – у 20-40% пацієнтів розвивається нечутливість до терапії. Таким чином, вивчення генетичної складової має велике значення для призначення ефективного лікування. Зокрема, ген CYP2C19 впливає на метаболізм клопідогрелю, а вивчення ролі його поліморфізмів дозволить виявити самі ті генетичні складові, які можуть потенційно впливати на ефективність призначеного лікування, тобто, на персоналізований підхід у підборі терапії.

Отже, сутність моделі персоналізованої медицини полягає в призначенні лікування пацієнтам виходячи з їх індивідуальних особливостей, і що безумовно важливо - «набору» поліморфізмів певних генів. Це дозволяє зробити медикаментозне лікування максимально ефективним і безпечним. Особливого значення цей підхід набуває у пацієнтів із ССЗ і коморбідною патологією, враховуючи розповсюдженість та важкість перебігу таких захворювань.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.
Дисертаційна робота виконана в рамках ініціативно-пошукової науково-дослідної роботи кафедри пропедевтики внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця «Особливості змін системи гемокоагуляції при коморбідному перебігу ішемічної хвороби

серця, лабораторні та генетичні предиктори тромботичних ускладнень» (державний реєстраційний номер №0118U001391).

Мета: встановлення особливостей змін тромбоцитарної та плазмової ланок гемостазу у хворих на ішемічну хворобу серця із супутнім цукровим діабетом 2-го типу, залежно від G20210A поліморфізму гена FII, G455A поліморфізму гена FGB, T1565C поліморфізму гена ITGB3, G681A поліморфізму гена CYP2C19 та визначення ефективності антитромботичного лікування.

Завдання дослідження:

1. Встановити особливості змін тромбоцитарного та плазмового гемостазу у хворих на ІХС із супутнім ЦД.
2. Вивчити частоту G20210A поліморфізму гена FII, G455A поліморфізму гена FGB, T1565C поліморфізму гена ITGB3, G681A поліморфізму гена CYP2C19 та проаналізувати їх превалювання при різних формах ІХС.
3. Дослідити активність тромбоцитарної ланки гемостазу та визначити ймовірний зв'язок G20210A поліморфізму гена FII, G455A поліморфізму гена FGB, T1565C поліморфізму гена ITGB3 з спонтанною та індукованою агрегацією тромбоцитів.
4. Визначити стан згортаючої активності крові залежно від G20210A поліморфізму гена FII, G455A поліморфізму гена FGB, T1565C поліморфізму гена ITGB3.
5. Встановити чутливість до клопідогрелю залежно від генотипів за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 на підставі комплексної оцінки тромбоцитарного гемостазу.

Об'єкт дослідження: ІХС та ІХС у поєднанні з ЦД.

Предмет дослідження: активність тромбоцитарної та плазмової ланки гемостазу та поліморфізм G20210A гена FII, G455A гена FGB, T1565C гена ITGB3, G681A гена CYP2C19.

Методи дослідження:

1. Загально-клінічні;
2. Клініко-анамнестичні;
3. Біохімічні методи (лазерна агрегометрія, коагулологічні, полімеразно-ланцюгові реакції);
4. Клініко-статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів

У хворих на ІХС та ЦД з метою оцінки функціональної активності тромбоцитів на тлі прийому антитромбоцитарної терапії доведено необхідність використання методу оптичної лазерної агрегометрії для визначення ступеня та швидкості спонтанної та АК- та АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів, вибір яких залежить від особливостей дії препаратів.

В дисертаційній роботі вперше проаналізовано частоту та поширеність генотипів за G20210A поліморфізмом гена FII, G455A поліморфізмом гена FGB, T1565C поліморфізмом гена ITGB3 у хворих на ІХС у поєднанні з ЦД та доведено відповідність рівновазі Харді-Вайнберга для кожного поліморфізму. Доведено відсутність асоціації ЦД з G20210A поліморфізмом гена FII, G455A поліморфізмом гена FGB, T1565C поліморфізмом гена ITGB3 у хворих на ГКС та ХКС.

Вперше вивчено зв'язок досліджуваних генів-кандидатів, а саме, G20210A поліморфізм гена FII, G455A поліморфізм гена FGB, T1565C поліморфізм гена ITGB3, G681A поліморфізм гена CYP2C19 з показниками тромбоцитарно-плазмового гемостазу хворих на коморбідну патологію.

Наукова новизна дисертаційної роботи полягає в персоналізації підходу до підбору та контролю ефективності антитромбоцитарної терапії в залежності від стану системи гемостазу та особливостей поліморфізму гена CYP2C19. Доповнено наукові дані щодо зв'язку клопідогрелерезистентності та генотипів за G681A поліморфізмом гена CYP2C19.

Практичне значення отриманих результатів

В дисертаційній роботі обґрунтовано необхідність використання лазерної оптичної агрегометрії для оцінки функціонального стану тромбоцитів методом спонтанної та індукованої агрегації у збагаченій тромбоцитами плазмі. Визначено доцільність генотипування хворих на ІХС, незалежно від стабільності перебігу та наявності супутнього ЦД за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, оскільки наявність С/С генотипу пов'язана зі зростанням ступеню спонтанної агрегації тромбоцитів, що відображає стан початкових ланок активації кров'яних пластинок, та прискореним згортанням крові.

Особистий внесок здобувача

Дисертанткою разом з науковим керівником обрано тему дисертаційної роботи, сформульовано мету, встановлено задачі дослідження, складено план та розроблено дизайн виконання роботи. Дисертанткою проведена систематизація літературних даних з досліджуваної проблеми, визначено актуальність, сформовано групи спостереження, виконано весь обсяг клінічного обстеження, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих результатів. Дисертантка самостійно опрацювала всі розділи дисертації, виконала систематизацію та інтерпретацію отриманих результатів, сформулювала висновки та практичні рекомендації.

Робота виконувалася на кафедрі пропедевтики внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (завідувач кафедри – член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, професор Нетяженко Василь Захарович). Здійснювалась наукова співпраця з КНП «Київська міська клінічна лікарня №1» (директор – Іванько О.В.) та Клінічною лікарнею «Феофанія» ДУС (головний лікар – Семенів І.П.), що підтверджено угодами про співпрацю.

Апробація результатів дослідження

Основні положення дисертаційної роботи доповідалися автором на наукових форумах: XVII Національний конгрес кардіологів України (м.Київ, 20 - 22.09.2017 р.), Науково-практична конференція «Інноваційні аспекти впровадження європейських стандартів діагностики та лікування хворих з серцево-судинною патологією в практику лікаря внутрішньої медицини» (м.Київ, 23.05.2018 р.), Науково-практична конференція «Нові вітчизняні та закордонні клінічні настанови в практиці лікарів внутрішньої медицини в умовах пандемії COVID-19» (10.09.2020 р., 16.09.2020 р., 17.09.2020 р., 06.10.2020 р., 13.10.2020 р., 03.11.2020 р., 10.11.2020 р.), XXI Національний конгрес кардіологів України (22-25 вересня 2020 р.)

Публікації

За темою дисертаційної роботи опубліковано 9 наукових праць, з них 6 статей та 3 тези: 2 статті у періодичних наукових виданнях інших держав, яка входить до Організації економічного співробітництва та розвитку і Європейського союзу (Польща, Норвегія), 3 статті у наукових фахових виданнях, затверджених МОН України, 1 стаття у журналі, що входить до міжнародної наукометричної бази SCOPUS.

Структура та обсяг дисертації

Дисертаційна робота викладена на 221 сторінці друкованого тексту, складається з анотації українською та англійською мовами, переліку умовних скорочень, вступу, аналітичного огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дисертаційної роботи, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних літературних джерел.

Роботу ілюстровано 49 таблицями та 12 рисунками. Список літератури містить 198 джерел, які займають 27 сторінок.

РОЗДІЛ 1

ІШЕМІЧНА ХВОРОБА СЕРЦЯ – СТАН ПРОБЛЕМИ КОМОРБІДНОГО ПЕРЕБІГУ, АСПЕКТИ ПЕРСОНІФІКАЦІЇ ПІДХОДУ ДО ДІАГНОСТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Поширеність ішемічної хвороби серця та цукрового діабету 2-го типу, особливості гемостазіологічних змін при їх коморбідному перебігу

Ішемічна хвороба серця - одне з найбільш розповсюджених та підступних захворювань на сьогоднішній день [1]. Кожен другий чоловік та кожна третя жінка середнього віку мають клінічні прояви ІХС, у майже 2/3 з них виявляють порушення метаболізму глюкози, що робить ІХС однією з найбільш актуальних проблем сучасної кардіології [2]. В Україні поширеність ІХС серед дорослого населення, за даними деяких авторів, становить 12,2 %, а в осіб старше 55 років показник зростає до 12,9% [3].

Останні роки у світі та у нашій державі характеризуються неухильним збільшенням числа хворих на ЦД. За прогнозами експертів Міжнародної федерації діабету (International Diabetes Federation), до 2045 року число хворих на ЦД в світі досягне 600 мільйонів людей, а це практично кожен десятий мешканець планети [4]. Приблизно стільки ж людей знаходитимуться в стані пре-діабету [5, 6]. Тоді як лише у 80-х роках минулого століття кількість хворих була тільки 30 мільйонів [7].

Для ЦД характерний високий ризик розвитку ІХС, інфаркту міокарда (ІМ), інсульту, серцевої недостатності, крім того відомо, що ЦД та ССЗ взаємно обтяжують одне одного, при цьому ризик розвитку ІХС при супутньому ЦД зростає в 2 - 5 разів [8, 9]. За інформацією численних досліджень відомо, що більше половини хворих не знають про наявність у них ЦД, а діагностика часто відбувається на тлі вже існуючих серцево-

судинних ускладнень [10, 11]. Майже у 50% хворих з вже встановленим діагнозом ІХС діагностується вперше виявлений ЦД, порушена толерантність до глюкози або гіперглікемія натще [12]. У зв'язку з цим, Американська асоціація серця (American Heart Association) визначила наявність у хворих ЦД еквівалентом високого ризику судинних ускладнень, що співставно з таким при маніфестних ССЗ [6].

Відмічена висока смертність і рання інвалідизація хворих працездатного віку на тлі поширеності ЦД. Так, більше 50% пов'язаної з діабетом смертності опосередковано серцево-судинною патологією [13]. Смертність серед хворих на ЦД від кардіоваскулярних подій в 3 - 4 рази перевищує аналогічні показники в загальній популяції [14]. Експерти відзначають, що у розвинених країнах, де було досягнуто значних успіхів у боротьбі з ІХС, хворі на ЦД залишаються єдиною групою, в якій смертність від цієї хвороби незначно знижувалася у чоловіків і, навіть збільшувалася у жінок [15 – 17]. Для хворих на ЦД характерна висока частота «безбольових» форм ІМ, а наявність стертої клінічної картини призводить до пізньої діагностики захворювання, часто вже на стадії важких ускладнень у вигляді раптової смерті або вираженої недостатності кровообігу [18].

Розвиток пізніх судинних ускладнень, таких як мікро- та макроангіопатії, визначає особливості клінічного перебігу ЦД та прогнозу для життя хворого. Причинами виникнення та прогресування судинних ускладнень є гіперглікемія, гіперліпідемія, а також імунологічні, гормональні та генетичні порушення, частота ангіопатій при цьому сягає 80 - 100% випадків [19, 20]. Ці дані дають підстави віднести хворих на ЦД до групи високого ризику щодо прогресування атеросклеротичного процесу та виникнення серцево-судинних і цереброваскулярних ускладнень [21, 22]. Ріст захворюваності і поширеності зумовлений в основному збільшенням числа людей з ожирінням і збільшеною масою тіла, зниженням фізичної активності, збільшенням тривалості життя [23, 24].

З огляду останніх рекомендацій 2019 року Європейського кардіологічного товариства (ESC) та Європейської асоціації з вивчення цукрового діабету (EASD), заходам по запобіганню та стримуванню неминучих атеросклеротичних проявів у цієї групи хворих приділяється неабияке значення [25]. За даними метааналізу 102 проспективних досліджень виявлено, що ЦД удвічі підвищує ризик ІХС, ішемічного інсульту та смерті від них, незалежно від інших факторів ризику [26].

У хворих під впливом негативних факторів ризик розвитку ССЗ при наявності ЦД помітно зростає. За результатами численних досліджень останніх років, що були спрямовані на виявлення патогенетичних механізмів підвищення ризику розвитку і погіршення перебігу ІХС у хворих з ЦД, розроблена концепція так званого «кардіометаболічного ризику», яка включає в себе цілий ряд традиційних і нетрадиційних факторів ризику формування атеросклеротичного пошкодження коронарних судин при діабеті [27, 28, 29]. Фактори ризику були розділені за порушеннями на генетичні, біохімічні і патофізіологічні: гіперглікемія, артеріальна гіпертензія, дисліпідемія, ожиріння, активація генералізованого неспецифічного запалення, гіперкоагуляція, негативний вплив зовнішнього середовища та способу життя, підвищення артеріального тиску, спадкова схильність, вік, стать, паління, вживання великої кількості алкогольних напоїв [30, 31, 32, 33].

Розвиток ІХС при ЦД відбувається не тільки під впливом самої хвороби, а й під впливом гіпертонічної хвороби (ГХ) [34]. Виникнення артеріальної гіпертензії при ЦД в 50 - 70% випадків передуює порушенню вуглеводного обміну, тобто з однієї сторони ЦД розцінюється як стан, що сприяє розвитку ІХС, а з іншої - у численних пацієнтів із вже існуючою ІХС відмічають ЦД [35]. Отже, вчені простежують залежність: хворі на ЦД, належать до групи підвищеного ризику виникнення ІХС, атеросклерозу, а хворі на ІХС, атеросклероз - ЦД [36].

На тлі ураження великих та дрібних кровоносних судин у хворого розвивається діабетична кардіопатія, що в свою чергу призводить до прискореного розвитку атеросклерозу [37]. Відомо, що у пацієнтів з ЦД основна роль у ремоделюванні периферійних судин належить атеросклерозу, прогресуванню якого сприяє порушення кальцієвого гомеостазу. Надлишок Ca^{2+} всередині клітини приводить до зростання опору судин та дефіциту аденозинтрифосфату (АДФ), внаслідок чого порушується здатність еритроцитів до деформації при проходженні через капіляри, що впливає на в'язкість крові. У хворих з ЦД виявляють порушення обміну кальцію у тромбоцитах, що може зумовити їх підвищену схильність до агрегації [38].

Саме при ЦД відбуваються порушення як вуглеводного, так і ліпідного обміну, які сприяють посиленню адгезії та агрегації тромбоцитів, їх внутрішньо-судинної активності, тим самим порушуючи механізми функціонування кров'яних пластинок та створюють передумови для активного розвитку атеросклерозу [39]. Більш ранньому розвитку останнього сприяють порушення вуглеводного обміну, підвищення секреції інсуліну при ЦД, в першу чергу у хворих з надлишковою масою тіла [40]. Виникають порушення мікроциркуляції, підвищується в'язкість та згортання крові. Підвищення рівня фібриногену (ФГ), а також низька фібринолітична активність, що характерно для хворих на ЦД, призводить до розвитку гострих серцево-судинних ускладнень. За даними проспективних епідеміологічних досліджень відомо, що підвищення рівня ФГ супроводжується збільшенням ризику розвитку кардіоваскулярної патології в 2 - 3 рази, що є предиктором коронарного атеросклерозу та серцево-судинного ризику [41].

Реактивність тромбоцитарної складової розглядається останнім часом як провідна ланка розвитку, перебігу та формування ускладнень багатьох захворювань. І у цьому зв'язку найбільш часте на сьогоднішній

день та загрозливе поєднання становить ІХС та ЦД. Саме судинні ускладнення ЦД вважаються найбільш частою причиною ранньої інвалідизації та смерті цієї когорти хворих [42, 43]. У той же час, рання діагностика і ефективна терапія цих захворювань можуть відстрочити або запобігти розвитку ускладнень [44]. Разом з тим, до цих пір остаточно не вирішено питання про причини розвитку діабетичних ускладнень [45]. Встановлено, що при діабеті спостерігаються гемокоагуляційні та реологічні порушення, які супроводжуються дисфункцією ендотелію [46, 47]. Посилення ендотеліальної дисфункції, поряд із порушенням коагуляції, також призводить до мікроциркуляторних розладів [48].

Відомості про те, що фактори згортання крові беруть участь в ініціації судинних ускладнень, не нові [49], але інтерес до цього відродився через нове розуміння процесів та механізмів утворення тромбів, ролі факторів гемостазу у розвитку кардіоваскулярних подій.

Підвищена реактивність тромбоцитів – не єдина причина атеротромботичних ускладнень. Достатньо часто спостерігаються і аномалії прокоагуляції, пов'язані із підвищеним синтезом окремих факторів згортання крові, зокрема фактору VII і тромбіну та коагулянтів, сконцентрованих в зоні пошкодження міокарда (тканинний фактор), а також надмірне зниження рівня ендогенних антикоагулянтів (протейн С і тромбомодулін) та пригнічення фібринолізу (шляхом посилення його інгібіторного потенціалу), що значно підвищує ризик тромбоутворення у хворих із поєднанням ІХС та ЦД [50, 51, 52]. Переважна більшість дослідників проводила оцінку певної ланки системи гемокоагуляції. Комплексний підхід щодо визначення активності гемостазу у пацієнтів з ІХС у поєднанні з ЦД зустрічається рідко. Залишається остаточно не вирішеним питання щодо характеру змін всіх складових плазмового гемостазу у пацієнтів із гострими формами ІХС у поєднанні із ЦД на тлі тривалого прийому антитромботичних засобів. Інтегральна активність

системи згортання крові відіграє одну з ключових ролей у визначенні подальшої ефективності лікування цієї категорії хворих.

1.2 T1565C поліморфізм гена ITGB3 тромбоцитарного гемостазу, G455A поліморфізм гена FGB та G20210A поліморфізм гена FII плазмового гемостазу при ішемічній хворобі серця

Науково-технічний прогрес в медичній науці залежить від нових відкриттів, ідей і методів. Для переходу на якісно новий рівень надання медичної допомоги необхідний прискорений інноваційний розвиток медицини і формування персоналізованого підходу. Такий підхід потрібен для прогнозування схильності виникнення, розвитку захворювання, профілактики і лікування на основі індивідуального генетичного коду та інших персональних особливостей людини і зовнішнього середовища [53].

Основою для розвитку персоналізованої медицини є впровадження інноваційних профілактичних, діагностичних, лікувальних та реабілітаційних технологій, орієнтованих на людину з урахуванням його індивідуальних фізіологічних і психічних особливостей. Головна мета - збереження і підтримання здоров'я людини за рахунок інтелектуального виявлення біоіндикаторів прихованої патології, в тому числі вроджених і спадкових захворювань.

Відомо, що генетика на 25% визначає здоров'я людини, а решта відносять до впливу епігенетики, отже, дуже багато чого в житті залежить від самої людини і зовнішнього середовища [54, 55]. За даними бази знань з фармакогеноміки (PharmGKB), системи GeneCards, каталогу Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) та геномного браузеру Ensembl на сьогоднішній день відомо близько 500 генів-кандидатів, мутації в яких можуть створювати схильність до тромбозів [56].

Технологія методів секвенування нового покоління (next-generation sequencing (NGS) - дозволяє «прочитати» кілька ділянок геному

одномоментно, що є основною відмінністю цієї технології від відомих раніше методів секвенування. Результати NGS можна використовувати в практиці для пояснення генетичної етіології невідомих фенотипів, відповідних захворювань для яких немає специфічного генетичного тесту.

Технологія CRISPR (або «CRISPR-Cas9») демонструє суттєвий прорив в області редагування частини геному шляхом видалення, додавання або зміни послідовних ділянок ДНК.

Виявлення поліморфізму та мутації генів, що кодують певні фактори згортальної системи, відкрило новий напрямок у розумінні частоти та ймовірності виникнення тромбоемболічних ускладнень [57]. При цьому слід зазначити, що рідкісні генетичні дефекти, що спостерігаються в популяції з частотою < 1 %, зазвичай позначають як мутації генів (прикладом може виступати дефіцит протеїну C, поширеність якого становить 1 : 10,000-15,000); про поліморфізм ідеться, коли генетичні дефекти носять більш загальний характер та зустрічаються більше ніж у 1 % представників популяції (приклад — мутація фактора V Лейдена у 5-8 % гетерозигот).

В українській популяції питання поліморфізму генів, відповідальних за систему гемостазу досліджені недостатньо. З'являються поодинокі відомості щодо ефективності антитромбоцитарної терапії. Наприклад, у роботі Ляхоцької А.В. [58] знижена чутливість до аспірину спостерігалась у 52,7 % осіб зі стабільними формами та у 65 % гіпертонічну хворобу та ГКС, у той час як різний ступінь нечутливості до тієнопіридинів відмічався у 22,7% та 27,4% хворих відповідно.

Отже, сутність моделі персоналізованої медицини полягає в призначенні лікування пацієнтам виходячи з їх індивідуальних особливостей, і що безумовно важливо - «набору» поліморфізмів певних генів. Це дозволяє зробити медикаментозне лікування максимально ефективним і безпечним. Таким чином, персоналізована медицина може

розглядатися як інноваційний і наукомісткий інструмент модернізації системи охорони здоров'я і поліпшення якості життя людей.

Існує генетична схильність до розвитку серцево-судинних захворювань, обумовлена мутаціями і поліморфними варіантами генів системи гемостазу. Генетичні чинники ризику цих захворювань в світі вивчені недостатньо, відомості про генетичну схильність до них суперечливі [59].

З 2007 року повногеномні пошуки асоціацій (Genome-Wide Associations Studies - GWAS) дозволили істотно просунутися в області ідентифікації генетичних локусів, пов'язаних з різними багатофакторним захворюваннями людини і ознаками, включаючи ССЗ та ЦД [60]. При проведенні GWAS використовується об'єктивний підхід, в ході якого генетичні маркери, які найбільш часто представляють собою однонуклеотидні поліморфізми (ОНП), розподілені по всім хромосомам людини, без попереднього відбору піддають генотипуванню і аналізу, щоб зрозуміти, з яким захворюванням або ознакою він може асоціюватися. Можливості GWAS, пов'язані з безпосередньою ідентифікацією причинних варіантів, обмежені, хоча вони дозволяють виявити причинні хромосомні ділянки, що містять ОНП, які пов'язані з досліджуваною ознакою.

До теперішнього часу виявлена численна кількість генів-кандидатів, носійство яких асоційоване з розвитком протромботичних зрушень в системі гемостазу, а найбільш вивчені з них представлені у таблиці 1.2.1. Однак існує безліч питань щодо їх участі в патогенезі різних клінічних проявів і доцільності діагностики цих маркерів в практичних цілях.

Ситуація, що склалася, певним чином пояснюється багатофакторним характером взаємодії генетичних і екзогенних факторів ризику, що лежать в основі або провокують розвиток патологічних зрушень в системі гемостазу. Необхідність використання принципово нових підходів при вивченні основ генетичної схильності до тромбозу диктується існуючою на

сьогоднішній день концепцією про полігенний характер тромбофілії, яка постулює наявність не одного, а декількох генетичних варіантів, що модифікують ризик розвитку захворювання [60]. Зважаючи на це, особливий інтерес приділяється явищу алельного поліморфізму, яке властиве більшості генів людини, в тому числі тим, продукти яких залучені в регуляцію тромбоутворення.

Таблиця 1.2.1

Поліморфні варіанти генів системи гемостазу

Ген	Назва гена	Поліморфізм
Тромбоцитарний гемостаз		
Gp1ba	Тромбоцитарний глікопротеїн I бета	VNTR
ITGA2	Тромбоцитарний глікопротеїн I альфа	C807T
ITGB3	Тромбоцитарний глікопротеїн III альфа	T1565C
Плазмовий гемостаз		
FGB	Фібриноген	G455A
FII	Протромбін	G20210A
FV	Фактор Лейдена	G1691A
FVII	Фактор VII	G10976A
FVIII	Фактор VIII	C10976G
FXII	Фактор XII	C46T
PAI-1	Інгібітор активатора плазміногена	675 5G/4G
PLAT	Тканинний активатор плазміногена	C7351T
Фолатний цикл		
CBS	Цистатіон бета-синтаза	844 D/I
MTHFD	Метилентетрагідрофолат дегідрогеназа	G1958A
MTHFR	Метилентетрагідрофолатредуктаза	C677T
MTR	Метіонін редуктаза	A2756G
MTRR	Метіонін синтеттаза-редуктаза	A66G
Ендотелій		
END1	Ендотелін I	G5665T
NOS	Ендотеліальна NO-синтетаза	G-T Glu298Asp
NOS	Ендотеліальна NO-синтетаза	VNTR

Причини індивідуальних відмінностей в схильності до розвитку ІХС мало вивчені. Генетичні поліморфізми з доведеним функціональним впливом на білки згортання крові можуть стати корисним діагностичним і прогностичним інструментом. Гемостаз, як складний феномен, модулюється взаємодією багатьох генетичних факторів, що не мають переважної дії. Полігенний підхід, як інструмент для виявлення індивідів з

підвищеним ризиком розвитку ускладнень, передбачає, що одночасна присутність кількох генетичних варіацій зі слабкими, але достовірними ефектами на процес гемостазу, може вплинути на ризик серйозних тромботичних ускладнень.

Відносно визначення ризиків розвитку ІХС, на сьогоднішній день зростає інтерес до генів, що кодують білки наступних факторів: протромбіну (FII), проакцелерину (FV), проконвертину (FVII), фібрин-стабілізуючого фактора (FXIII), а також до інтегринів (ITGB3 та інші), зміна структури яких має значущий вплив на збалансованість реакцій гемостазу. У ряді досліджень вже показано зв'язок поліморфних варіантів цих генів із розвитком захворювань серцево-судинної системи [61, 62], але отримані дані про значення окремих маркерних сайтів цих генів досить суперечливі.

Відомо, що мутація в сайті rs5918 гена ITGB3 асоційована зі збільшенням взаємодії з фібриногеном, призводить до неправильної відповіді на стимуляцію тромбоксану, підвищує агрегацію тромбоцитів [63]. J. W. Knowles et al. відзначають, що мінорний С-алель частіше зустрічається у пацієнтів з гострою ІХС [64].

Інтегрини є поверхневими рецепторами клітини. Більшість таких рецепторів функціонально з'єднують її з позаклітинним матриксом (за допомогою з'єднання з колагеном, фібронектином, ламініном, а також з ФГ та ін.) та з іншими клітинами. До теперішнього часу відомо, що інтегрини беруть участь у багатьох клітинних процесах, включаючи імплантацію та ембріональний розвиток, ріст і метастазування пухлинних клітин, апоптоз, згортання крові і переміщення клітин в зони запалення [65]. Крім цього, інтегрини можуть поєднуватись з іншими рецепторами своєї клітинної поверхні і тим самим впливати на шляхи передачі сигналів.

Всього відомо 16 класів альфа- і 8 класів бета-субодиниць інтегринів. Вступаючи в нековалентні взаємодії, альфа- і бета-субодиниці утворюють

гетеродимери, тим самим забезпечуючи існування інтегринових комплексів з різною специфічністю, 20 з яких вже ідентифіковані [66].

Найбільший інтерес для нас представляє глікопротеїнова бета-субодиниця типу III, підтипу альфа (GPIIIa), представлена двома алельними формами: PLA1 та PLA2 [67, 68]. Середньопопуляційна частота алеля PLA2 гена GPIIIa для населення Європи, складає за різними даними, близько 14% [69]. Алель PLA2 відрізняється заміною тимідинового нуклеотиду на цитозиновий в позиції 196 мРНК GPIIIa, що тягне за собою включення проліну (замість лейцину) в позиції 33 білкової молекули [70].

Поліморфізми гена ITGB3 (GPIIIa), що кодує інтегрин бета-3, який є компонентом тромбоцитарного рецептора ФГ, традиційно розглядаються як предиктори ССЗ через порушення системи згортання крові [71]. Однак в дослідженні [72] показано, що ITGB3 також регулює ріст і міграцію гладком'язових клітин - головних компонентів неоінтими. Поліморфізм T1565C гена ITGB3 асоційований з гіперекспресією рецептора VEGFR-2 (судинного ендотеліального фактора росту) на ендотеліальних клітинах і, як наслідок, порушенням ендотеліальної функції. У пацієнтів з С-алельним варіантом поліморфізму гена ITGB3 відзначається низька ефективність застосування в якості антиагрегантів таких препаратів, як аспірин та клопідогрель [73]. Отже, спадкові зміни у тромбоцитарних глікопротеїнах сприяють ризику ССЗ, впливаючи на активацію та агрегацію тромбоцитів. Наявність PLA2-алелі варто розглядати як фактор розвитку ССЗ, що пов'язано зі зростанням функціональної активності тромбоцитів та підвищенням їх агрегаційної здатності [74].

ФГ (фактор I) є одним з основних факторів системи коагуляції, який бере участь в процесі гемостазу [75]. При згортанні крові розчинні молекули ФГ піддаються ферментативному розщепленню тромбіном, утворюючи під дією активованого фібринстабілізуючого фактора (FXIII) осад у вигляді фібрину, який формує тромб, завершуючи процес згортання [76].

Підвищення рівня ФГ в плазмі на 1 г л пов'язано з більш, ніж дворазовим збільшенням ризику ІХС, інсульту та судинної смертності [77].

ФГ циркулює в плазмі у вигляді димеру. Зрілий білок ФГ складається з двох ланцюгів, кожен з яких в свою чергу складається з альфа-, бета- та гамма-поліпептидів, які кодуються генами FGA, FGB і FGG, розташованими в одному кластері в 50 kb області локусу 4q28 [78, 79].

В генах ФГ виявлені ОНП, асоційовані з відмінностями в рівнях ФГ в плазмі крові [80]. Ретроспективне дослідження «випадок-контроль» за участю 305 пацієнтів з ІХС або гострим коронарним синдромом (ГКС) і 305 здорових осіб (контроль) виконано з метою вивчення впливу таких ОНП та гаплотипів генів FGA, FGB і FGG на виникнення захворювання. ОНП FGB-156C>T (rs1800787) і FGB-1428G>A (rs1800789) надають протективну дію, знижуючи ризик розвитку ССЗ приблизно на 50% у гомозигот по мінорним алелям [81]. Мінорні алелі чотирьох поліморфізмів гена FGB, двох генів FGA і одного поліморфізму гена FGG асоційовані з підвищеним рівнем ФГ в плазмі. ОНП в промоторі гена FGB (-455GA, rs1800790) і в промоторі гена FGA (-58GA, rs2070011) впливають на рівень ФГ в плазмі і асоційовані з ризиком ІХС [82]. Автори дослідження прийшли до висновку, що при вивченні причинно-наслідкового зв'язку між поліморфізмом генів ФГ, рівнем ФГ в плазмі і розвитком ІХС необхідно включати в дослідження ці два ОНП. Алель FGB -455A діє як незалежний фактор ризику ІХС, ГКС, хвороби периферичних артерій і інсульту [83]. Дослідження *in vitro* показали, що алель FGB -455A, асоційована з підвищеним рівнем ФГ, порушує зв'язування з білком-репресором, внаслідок чого збільшується транскрипція ланцюга FGB [84]. Вчені вивчали 8 поширених фібриногенових ОНП у 377 постінфарктних пацієнтів і 387 здорових людей і виявили, що саме гаплотипи, а не індивідуальні ОНП в окремих генах ФГ, асоційовані з ризиком ІМ [85, 86, 87]. Найбільш поширений гаплотип FGG-FGA*1 (FGG 1299 + 79T/FGA -58G, частота 46,6%) асоційований з підвищеним ризиком

розвитку ІМ, в той час як найменш поширений гаплотип FGG-FGA*4 (FGG 1299 + 79с/FGA -58А, частота 11,8%) знижує ризик розвитку ІМ.

Ген протромбіну розташований на хромосомі 11 (11p11-q12), складається з 14 екзонів та 13 інтронів. Розмір екзонів варіює від 25 до 315 пар нуклеотидів, розмір інтронів - від 84 до 9447 пар нуклеотидів. Заміна гуаніну на аденін в позиції 20210 в нетрансльованій 3'-УТ-області промотора гена протромбіну збільшує стабільність мРНК, підвищуючи рівень протромбіну в плазмі на 30% (гіперпротромбінемія) і призводить до збільшення ризику венозного або артеріального тромбозу [88]. Мутація виникла приблизно 24 000 років тому [89] і вперше була описана в 1996 році Лейденською групою [90]. Дану точкову мутацію вважають другою за поширеністю мутацією, пов'язаною зі спадковою тромбофілією [91]. Частота мутації FII G20210 в європеїдній популяції становить від 1 до 5% [92, 93], а у пацієнтів з венозними тромбоемболіями - від 4 до 18% [94, 95]. Як і мутації FV Leiden, мутація FII G20210А вкрай рідко зустрічається у людей неєвропеїдного походження [96, 97]. Вважають, що у гетерозиготних носіїв мутації ризик першого епізоду венозного тромбозу в 2-5 разів вище, ніж у людей без цієї мутації [98, 99, 100]. У тих, хто одночасно є носієм мутацій FVLeiden і FII G20210А в гетерозиготі, ризик тромбозу вище в 20 разів [101, 102, 103].

Чим більше даних про генетичні детермінанти ознак і захворювань буде отримано, тим більше можливостей для використання цієї інформації в фармакогенетичних цілях. Розуміння спадкових причин ІХС потенційно здатне істотно поліпшити майбутні стратегії профілактики, прогнозування та терапії цього захворювання.

1.3 Генетичні аспекти персоналізованого підходу до антитромбоцитарного лікування ішемічної хвороби серця

Персоналізована або прецизійна медицина - нова доктрина сучасної охорони здоров'я, в основі якої лежить використання нових методів молекулярного аналізу (геноміка, транскриптоміка, протеоміка, метаболоміка, мікробіоміка) для поліпшення оцінки схильності (прогнозування) до хвороб і їх «управління» (профілактика і лікування) [104].

Суттю методології персоналізованої медицини є підхід до надання медичної допомоги на основі індивідуальних характеристик пацієнтів, для чого вони повинні бути розподілені в підгрупи в залежності від схильності до хвороб і відповіді на те чи інше втручання.

Клінічна фармакогенетика - це розділ клінічної фармакології та клінічної генетики, що вивчає генетичні особливості пацієнта, що впливають на індивідуальну фармакологічну відповідь (ефективність і безпеку застосування лікарських засобів у пацієнтів). Від фармакогенетики необхідно відрізнити поняття «фармакогеноміка», під якою розуміється вплив всього геному на розвиток індивідуальної фармакологічної відповіді. Перехід від фармакогенетики до фармакогеноміки стане можливим в майбутньому, коли в практичній медицині буде доступний повногеномний аналіз, а також клінічна інтерпретація подібних досліджень [105].

Генетичні особливості пацієнта, що впливають на фармакологічну відповідь, являють собою точкові мутації, так звані ОНП, або *single nucleotide polymorphism*. Саме існування ОНП в тому чи іншому гені може визначати генетично обумовлений внесок в індивідуальну фармакологічну відповідь.

ОНП, що визначають генетично обумовлену індивідуальну фармакологічну відповідь, можуть бути в генах, що кодують білки, які беруть участь в наступних процесах [105]:

1) фармакокінетиці, коли гени кодують ферменти біотрансформації і білки-транспортери лікарських засобів (Р-глікопротеїн, транспортери органічних аніонів, транспортери органічних катіонів і т.д.), задіяні у процесах всмоктування, розподілу і виведення;

2) фармакодинаміці, коли гени кодують молекули-мішені лікарських засобів (рецептори, ферменти, іонні канали і т.д.), білки, пов'язані з молекулами-мішенями (G-білки) або беруть участь в патогенетичних шляхах захворювання, при якому застосовується лікарський засіб (наприклад, ген, що кодує NO-синтазу - NOS).

ОНП характерні як для генів, що кодують ферменти I фази біотрансформації (ізоферменти P450, бутирилхолінестераза, параоксоназа), так і II фази біотрансформації (N-ацетил-трансфераза, тіопуріметілтрансферазаепоксид гідролаза). При цьому, в залежності від того, до яких наслідків для швидкості та інтенсивності біотрансформації лікарського засобу призводить носійство (гетеро-/гомозиготне) або відсутність носійства (wild type, або «дикий» генотип) ОНП, пацієнти можуть бути розділені на кілька груп [105]:

- поширені метаболізатори (extensive metabolizers, EM) - пацієнти зі звичайною швидкістю біотрансформації певних препаратів, так як не несуть ОНП з того чи іншого гену, що кодує фермент біотрансформації, тобто вони мають «дикий» генотип. Для цих пацієнтів, як правило, ефективні і безпечні стандартні (регламентовані інструкцією) режими дозування у вигляді середніх доз;

- повільні метаболізатори (poor metabolizers, PM) - пацієнти зі зниженою швидкістю біотрансформації певних препаратів. Зазвичай такі пацієнти є гомозиготами або гетерозиготами (іноді виділяють як *intermedium metabolizers, IM*) по ОНП того чи іншого гена, що кодує фермент біотрансформації. У таких пацієнтів відбувається синтез «дефектного» ферменту, або взагалі відсутній відповідний фермент

біотрансформації, в результаті чого ферментативна активність знижується (гетерозиготное носійство) або може повністю бути відсутньою (гомозиготное носійство).

Незважаючи на проведену антитромботичну терапію, близько 9% хворих з ГКС переносять повторне загострення ІХС протягом першого року лікування [106]. Однією з причин може бути недостатнє блокування реактивності тромбоцитів, незважаючи на постійну терапію антиагрегантами. Хворі, які застосовують антиагрегантні препарати, демонструють різну ступінь лабораторного пригнічення активності тромбоцитів. Питання про наявність «лабораторної резистентності» до антиагрегантів вивчається протягом тривалого часу [107, 108]. Однак до цього часу немає згоди про єдине визначення резистентності та її кількісні критерії, а також не визначено тест з найкращою передбачуваною значимістю, що став би «золотим стандартом». Також залишається незрозумілим, наскільки лабораторна резистентність може бути відповідальною за клінічні невдачі лікування. Все це передрікає пошук генетичних аспектів недостатньої лікарської відповіді на антиагрегантні препарати.

Ефективність та безпечність проведені антитромбоцитарної терапії в ранні і віддалені терміни після судинної події можуть оцінюватися як за допомогою клінічного аналізу, так і лабораторними методами, до яких належить вивчення агрегації тромбоцитів. Особливої актуальності застосування лабораторних методів контролю набуло у зв'язку із виявленою резистентністю до найбільш розповсюджених антитромбоцитарних препаратів – ацетилсаліцилової кислоти (АСК) та клопідогрелю. Найінформативнішим за цих умов є вивчення залежних від механізму дії препаратів різновидів агрегації тромбоцитів – АДФ-індукованої для оцінки дії клопідогрелю та індукованої арахідоновою кислотою (АК) для оцінки впливу АСК. Подібні взаємозв'язки були продемонстровані в роботі при

обстеженні хворих, які отримують антиагрегантну терапію (головним чином при застосуванні антагоністів P2Y₁₂ рецепторів АДФ - клопідогрелю та прасугрелю) [109]. Було також доведено варіабельність низки фенотипових характеристик тромбоцитів, як їх розмір, наявність так званих ретикулярних тромбоцитів («молодих» форм з підвищеною кількістю РНК), рівень експресії молекул клітинної адгезії і ряду інших [110].

Разом з тим, в ряді досліджень продемонстрована широка міжіндивідуальна варіабельність антиагрегантного ефекту клопідогрелю [111, 112]. У пацієнтів з неадекватною відповіддю на клопідогрель підвищений ризик розвитку серцево-судинних ускладнень [113].

Фармакогенетика в даний час є однією з найбільш прогресивних і перспективних розділів клінічної фармакології. Прикладне використання фармакогенетики в клінічній практиці засновано на тому, що розвиток побічних реакцій і неефективність медикаментозної терапії приблизно на 50% залежить саме від генетичних особливостей пацієнта [114]. Основним завданням фармакогенетики є вивчення алельних варіантів генів, що визначають особливості індивідуальних фармакокінетичних і фармакодинамічних характеристик організму з метою оптимізації стратегії індивідуальної терапії.

На сьогоднішній день велика кількість досліджень в області фармакогенетики присвячена вивченню генів, що кодують ферменти, які метаболізують препарати та застосовуються для профілактики і лікування ССЗ. Проблема застосування клопідогрелю, як одного з основних препаратів антитромботичної терапії, полягає у варіабельності терапевтичної відповіді: відсоток пацієнтів зі зниженою терапевтичною ефективністю коливається від 20 до 40% [115, 116]. Інша не менш важлива проблема - розвиток геморагічних ускладнень. За повідомленнями Всесвітньої організації охорони здоров'я, геморагічні ускладнення склали

28% випадків всіх повідомлень, пов'язаних із застосуванням клопідогрелю [117].

У біоактивації клопідогрелю беруть участь різні цитохроми P450, включаючи CYP2C19, 3A4/5, 1A2, 2B6 та 2C9 [118, 119]. Активний метаболіт клопідогрелю необоротно блокує рецептор до АДФ на мембрані тромбоцита (кодується геном P2RY12). Це в свою чергу супроводжується інактивацією рецептора до ФГ (GPIIb/IIIa), який кодується геном ITGB3. Гени, що кодують ферменти CYP, поліморфні, причому часто зустрічаються алелі [120], які кодують утворення ферментів зі зниженою або відсутньою функцією [121]. Генетичні особливості пацієнта, що відповідають за порушення фармакологічної відповіді на клопідогрель, можуть порушувати фармакокінетику та фармакодинаміку препарату. Генетичні фактори, асоційовані з порушенням фармакологічної відповіді на клопідогрель, налічують наступний перелік генів: CYP2C19*2/*17/*3/*4/*5/*6/*7/*8, CYP2C9, CYP3A4, CYP3A5, ABCB1, ABCC3, ITGB3, IRS-1, P2Y12, PON-1, CYP4F2, CES1 [122]. Не дивлячись на достатню велику кількість виявлених генетичних маркерів, достатнє клінічне значення має лише поліморфізм гена CYP2C19.

Найбільший внесок у метаболізм і зміну антиагрегантної дії клопідогрелю здійснюють поліморфні варіанти цитохрому CYP2C19 (CYP2C19*2, CYP2C19*3, CYP2C19*17) і транспортний білок Р-глікопротеїн, кодований геном ABCB1. Для носіїв CYP2C19*2, CYP2C19*3 характерне утворення низьких концентрацій активного метаболіту клопідогрелю, що проявляється розвитком клінічної «резистентності» до терапії при стандартному режимі дозування і високою залишковою реактивністю тромбоцитів. У носіїв алелі CYP2C19*17, навпаки, відзначається підвищення ферментативної активності CYP2C19, що може виявитися причиною високої концентрації активного метаболіту в плазмі крові, низькою залишковою реактивністю тромбоцитів і ризиком розвитку

геморагічних ускладнень [123]. CYP2C19 бере участь в метаболізмі більше 8% всіх відомих лікарських засобів, серед яких антидепресанти, транквілізатори, протиепілептичні та антипсихотичні лікарські засоби, інгібітори протонної помпи, бета-адреноблокатори, антибактеріальні, протигрибкові препарати, які можуть виступати в ролі субстратів, що конкурують за цитохром P450, інгібіторів або індукторів CYP2C19, тим самим впливаючи на активність ізоферментів цитохрома. Таким чином, при прогнозуванні ефективності та безпеки фармакотерапії, в тому числі клопідогрелем, необхідно враховувати взаємодію і вплив супутньої медикаментозної терапії на ферменти біотрансформації і білки-транспортери [123]. P-глікопротеїн є представником родини ABC-транспортерів, що беруть участь в трансмембранному транспорті ксенобіотиків, в тому числі клопідогрелю. Зміна активності гена ABCB1 впливає на ефективність клопідогрелю [124, 125]. Відомо, що у носіїв генотипу T/T, які отримують клопідогрель, відзначалася більш висока частота тромботичних ускладнень у порівнянні з носіями генотипу C/C [126].

Існують варіанти гена CYP2C19, що кодують утворення ферменту зі зниженою або відсутньою функцією (loss of function polymorphisms або alleles). Поліморфізм, що сприяє втраті функції ферменту, позначається як CYP2C19*2, тоді як звичайний, або wild-type, поліморфізм позначається як CYP2C19*1. Генотип, що кодує утворення функціонального ферменту, - гомозигота дикого типу (wild-type) CYP2C19 (*1/*1); генотипи, що кодують утворення ферментів зі зниженою або відсутньою функцією, - гетерозиготи CYP2C19*2 (*1/*2) і гомозиготи CYP2C19*2 (*2/*2) [127].

Найбільш поширеними і добре вивченими ОНП є CYP2C19*2 (до 30% європеоїдної, 40% негроїдної і 55% монголоїдної раси [128]) і CYP2C19*17 (до 5% монголоїдної та до 25% європеоїдної і негроїдної [129]), пов'язаний з посиленням експресії гена і утворенням ізоферменту з високою

ферментативною активністю [130]. Інші алельні варіанти (CYP2C19*3, *4, *5, *6, *7 і *8) зустрічаються набагато рідше (менше 1% [131]), а їх клінічне значення не має достатніх доказів.

Так, в мета-аналізі Mega JL, et al. [132] з включенням 9685 пацієнтів, що переважно перенесли ЧКВ (91%, 55% мали ГКС), продемонстровано значне підвищення ризику комбінованої кінцевої точки у вигляді серцево-судинної смерті, інфаркту міокарда або інсульту у носіїв однієї (ВШ = 1,55; 95% ДІ: 1,11-2,27; $p = 0,01$) або двох (ВШ = 1,76; 95% ДІ: 1,24-2,50; $p = 0,002$) алелей CYP2C19 зі зниженою функціональною активністю в порівнянні з неносіями. Крім того, відзначалося суттєве підвищення ризику тромбозу стента у носіїв однієї (ВШ = 2,67; 95% ДІ: 1,69-4,22; $p < 0,0001$) або двох (ВШ = 3,97; 95% ДІ: 1,75-9,02; $p = 0,001$) алелей зі зниженою функціональною активністю. Носійство ж алельного варіанту CYP2C19*17 призводить до посилення біотрансформації і підвищення антиагрегантної дії клопідогрелю, що потенційно може призвести до розвитку кровотеч [133]. Зниження ризику ішемічних ускладнень і підвищення ризику кровотечі підтверджують результати двох незалежних мета-аналізів - Li Y, et al. [134] і Zabalza M, et al. [135]. Проте, клінічне значення CYP2C19*17 на сьогоднішній день залишається спірним, і дослідження [136] підтверджує відсутність незалежного впливу даного поліморфізму на метаболізм клопідогрелю, а посилення антиагрегантної дії клопідогрелю при високій частоті носійства CYP2C19*17 автори пов'язують з часто супутнім носійством CYP2C19*2.

Антитромботичне лікування є невід'ємним компонентом комбінованої терапії хворих на ІХС та ЦД, що чітко регламентовано в останніх рекомендаціях Європейського товариства кардіологів, Американської діабетичної Асоціації, Американської асоціації серця та Асоціації кардіологів України [137]. При несприйнятті АСК, її замінюють на клопідогрель [138].

Як зазначається в літературі, для зменшення кардіоваскулярного ризику більш ефективна подвійна антитромбоцитарна терапія (ПАТТ) [139]. Тієнопіридини пригнічують агрегацію тромбоцитів, покращують реологічні властивості крові. У хворих на ІХС після ГКС ПАТТ ефективно блокує АДФ-індуковану агрегацію тромбоцитів незалежно від наявності ЦД, тоді як АК-агрегація у хворих із ЦД пригнічується меншою мірою, ніж у хворих без ЦД. У цих хворих на тлі ПАТТ із застосуванням АСК та клопідогрелю виявлено ознаки більшої, ніж у хворих без ЦД, залишкової реактивності тромбоцитів, яка, вочевидь, саме при ГКС значною мірою обумовлюється гіперглікемією та гіперхолестеринемією, тоді як при стабільній ІХС ці чинники відіграють у підвищенні активації тромбоцитів при ЦД менш помітну роль [140].

В літературі вказується на більшу ефективність і безпеку ПАТТ АСК і клопідогрелем перед монотерапією АСК. Незважаючи на деяку перевагу клопідогрелю порівняно з ізольованим призначенням АСК, пригнічення відразу 2-х шляхів активації тромбоцитів є більш ефективним у профілактиці тромбоутворення [141]. Її ефективність і переваги забезпечуються раннім призначенням обох антиагрегантних препаратів та достатньо тривалим.

Загалом, незважаючи на численні дослідження особливостей і механізмів порушень функції тромбоцитів при ЦД, чинники, що визначають ефекти антитромбоцитарних препаратів у хворих на ЦД, з'ясовані недостатньо і залишаються невирішеною проблемою, що потребує подальшого вивчення для визначення нових ефективних стратегій лікування у хворих на ІХС в поєднанні з ЦД.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Клінічна характеристика обстежених хворих

Дисертаційна робота заснована на результатах вивчення гемостазіологічних змін та генетичних особливостей при ІХС, зокрема її гострих та хронічних формах, з супутнім ЦД серед 120 хворих. Дослідження виконувалось на кафедрі пропедевтики внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця та в імунологічній лабораторії клінічної лікарні «Феофанія» ДУС.

Дослідження пацієнтів проводилося за умови дотримання основних положень GCP (2017), відповідно до Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації «Етичні принципи медичних досліджень за участю людини у якості об'єкта дослідження» (1964-2008), Конвенції Ради Європи про захист прав та гідності людини у зв'язку з використанням досягнень біології та медицини (від 04.04.1997р.).

Всього за період дослідження було обстежено 120 пацієнтів, хворих на різні форми ІХС, що поступали на лікування у кардіологічне відділення КНП «Київська міська клінічна лікарня №1» (за договором про наукову співпрацю з НМУ імені О.О. Богомольця), які мали нижче вказані критерії включення та не мали критеріїв виключення.

Критерії включення:

1. Наявність підписаної інформованої згоди.
2. Верифікована ІХС (обов'язкова наявність не менше, ніж один з нижче наведених пунктів):
 - ІМ в анамнезі;
 - атеросклероз вінцевих артерій, що підтверджений результатами коронароангіографії;

- реваскуляризація за допомогою аорто-коронарного шунтування або перкутанного втручання;
- стабільна стенокардія напруження II-III ФК (підтверджена тестом з фізичним навантаженням);

3. Прийом антитромбоцитарної терапії клопідогрелем у дозі 75 мг/добу;

Критерії виключення:

1. Порушення ритму та/або провідності серця (фібриляція передсердь та шлуночків, атріовентрикулярні блокади);
2. Хронічна серцева недостатність: фракція викиду лівого шлуночка нижче 35 %, наявність IV функціонального класу за NYHA;
4. Резистентна/неконтрольована артеріальна гіпертензія;
5. Встановлені онкологічні захворювання та інші хронічні захворювання, що здатні впливати на короткостроковий прогноз;
6. Наявність хронічних захворювань внутрішніх органів в стадії загострення на момент включення;
7. ЦД 1-го типу та декомпенсований ЦД 2-го типу;
8. Період вагітності чи лактації;
9. Діагностовані попередньо захворювання системи гемостазу.

Діагноз кожної форми ІХС встановлювали згідно рекомендацій Європейського товариства кардіологів, а також критеріїв, викладених у відповідних клінічних протоколах МОЗ України (Наказ МОЗ України №455 від 02.07.2014 року, Наказ МОЗ України №152 від 02.03.2016 року, зі змінами №994 від 23.09.2016 року, Наказ МОЗ України №164 від 03.03.2016 року). Критеріями діагностики ЦД були показники, затверджені Наказом МОЗ України №1118 від 21.12.2012 «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при цукровому діабеті 2-го типу» та «Клінічний протокол надання медичної допомоги хворим на цукровий діабет 2-го типу», а також на основі спільних

рекомендацій Європейського товариства кардіологів та Європейської асоціації з вивчення діабету (EASD) [25].

Відповідно до поставлених завдань дисертаційної роботи, пацієнти були розподілені за групами (табл. 2.1.1).

Таблиця 2.1.1

Характеристика пацієнтів різних груп

Група	Чоловіки, n	Жінки, n	Кількість, n	Середній вік	P
I	16 (53,3 %)	14 (46,7 %)	30	62,7±8,1	>0,05
II	8 (26,7 %)	22 (73,3 %)	30	65,3±9,3	>0,05
III	18 (60 %)	12 (40 %)	30	62,5±9,2	>0,05
IV	14 (46,7 %)	16 (53,3 %)	30	65,5±8,1	>0,05
Контроль	8 (53,3 %)	7 (46,7 %)	15	61±4,4	
Всього	64	71	135		

Серед обстежених були: 30 хворих на ГКС – I група (серед них 16 чоловіків та 14 жінок), 30 хворих на ГКС у поєднанні з ЦД – II група (відповідно 8 чоловіків та 22 жінки), 30 хворих на хронічний коронарний синдром (ХКС) – III група (18 чоловіків та 12 жінок), 30 хворих на ХКС у поєднанні з ЦД – IV група (14 чоловіків та 16 жінок).

Нормативні величини досліджуваних показників були отримані при обстеженні 15 практично здорових осіб, що не мали ІХС, в яких не було клінічних проявів стенокардії, серцевої недостатності, клінічних та лабораторних проявів ЦД. Середній вік здорових осіб становив 61±4,4 років, в тому числі 8 чоловіків (53,3%) та 7 жінок (46,7%).

Аналізуючи основні діагнози, що стали причиною госпіталізації, виявлено, що 12 пацієнтів I групи поступили з ГКС з елевацією сегмента ST, 15 – без елевації сегмента ST, а 3 – з нестабільною стенокардією (табл. 2.1.2).

В той же час, у групі II розподіл був наступний: 9 пацієнтів з елевацією сегмента ST, 4 – без елевації сегмента ST, а 17 – з нестабільною стенокардією.

Таблиця 2.1.2

Клінічна характеристика пацієнтів різних груп

Діагноз		I група (n=30)		II група (n=30)	
		n	%	n	%
Гострий коронарний синдром	З елевацією сегмента ST	12	40	9	30
	Без елевації сегмента ST	15	50	4	13,3
	Нестабільна стенокардія	3	10	17	56,7
Діагноз		III група (n=30)		IV група (n=30)	
		n	%	n	%
Хронічний коронарний синдром	Стенокардія ФК II	15	50	16	53,3
	Стенокардія ФК III	15	50	14	46,7

Примітка. ФК- функціональний клас

Стабільна стенокардія II функціонального класу спостерігалася у 15 пацієнтів III групи та 16 пацієнтів IV групи, а III функціонального класу – 15 і 14 пацієнтів, відповідно. У III групі зустрічалися наступні клінічні варіанти ХКС: пацієнти зі стенокардією та/або задишкою та підозрою на коронарну хворобу серця – 15 (50%), пацієнти зі стабільними симптомами <1 року після ГКС чи реваскуляризації – 5 (16,7%), пацієнти з симптомами >1 року після встановлення діагнозу чи реваскуляризації – 10 (33,3%). В свою чергу клінічні варіанти ХКС серед хворих IV групи розподілилися наступним чином: пацієнти зі стенокардією та/або задишкою та підозрою на коронарну хворобу серця – 11 (36,7%), пацієнти зі стабільними симптомами <1 року після ГКС чи реваскуляризації – 2 (6,7%), пацієнти з симптомами >1 року після встановлення діагнозу чи реваскуляризації – 17 (56,7%).

Тривалість ІХС у пацієнтів I групи складала $4,8 \pm 3,1$ роки, II групи – $6,4 \pm 4,4$ роки, III групи – $5,8 \pm 3,2$ роки та IV групи – $7,03 \pm 4,0$ роки (табл. 2.1.3).

Інтервенційні процедури в анамнезі були проведені серед хворих I групи у 24 випадках, а у хворих II групи було проведено 9 втручань. Серед пацієнтів з ХКС виявлено 16 втручань у III групі та 14 – у IV.

Таблиця 2.1.3

Клінічна характеристика в залежності від групового розподілу

Показник	I група	II група	III група	IV група	
Тривалість ІХС, роки	4,8 ± 3,1	6,4 ± 4,4	5,8 ± 3,2	7,03 ± 4,0	
КВГ	13 (43,33 %)	4 (13,33 %)	8 (26,67 %)	5 (16,67 %)	
Стентування	11 (36,67 %)	4 (13,33 %)	5 (16,67 %)	4 (13,33 %)	
Шунтування	0	1 (3,33 %)	3 (10 %)	5 (16,67 %)	
ІМТ, кг/м ²	27,84 ± 2,34	29,35 ± 4,8	27,88 ± 2,6	30,9 ± 2,78	
Ожиріння:	4 (13,33 %)	13 (43,33 %)	4 (13,33 %)	20 (66,67 %)	
ступінь 1	4 (100 %)	7 (53,9 %)	4 (100 %)	18 (90 %)	
ступінь 2	0	6 (46,1 %)	0	2 (10 %)	
Паління	16 (53,33 %)	5 (16,67 %)	7 (23,33 %)	7 (23,33 %)	
Вживання алкоголю	10 (33,33 %)	4 (13,33 %)	7 (23,33 %)	6 (20 %)	
Тривалість ЦД, роки	-	10,2 ± 5,0	-	13,67 ± 5,24*	
СН	I	18 (60 %)	5 (16,67 %)	15 (50 %)	8 (26,67 %)
	IIА	12 (40 %)	23 (76,67 %)	15 (50 %)	22 (73,33 %)
ГХ:	26 (86,67 %)	29 (96,67 %)	30 (100 %)	30 (100 %)	
1 ступінь	3 (11,5 %)	2 (6,9 %)	0	0	
2 ступінь	13 (50 %)	21 (72,4 %)	27 (90 %)	21 (70 %)	
3 ступінь	10 (38,5 %)	6 (20,7 %)	3 (10 %)	9 (30 %)	
Тривалість ГХ, роки	8 ± 4,2	10,7 ± 6,3	13,2 ± 5,8	13,8 ± 5,7	

Примітка. СН – серцева недостатність, КВГ – коронарорентрикулографія, ІМТ – індекс маси тіла; * - вірогідність розбіжностей $p < 0,05$ між групами.

Аналізуючи показник індексу маси тіла в кожній групі обстежуваних виявлені випадки ожиріння: у I групі – 4 пацієнти з I ступенем ожиріння, у II групі – 7 пацієнтів з I ступенем та 6 з II ступенем ожиріння ($\geq 35,0$ кг/м²). Серед пацієнтів III групи наявні 4 особи з I ступенем ожиріння, а у IV групі найбільша кількість – 20 хворих: 18 з індексом маси тіла 30,0 – 34,9 кг/м², а двоє – понад 35,0 кг/м². Слід звернути увагу на те, що 110 пацієнтів (91,7 %) мали надлишкову масу тіла понад 25,0 кг/м².

Всього палили 35 пацієнтів: 16 – у I групі, 5 – у II та по 7 хворих у III та IV групах. Вживали алкоголь 27 хворих – найбільше у I групі – 10 (33,33%).

На ГХ страждали 115 хворих з 120 (95,8%). Основна кількість пацієнтів мала саме ГХ II ст.: у I групі – 13 пацієнтів (50%) з 26, у II – 21

(72,4 %) з 29, у III – 27 (90%) з 30 та у IV – 21 (70%) з 30. В середньому ГХ тривала у пацієнтів I групи $8 \pm 4,2$ роки, II групи - $10,7 \pm 6,3$ роки, III - $13,2 \pm 5,8$ роки та IV - $13,8 \pm 5,7$ роки.

Враховуючи, що 95,8% всіх пацієнтів страждали на гіпертонічну хворобу всі вони отримували антигіпертензивне лікування в індивідуально підбраному дозуванні (табл. 2.1.4). В-блокатори були призначені у 89,6% випадків, інгібітори АПФ – 59,1%, діуретики – 39,4%. Статини приймали 80,9% хворих.

Таблиця 2.1.4

Медикаментозне лікування пацієнтів на момент включення у дослідження

Препарати	I група	II група	III група	IV група
В-блокатори	26 (100%)	27 (93,1%)	24 (80%)	26 (86,7%)
Інгібітори АПФ	21 (80,8%)	20 (69%)	13 (43,3%)	14 (46,7%)
Діуретики	11 (42,3%)	10 (34,5%)	11 (36,7%)	11 (36,7%)
Статини	26 (100%)	27 (93,1%)	24 (80%)	16 (53,3%)*
АСК	30 (100%)	30 (100%)	16 (53,3%)	13 (43,3%)
Клопідогрель	30 (100%)	30 (100%)	30 (100%)	30 (100%)
Гепарин	9 (30%)	7 (23,3%)	-	-
Фондапаринукс	21 (70%)	23 (76,7%)	-	-
Метформін	-	15 (50%)	-	15 (50%)
Сульфанілсечовина	-	8 (26,7%)	-	20 (66,7%)*
Інсулін	-	4 (13,3%)	-	3 (10%)

Примітка. * - вірогідність розбіжностей $p < 0,05$ між групами I та II, III та IV, II та IV.

На момент поступлення для купування больового синдрому у пацієнтів I групи використовувалася фармакотерапевтична група нітратів у 20 випадках (66,7%) та агоніст опіоїдних рецепторів (сульфат морфіну) – у 5 випадках (16,7%), натомість, у II групі 14 пацієнтів (46,7%) застосовували нітрати, а 3 (10%) – сульфат морфіну.

ЦД, що мав місце у пацієнтів II та IV групи, тривав в середньому $10,2 \pm 5,0$ та $13,67 \pm 5,24$ років, відповідно ($p < 0,05$). Аналізуючи кількість макро- та мікросудинних ускладнень ЦД, відмічено, що у групі II було 2 хворих на

ангіопатію судин нижніх кінцівок (6,7%), 1 пацієнт з діабетичною нефропатією (3,3%) та 1 пацієнт – з діабетичною енцефалопатією (3,3%). В свою чергу, у IV групі було 2 хворих, які мали ангіопатію судин нижніх кінцівок (6,7%), 3 хворих страждали на облітеруючий атеросклероз судин нижніх кінцівок (10%), 5 пацієнтів мали діабетичну енцефалопатію (16,7%), 1 пацієнт (3,3%) страждав на ретинопатію сітківки та 1 пацієнт (3,3%) мав діабетичну нефропатію. Середній рівень глікемії на момент поступлення у групі II складав $8,97 \pm 2,97$ ммоль/л, а у групі IV – $6,8 \pm 2,08$ ммоль/л ($p < 0,01$). Щодо лікування ЦД, то 30 хворих для корекції рівню глюкози крові використовували метформін, 28 пацієнтів – препарати сульфанілсечовини, 7 - інсулін.

2.2 Методи дослідження системи гемостазу

Взяття крові здійснювалося натщесерце, в день госпіталізації згідно з дизайном дослідження, шляхом венопункції, у вакутайнери з 3,8% цитратом натрію, загальним обсягом 10 мл. Агрегацію тромбоцитів досліджували на лазерному агрегометрі «AGGREGATION ANALYSER» НПФ БІОЛА – 230LA (Росія) з комп'ютерною обробкою за програмою AGGR. Для проведення одного дослідження використовувалося 400 мкл плазми і 50 мкл індуктора, що в кінцевому підсумку дозволяло отримати 4-5 різних агрегатограм на одного пацієнта.

Приготування робочих розчинів індукторів агрегації здійснювалося з використанням діагностичних наборів хімічних реактивів фірми «Технологія-стандарт» (Росія): АДФ та АК. Запис кривих агрегації здійснювалася протягом 6 хвилин з 3-секундним інтервалом детекції. Додавання індуктора агрегації відбувалося через 6 - 12 секунд від початку запису кривої. На агрегатограмах оцінювали наступні параметри, які характеризували функціональну активність тромбоцитів: ступінь спонтанної агрегації тромбоцитів (СпАТ), швидкість СпАТ, середній розмір

агрегатів (CPA), ступінь та швидкість АК- та АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів.

На коагулометрі «Amellung» КС 4А (фірми «Еко-Med-Poll», Австрія) визначали показники плазмового гемостазу з використанням реактивів «Технологія стандарт» та «Ренам» (Росія).

Досліджувані показники гемостазу були підібрані таким чином, щоб вони відображали всі фази згортання крові, а також дозволяли оцінити активність антикоагулянтів та системи фібринолізу.

Тромбопластин (фактор III, тромбокіназа) перетворює протромбін плазми крові в присутності іонів кальцію в активний фермент тромбін, що трансформує ФГ плазми крові в нерозчинний фібрин. Вимірюється протромбіновий час (ПТЧ) - час утворення фібрину в плазмі крові в присутності іонів кальцію і тромбопластина.

Принцип методу визначення тромбінового часу (ТЧ) при діагностиці порушень кінцевого етапу згортання полягає у визначенні часу згортання плазми крові під впливом тромбіну стандартної активності.

Принцип методу оцінки активованого часткового тромбопластинового часу (АЧТЧ) полягає у визначенні часу згортання плазми крові в умовах стандартизованої контактної (каоліном) і фосфоліпідної (кефаліном) активації процесу в присутності іонів кальцію.

Визначення концентрації ФГ в плазмі крові клоттинговим методом за Клаусом відбувається через вимірювання часу згортання розведеної в 10 разів цитратної плазми крові при додаванні надлишку тромбіну.

Антитромбін III (АТIII) або кофактор гепарину - основний антагоніст тромбіну при утворенні цього ферменту в крові. У відсутності гепарину АТIII повільно і необоротно інгібує тромбін та інші фактори згортання і фібринолізу. У присутності гепарину АТIII стає швидким інгібітором цих ферментів.

Протизгортальна система протеїну С (ПрС) здійснює важливу функцію регуляції згортання активності плазми крові. Дія системи спрямована переважно на інгібування факторів VIIIa і Va і на інактивацію інгібітора активатора плазміногену (РАІ-1). Метод визначення активності протеїну С в зразку плазми заснований на здатності активованого протеїну С гідролізувати пептидний хромогенний субстрат. Кількість вивільненого при цьому рНА прямо пропорційна активності протеїну С в зразку плазми.

Метод вивчення розчинних фібринмономерних комплексів (РФМК) заснований на оцінці часу появи в досліджуваній плазмі пластівців фібрину після додавання в неї о-фенантроліну. Швидкість їх утворення залежить від концентрації РФМК. При аналізі досліджуваної плазми реєструють час від моменту додавання о-фенантроліну до початку появи перших пластівців, а далі по таблиці визначають кількість РФМК у досліджуваній плазмі по відношенню до часу появи перших зерен фібрину.

Тест оцінки XIIa-3Ф заснований на вимірюванні часу повного лізису еуглобулінової фракції, отриманої з плазми крові при осадженні в кислому середовищі та містить фактори згортання крові і фібринолізу. При додаванні до цієї фракції кальцію хлористого утворюється згусток фібрину, який потім лізується плазміном. Час від моменту утворення згустку до його розчинення демонструє фібринолітичну активність досліджуваної плазми крові.

Для виведення нормативних показників гемостазу паралельно вивчали зразки плазми крові, отриманої у 15 практично здорових осіб КГ. Забір крові, який проводили після 12-годинного голодування, відповідав усім вимогам до взяття крові на коагулологічні дослідження.

2.3 Молекулярно-генетичні методи дослідження

Типування молекулярно-генетичних маркерів здійснювалося в імунологічній лабораторії Клінічної лікарні «Феофанія» ДУС. Матеріалом для дослідження слугувала венозна кров в обсязі 6 мл, взята з ліктьової вени.

Забір венозної крові проводили в пробірки з консервантом, що містить 0,5 М розчин ЕДТА (рН = 8.0). Нами використовувався набір реагентів для виділення геномної ДНК з цільної крові «ДНК-Екстран-1», EX-509-100, Синтол, Росія.

Аналіз генотипів за G20210A поліморфізмом гена FII, G455A поліморфізмом гена FGB, T1565C поліморфізмом гена ITGB3, G681A поліморфізмом гена CYP2C19 здійснювався методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) синтезу ДНК. ПЛР локусів проводилася на апараті Applied Biosystems 7500, USA для ПЛР в режимі RealTime з використанням готових наборів реагентів виробництва ТОВ «Синтол», Росія (табл. 2.3.1).

Таблиця 2.3.1

Набори, що використовувалися для генотипування ДНК-маркерів
методом ПЛР

Ген	Поліморфізм	Серія
Бета-субодиниця рецептора фібриногену тромбоцитів (ITGB3)	1565 T/C (rs5918)	NP_408_100_CFX-96
Ген фібриногену (FGB)	455 G/A (rs1800790)	NP_410_100_CFX-96
Ген протромбіну (FII)	20210 G/A (rs1799963)	NP_403_100_CFX-96
Цитохром P450 2C19 (CYP2C19)	681 G/A (rs4244285)	NP_537_100_CFX-96

При проведенні ПЛР в ампліфікаторі з флуоресцентною детекцією Applied Biosystems 7500 генотипування здійснювалося методом TaqMan зондів за даними величин RFU (рівень відносної флуоресценції) кожного зонда. Зонд з флуоресцентним барвником HEX відповідає мутованій алелі, а зонд з барвником FAM - нативному.

2.4 Статистичні методи

Результати дослідження оброблялися за допомогою статистичних методів з використанням програми SPSS-23 (субліцензійна угода №138 від 04.08.2016, ліцензіат ТОВ «Прогностичні рішення»).

При вивченні зв'язків молекулярно - генетичних маркерів з кількісними ознаками, що характеризують клініко-лабораторні показники досліджуваних на початку з використанням критерію Шапіро-Уілкі оцінювали характер розподілу цих ознак. Подальший статистичний аналіз розглянутих ознак проводили з урахуванням характеру їх розподілу. Оскільки всі досліджувані показники не відповідали закону нормального розподілу для їх опису застосовували медіану (Me) та інтерквартильний розмах (Q25 - Q75), а для порівняльного аналізу - критерії Манна-Уїтні, Шапіро-Уілкі, Колмогорова-Смирнова. З метою оцінки відповідності фактичного розподілу генотипів теоретичному, виходячи з рівноваги Харді-Вайнберга, використовували критерій χ^2 , за формулою:

$$\chi^2 = \sum \frac{(f_o - f_e)^2}{f_e}, \text{ де } f_o - \text{ фактичні значення розподілу, } f_e - \text{ теоретичні}$$

значення розподілу.

Частоти алелів гена визначали за формулами:

$$p^2(AA) + 2pq(Aa) + q^2(aa) = 1, \text{ де } p - \text{ домігантний алель } A, q -$$

рецесивний алель a .

$$p = \frac{2D + H}{2N}; \quad q = \frac{H + 2R}{N}, \text{ де } D - \text{ число домігантних гомозигот, } H -$$

число гетерозигот, R - число рецесивних гомозигот, N - число осіб у популяції.

Міжгрупові відмінності оцінювали з використанням критерію Хі-квадрат Пірсона з поправкою Йетса, враховуючи малі вибірки, а також, відношення шансів (ВШ, odd ratio, OR), 95% довірчий інтервал (ДІ, confidence interval, CI), чутливість (Se), специфічність (Sp).

Для оцінки сили та напрямлення кореляційного зв'язку використовували коефіцієнт рангової кореляції Спірмена.

РОЗДІЛ 3

ОСОБЛИВОСТІ ТРОМБОЦИТАРНОГО ТА ПЛАЗМОВОГО ГЕМОСТАЗУ У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ТА ХРОНІЧНИЙ КОРОНАРНИЙ СИНДРОМ

3.1 Функціональна активність тромбоцитарного гемостазу у хворих на гострий та хронічний коронарний синдром

З метою вивчення функціонального стану тромбоцитів у хворих на ГКС та ХКС без супутнього ЦД було проведено порівняльний аналіз агрегатограм I та III груп обстежених хворих, а також КГ.

В цьому розділі проведена порівняльна оцінка I та III групи, що показала достовірну різницю ступеня СпАТ, який у I групі у 2,5 рази був вищий за КГ та на 52,1% перевищував відповідний показник III групи ($p < 0,001$), проте без статистично значущої різниці у швидкості СпАТ (табл. 3.1.1). СРА у групі хворих на ГКС був в 1,39 разів більший за контрольні значення та на 46,3% більшим, ніж у групі порівняння ($p < 0,001$).

Таблиця 3.1.1

Показники функціональної активності тромбоцитів
у хворих на гострий або хронічний коронарний синдром без супутнього
цукрового діабету 2-го типу (Me [25; 75])

Показник	Група			р I-III
	I	III	Контроль	
Спонтанна агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	2,21 [1,5; 2,7]**	1,15 [0,85; 1,32]**	0,88 [0,5; 1,1]	<0,001
Швидкість, %/хв	2,32 [1,4; 3,0]	1,91 [1,32; 2,87]	1,64 [1,3; 2,8]	>0,05
СРА	1,39 [1,0; 2,5]*	0,95 [0,78; 1,16]	1 [0,9; 1,1]	<0,001
АК-індукована агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	18,8 [12,1; 26,4]**	29,81 [21,5; 33,7]**	36,4 [32,0; 42,6]	<0,001
Швидкість, %/хв	17,4 [10,0; 29,4]*	44,18 [34,13; 52,9]	41,9 [24,1; 56,0]	<0,001
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	30,6 [12,8; 46,4]*	33,0 [21,3; 49,3]*	43,5 [36,5; 52,6]	>0,05
Швидкість, %/хв	30,43 [10,4; 81,1]	29,14 [10,44; 78,6]*	48,9 [44,4; 73,5]	>0,05

Примітка. р I-III - вірогідність різниці показників між хворими I групи та III групи; *, ** – вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,01$, $p < 0,001$.

Аналізуючи АК-індуковану агрегацію тромбоцитів мала місце суттєва різниця не тільки при міжгруповому аналізі, а й при порівнянні з КГ. У групі I відмічений на 59% менший показник ступеню АК-агрегації, ніж у КГ, та на 37% менший за показник III групи ($p < 0,001$ для обох випадків). Швидкість АК-індукованої агрегації у I групі була меншою за показники КГ ($p < 0,01$) та у 2,5 рази меншою за групу III ($p < 0,001$).

АДФ-індукована агрегація достовірно відрізнялася від КГ та була на 30% менша у групі I та на 24% - у групі III ($p < 0,01$). Проте при міжгруповому аналізі вірогідної різниці виявлено не було.

Нами було проведено дослідження впливу ступенів агрегації тромбоцитів на розвиток наслідку у вигляді ГКС (табл. 3.1.2).

Таблиця 3.1.2

Значущість наявності факторів ризику у пацієнтів I та III групи

Фактор ризику	ВШ	95% ДІ	χ^2	p	Se	Sp	ϕ
Ступінь СпАТ $>0,88\%$	6,0	1,172 – 30,725	4,007	0,046	93,3	30,0	0,302
Ступінь АК-ІА $<32,0\%$	4,971	1,387 – 17,816	5,253	0,022	86,7	43,3	0,333
Ступінь АДФ-ІА $<36,5\%$	1,727	0,616 – 4,845	0,611	0,435	63,3	50,0	0,135

Примітка. ВШ – відношення шансів, 95% ДІ – довірчий інтервал, χ^2 – критерій Хі-квадрат з поправкою Йетса, Se – чутливість, Sp – специфічність, ϕ - сила зв'язку між фактором ризику та наслідком, АК-ІА – АК-індукована агрегація, АДФ-ІА – АДФ-індукована агрегація.

Дані на рисунку 3.1.1. демонструють розподіл пацієнтів з високим показником ступеня СпАТ, АК- та АДФ - індукованої агрегації.

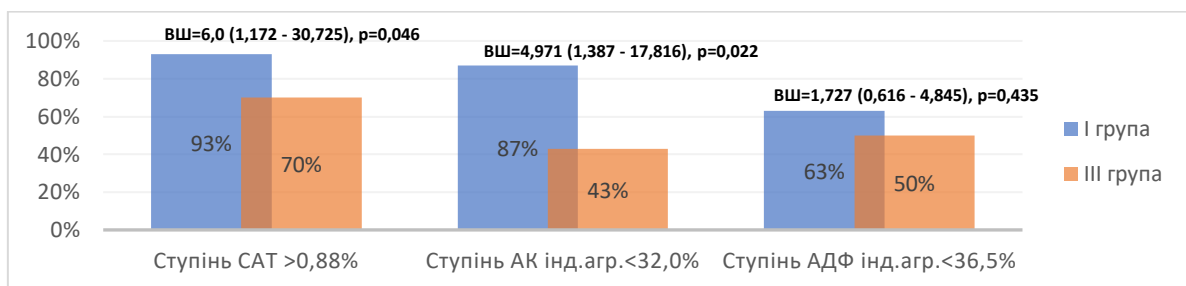


Рис. 3.1.1 Розподіл пацієнтів з граничними показниками агрегації тромбоцитів

Не зважаючи на вірогідну різницю всіх показників з контрольними значеннями, нами була відмічена наступна асоціація (рис. 3.1.2): лише ступінь СпАТ може виступати фактором, що підвищує ризик розвитку ГКС, враховуючи показник $ВШ=6,0$; 95% ДІ: 1,172–30,725; $p=0,046$, що підтверджується високою чутливістю методу та середньою силою зв'язку.

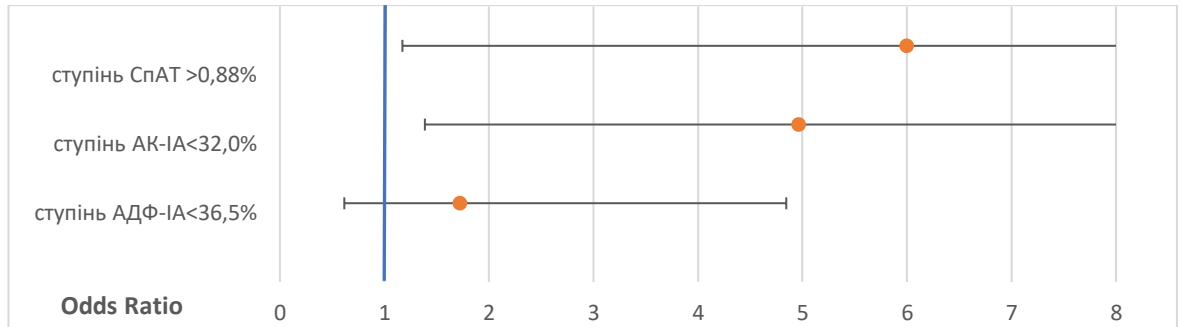


Рис. 3.1.2 Відносні шанси граничного ступеня агрегації тромбоцитів серед хворих І та ІІІ групи

Гранично низький показник ступеня АК-агрегації частіше зустрічався при ГКС ($ВШ=4,971$; 95% ДІ: 1,387 – 17,816; $p=0,022$), на що також вказує суттєва чутливість методу та помірний зв'язок між вказаним фактором на розвиток ГКС. Отримані дані можна пояснити прийомом АСК у даній групі пацієнтів.

Отже, отримані результати продемонстрували активацію тромбоцитарної ланки гемостазу у хворих на ГКС, що підтверджувалося ступенем СпАТ. Однак, відмітимо, що і у групі хворих на ХКС цей показник значимо перевищував контрольні дані, що дозволяє припустити наявність залишкової реактивності тромбоцитів у цієї когорти хворих.

Показники АК-індукованої агрегації тромбоцитів демонструють активну відповідь на лікування АСК у групі І та меншою мірою у групі ІІІ. Проте, вважаємо за необхідне деталізувати оцінку, враховуючи те, що АСК у групі ІІІ приймали лише 16 хворих з 30 (табл. 3.1.3). З цією метою нами

було розподілено хворих III групи на дві підгрупи: IIIa - пацієнти, які приймали АСК, та IIIб – особи, які не приймали АСК.

Таблиця 3.1.3

Показники АК-індукованої агрегації тромбоцитів
у хворих на хронічний коронарний синдром без супутнього цукрового
діабету 2-го типу (Me [25; 75])

Показник	Група		
	IIIa (n=16)	IIIб (n=14)	Контроль
Ступінь, %	27,16 [22,03; 33,58]*	29,81 [20,8; 36,2]	36,4 [32,0; 42,6]
Швидкість, %/хв	45,51 [38,41; 52,5]	35,65 [29,4; 56,54]	41,9 [24,1; 56,0]

Примітка. *, ** – вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,01$, $p < 0,001$.

Не дивлячись на пригнічений показник АК-агрегації у групі III серед пацієнтів, які приймали АСК (IIIa, n = 16), нами відмічено, що у 38% хворих (n = 6) показник перевищував контрольні значення, що може вказувати на резистентність цих пацієнтів до АСК. Привертає увагу наявність пригніченої агрегації серед пацієнтів групи IIIб, що може свідчити про потенційну нечутливість до прийому АСК.

Враховуючи, що клопідогрель приймали всі пацієнти обох досліджуваних груп, отримані показники АДФ-індукованої агрегації є очікуваними, однак, у 33,4% хворих I групи (n = 10) та 36,7% хворих III групи (n = 11) виявлено перевищення контрольних значень. Це може свідчити на користь резистентності цих пацієнтів до терапії клопідогрелем.

3.2 Активність плазмового гемостазу у хворих на гострий та хронічний коронарний синдром

При вивченні показників коагуляційної ланки гемостазу було виявлено односпрямовані зміни у групах хворих на ГКС (I група) та ХКС (III група), які свідчили про суттєве підвищення згортуючої активності крові. Слід зазначити, що параметри гемостазу були обрані таким чином,

щоб характеризувати різні етапи гемокоагуляції – внутрішній шлях згортання (АЧТЧ), зовнішній шлях (ПТЧ), кінцеві стадії утворення згустку (ФГ, РФМК). Було показано, що у I групі наявне вкорочення ПТЧ по відношенню до контролю на 24,1% ($p<0,001$), зростання рівня ФГ на 20,3% ($p<0,001$) та РФМК в 2,4 рази ($p<0,001$), а також вкорочення таких показників, як АЧТЧ, ТЧ (табл. 3.2.1). Для визначення стану протизгортуючої системи крові у хворих на ГКС проведено аналіз активності основних компонентів власної антикоагулянтної (АТ III та ПрС), а також фібринолітичної (ХIIа ЗФ) системи організму. Звертало на себе увагу, що у пацієнтів із ГКС зменшення антикоагулянтної активності відбувалось лише за рахунок АТIII ($p<0,01$), тоді як рівень ПрС суттєвих змін не зазнавав. Показник ХIIа ЗФ достовірно перевищував контрольні значення в 1,63 рази ($p<0,01$), що свідчило про пригнічення активності фібринолізу.

Таблиця 3.2.1

Показники плазмового гемостазу у хворих на гострий (I група) та хронічний (III група) коронарний синдром (Me [25; 75])

Показник	Група			р I-III
	I	III	Контроль	
ПТЧ, с	10,25 [8,8; 11,1]**	11,85 [10,3; 13,8]*	13,5 [12,8; 14,6]	<0,001
ТЧ, с	13,1 [12,5; 13,8]**	13,85 [13,1; 14,6]**	17,7 [13,7; 19,2]	<0,01
АЧТЧ, с	25,6 [23,2; 29,3]**	25,65 [23,4; 28,8]**	29,8 [26,8; 33,2]	>0,05
ФГ, г/л	3,49 [3,2; 4,0]**	3,45 [3,1; 4,0]**	2,9 [2,6; 3,3]	>0,05
РФМК, г/лх10 ⁻²	9,5 [9,1; 9,9]***	6,3 [5,7; 7,7]**	4,0 [3,5; 4,5]	<0,001
ПрС, нс	0,91 [0,8; 0,9]	0,95 [0,78; 1,1]	1,05 [0,9; 1,2]	>0,05
АТ III, %	78,0 [74,0; 82,0]*	86,5 [78,0; 94,0]	90,0 [80,0; 110,0]	<0,01
ХIIа ЗФ, хв	13,05 [12,6; 13,7]**	11,45 [10,6; 12,2]***	8,0 [7,0; 11,0]	<0,001

Примітка. р I-III - вірогідність різниці показників між хворими I групи та III групи; *, **, *** – вірогідність різниці відносно КГ $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$

Зміни, виявлені у групі III, аналогічні I групі, що підтверджується активацією внутрішнього шляху згортання, а саме показник АЧТЧ був на 13,9% меншим за КГ ($p < 0,01$), та зовнішнього шляху згортання, в якому показник ПТЧ був на 12,2% меншим за контрольні значення ($p < 0,05$). При міжгруповому порівнянні цих показників відмічено, що АЧТЧ не відрізнявся у I та III групі, а ПТЧ був на 13,5% достовірно меншим у групі I ($p < 0,001$). Показник ТЧ також суттєво відрізнявся на 21,8% від КГ та на 5,7% перевищував показник I групи ($p < 0,01$ для обох випадків). Рівень ФГ на 19% перевищував КГ ($p < 0,01$), однак не відрізнявся від I групи. В свою чергу рівень РФМК був на 58% достовірно вищим за КГ ($p < 0,01$), однак на 34% меншим за I групу ($p < 0,001$). Як і у I групі, показник ПрС не продемонстрував вірогідних залежностей ні при порівнянні з КГ, ні при міжгруповому аналізі. Показник АТШ не відрізнявся від контрольних значень, але на 9% перевищував показник I групи ($p < 0,01$). Показник XIIa 3Ф, як і у I групі, на 43% суттєво перевищував показник КГ, однак був на 12% меншим за показник I групи ($p < 0,001$ для обох випадків).

Отже, знайдені зміни дозволили відмітити прокоагуляційні тенденції всіх етапів згортання порівняно до КГ як у пацієнтів з ГКС, так і у хворих із ХКС.

Для виявлення змін плазмового гемостазу, які відігравали роль у розвитку ГКС та ХКС пацієнтів I та III групи було розподілено за найбільш тромбогенними показниками, а саме за мінімальними та максимальними контрольними значеннями.

Аналізуючи результати вивчення зв'язку показників плазмового гемостазу з розвитком ГКС та перебігом ХКС можемо зробити висновок про вірогідне вкорочення ПТЧ, ТЧ та подовження XIIa 3Ф у пацієнтів з ГКС відносно хворих на ХКС ($p < 0,01$), що мало високу чутливість та середню силу зв'язку (табл. 3.2.2).

Цікаво, що показник ПрС, не маючи достовірної різниці з контролем, не мав впливу ні на ГКС, ні на ХКС. Це підтверджено низькою чутливістю показника та відсутністю кореляційного зв'язку.

Таблиця 3.2.2

Значущість наявності факторів ризику у пацієнтів I та III групи

Фактор ризику	ВШ	95% ДІ	χ^2	p	Se	Sp	ϕ
ПТЧ <10 с	5,688	1,591 – 20,300	6,429	0,012	46,8	86,8	0,364
ТЧ <13,7 с	5,4	1,804 – 16,427	8,067	0,005	70,0	70,0	0,400
АЧТЧ <26,8 с	0,872	0,312 – 2,435	0	1,0	56,7	40,0	0,034
ФГ >3,3 г/л	1,147	0,411 – 3,204	0,069	0,794	60,0	43,3	0,034
РФМК >4,5 г/л*10 ⁻²	1,034	0,062 – 17,329	0,484	0,487	96,8	33,3	0,003
ПрС <0,9 нс	1	0,350 – 2,858	0,072	0,789	36,7	63,3	0
АТШ <80 %	2,259	0,802 – 6,364	1,674	0,196	56,7	63,3	0,200
ХІа-ЗФ >11 хв	15	1,179 – 126,49	7,424	0,007	96,8	33,3	0,392

Примітка. ВШ – відношення шансів, 95% ДІ – довірчий інтервал, χ^2 – критерій Хі-квадрат з поправкою Йетса, Se – чутливість, Sp – специфічність, ϕ - сила зв'язку між фактором ризику та наслідком

Таким чином, ми спостерігали більшу активацію зовнішнього шляху згортання крові та кінцевих стадій утворення згустку, а також пригнічення фібринолітичної системи гемостазу у групі хворих на ГКС. Одним із пояснень знайдених змін може бути збільшена експресія тканинного фактору, що розвивається внаслідок коронароспазму та ендотеліальної дисфункції. Саме тканинний фактор разом із фосфоліпідами запускає каскад згортання за зовнішнім шляхом. В той же час нами продемонстровано пришвидшення згортання крові за внутрішнім шляхом у групі хворих на ХКС.

Отже, проведені нами дослідження показали, що у хворих на ІХС має місце односпрямований характер змін агрегаційних властивостей тромбоцитів при різних клінічних варіантах перебігу. Однак найбільш виражені зміни показників агрегації, а саме СпАТ (вища на 52,1%) були

виявлені у групі хворих на ГКС, що також супроводжувалось більш пригніченою індукованою агрегацією тромбоцитів.

У пацієнтів обох груп виявлено підвищення концентрації в плазмі ФГ та РФМК, що найвиразнішим при ГКС, підтверджує факт тромбінемії при загостренні ІХС та може слугувати індикатором ступеню прогресування ІХС. У хворих на ГКС відмічено стабільно низькі рівні активності АТІІ та фібринолізу, що у поєднанні з підвищеними показниками згортання крові дозволяють констатувати наявність гіперкоагуляції в судинному руслі. Зменшення вмісту природних антикоагулянтів у ІІІ групі свідчить про підвищене їх споживання.

Результати досліджень, представлені в розділі 3, опубліковано в роботах:

1. Карпенко, О.О., Нетяженко, В.З. (2019). Особливості змін функціональної активності тромбоцитів у хворих із поєднанням ІХС та цукрового діабету 2-го типу в умовах проведення подвійної антитромбоцитарної терапії. *Український кардіологічний журнал*, 26(1), 46 – 47.
2. Карпенко, О.О. (2019). Вплив антитромбоцитарного лікування на агрегаційну здатність тромбоцитів у хворих на ішемічну хворобу серця та у поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, (1), 11-17.
3. Karpenko, O. (2019). Стан згортуючої, антикоагулянтної та фібринолітичної активності крові у хворих на гостру ішемічну хворобу серця та особливості змін при поєднанні з цукровим діабетом типу 2 (когортне проспективне дослідження). *ScienceRise. Medical Science*, (4 (31)), 4-8.

РОЗДІЛ 4

ОСОБЛИВОСТІ ТРОМБОЦИТАРНОГО ТА ПЛАЗМОВОГО

ГЕМОСТАЗУ У ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ ТА ХРОНІЧНИЙ

КОРОНАРНИЙ СИНДРОМ З СУПУТНІМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

2-го ТИПУ

4.1 Функціональна активність тромбоцитарного гемостазу у хворих на гострий та хронічний коронарний синдром з супутнім цукровим діабетом 2-го типу

На сьогоднішній день відомо, що гіперглікемія при ГКС та ХКС може змінювати тромботичні властивості крові, підвищуючи схильність до тромбоутворення за рахунок посилення чутливості тромбоцитів до різних біологічно активних речовин, зокрема таких як АДФ та АК.

При аналізі агрегаційної здатності тромбоцитів у I та II групах, а саме – показника спонтанної агрегації, виявлено, що в обох досліджуваних групах її ступінь достовірно відрізнявся від КГ ($p < 0,001$ для обох випадків) (табл. 4.1.1).

Таблиця 4.1.1

Показники функціональної активності тромбоцитів
у хворих на гострий коронарний синдром Me [25; 75])

Показник	Група			p I-II
	I	II	Контроль	
Спонтанна агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	2,21 [1,5; 2,7]**	4,04 [2,9; 5,6]**	0,88 [0,5; 1,1]	<0,001
Швидкість, %/хв	2,32 [1,4; 3,0]	3,01 [2,1; 4,2]*	1,64 [1,3; 2,8]	<0,05
CPA	1,39 [1,0; 2,5]*	1,87 [1,26; 3,1]**	1 [0,9; 1,1]	>0,05
АК-індукована агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	18,8 [12,1; 26,4]**	24,38 [21,5; 32,9]*	36,4 [32,0; 42,6]	<0,05
Швидкість, %/хв	17,4 [10,0; 29,4]*	16,75 [12,3; 26,0]**	41,9 [24,1; 56,0]	>0,05
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	30,6 [12,8; 46,4]*	44,35 [39,9; 60,2]	43,5 [36,5; 52,6]	<0,001
Швидкість, %/хв	30,43 [10,4; 81,1]	58,5 [20,4; 88,1]	48,9 [44,4; 73,5]	>0,05

Примітка. p I-II - вірогідність різниці показників між хворими I групи та II групи; *, ** – вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,01$, $p < 0,001$.

При аналізі ВШ виявлена тенденція до надвисокого ступеня (>1,1%) СпАТ саме у групі II та відмічена висока чутливість даного методу (Se=97%) (табл. 4.1.2).

Таблиця 4.1.2

Значущість наявності факторів ризику у пацієнтів I та II групи

Фактор ризику	ВШ	95% ДІ	χ^2	p	Se	Sp	ϕ
Ступінь СпАТ >1,1%	3,333	0,327 – 33,993	0,304	0,582	0,968	0,100	0,137
Ступінь АК-ІА >42,6%	4,462	0,468 – 42,516	0,873	0,351	0,133	0,967	0,181
Ступінь АДФ-ІА >52,6%	0,345	0,103 – 1,163	2,131	0,145	0,167	0,633	0,226

Примітка. ВШ – відношення шансів, 95% ДІ – довірчий інтервал, χ^2 – критерій Хі-квадрат з поправкою Йетса, Se – чутливість, Sp – специфічність, ϕ - сила зв'язку між фактором ризику та наслідком, АК-ІА – АК-індукована агрегація, АДФ-ІА – АДФ-індукована агрегація.

У пацієнтів з ГКС у поєднанні з ЦД спостерігалась також активація швидкості СпАТ, що на 30% прискорювало формування агрегатів у порівнянні з групою ізольованого ГКС ($p < 0,05$). Доречі, СРА агрегатів достовірно зростав у обох групах хворих порівняно із контролем.

При вивченні індукованої агрегації тромбоцитів враховувалось, що пацієнти I та II групи отримували ПАТТ, що мало суттєво позначитись на їх активності. Проте, очікуване пригнічення агрегаційного потенціалу виявилось лише при дії АК. Так, ступінь агрегації тромбоцитів у відповідь на АК у групі I був у 1,9 рази достовірно нижчим за контрольні значення ($p < 0,001$), у групі II – у 1,5 рази нижчим ($p < 0,01$). Звертало на себе увагу, що у пацієнтів із ЦД ступінь АК-індукованої агрегації тромбоцитів на 29,7 % перевищував значення групи ГКС без ЦД ($p = 0,018$). При цьому швидкість агрегаційного процесу між порівнюваними групами хворих не відрізнялась і була практично в 2,5 рази меншою за показники КГ.

Отже, застосування АСК, основною точкою дії якої є вплив на метаболізм АК, більшою мірою саме уповільнювало агрегаційний процес,

причому цей механізм не залежав від наявності ЦД у хворих на ГКС, маючи значну специфічність (понад 95%) шанс виявити високий ступінь АК-ІА був у 4,5 рази вищим у групі поєднаного перебігу ГКС.

Слід зазначити, що за даними АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів вплив антиагрегантних препаратів виявився менше ефективним. Так, помірне зменшення ступеню АДФ-агрегації спостерігалось лише в групі І, показники якої були в 1,42 рази нижчими, ніж в КГ ($p < 0,01$). У той же час, у пацієнтів з поєднанням ГКС та ЦД не тільки не реєструвалося зниження функціональної активності тромбоцитів, а, навпаки, простежувалась чітка тенденція до пришвидшення утворення агрегатів у КГ ($p > 0,05$).

Таким чином, проведення ПАТТ супроводжувалось ефективним зниженням тромбоцитарних функцій лише у групі хворих з ізольованим ГКС, призводячи до гальмування швидкості та ступеня АК-індукованої агрегації та зменшення ступеня АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів. У хворих із поєднанням ГКС та ЦД на фоні значно збільшеної СпАТ зберігались високі значення АДФ-агрегації тромбоцитів, отже пригнічення зазнавала лише стимульована АК-агрегація кров'яних пластинок, що свідчило про негативний вплив супутнього ЦД на досягнення оптимального ефекту антитромбоцитарного лікування.

Вивчаючи дані, отримані з агрегатограм хворих III та IV групи помітна аналогічна тенденція змін, що і у I та II груп. А саме: показник ступеня СпАТ достовірно відрізнявся в обох групах від КГ (табл. 4.1.3). У групі III він на 30% перевищував показник КГ, а у групі IV – на 40% ($p < 0,01$ в обох випадках). При цьому достовірної різниці між групами III та IV відмічено не було, що підтверджується відсутністю сили зв'язку між підвищеним ступенем СпАТ та перебігом ХКС.

Показник швидкості СпАТ відреагував відповідно до наявності ЦД, проте без достовірної міжгрупової різниці. Так, у групі III спостерігалась тенденція до прискорення агрегаційного процесу на 16% відносно

контролю, а у групі IV – на 32% ($p>0,05$). Показник СРА не продемонстрував інформативних змін.

Таблиця 4.1.3

Показники функціональної активності тромбоцитів
у хворих на хронічний коронарний синдром (Ме [25; 75])

Показник	Група			р III-IV
	III	IV	Контроль	
Спонтанна агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	1,15 [0,85; 1,32]**	1,24 [0,81; 2,47]**	0,88 [0,5; 1,1]	$p>0,05$
Швидкість, %/хв	1,91 [1,32; 2,87]	2,17 [1,43; 2,91]	1,64 [1,3; 2,8]	$p>0,05$
СРА	0,95 [0,78; 1,16]	1,01 [0,84; 1,17]	1 [0,9; 1,1]	$p>0,05$
АК-індукована агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	29,81 [21,5; 33,7]**	41,53 [36,2; 51,8]	36,4 [32,0; 42,6]	$p<0,001$
Швидкість, %/хв	44,18 [34,13; 52,9]	47,25 [40,5; 57,0]	41,9 [24,1; 56,0]	$p>0,05$
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	33,0 [21,3; 49,3]*	38,64 [32,8; 49,2]	43,5 [36,5; 52,6]	$p>0,05$
Швидкість, %/хв	29,14 [10,44; 78,6]*	36,83 [18,4; 78,4]	48,9 [44,4; 73,5]	$p>0,05$

Примітка. р III-IV - вірогідність різниці показників між хворими III групи та IV групи; *, ** – вірогідність різниці відносно КГ $p<0,05$, $p<0,01$.

При аналізі індукованої агрегації було відмічено, що реакція тромбоцитів досліджуваних груп хворих на АК достовірно відрізнялась за ступенем лише у групі III – вона виявилася на 22% нижче КГ ($p<0,01$). Натомість, у групі IV цей показник на 13% перевищував контрольне значення ($p>0,05$). При цьому спостерігалась статистично значуща відмінність вказаного показника між групами досліджуваних (табл. 4.1.4).

Таблиця 4.1.4

Значущість наявності факторів ризику у пацієнтів III та IV групи

Фактор ризику	ВШ	95% ДІ	χ^2	p	Se	Sp	ϕ
Ступінь СпАТ $>0,88\%$	1,000	0,331 – 3,017	0,079	0,779	0,700	0,300	0
Ступінь АК-ІА $>36,4\%$	24,750	5,856 – 104,61	22,217	$<0,001$	0,733	0,900	0,642
Ступінь АДФ-ІА $>43,5\%$	1,167	0,393 – 3,467	0	1,0	0,333	0,700	0,036

Примітка. ВШ – відношення шансів, 95% ДІ – довірчий інтервал, χ^2 – критерій Хі-квадрат з поправкою Йетса, Se – чутливість, Sp –

специфічність, ϕ - сила зв'язку між фактором ризику та наслідком, АК-ІА – АК-індукована агрегація, АДФ-ІА – АДФ-індукована агрегація.

Цікавим є те, що шанс виявити високий ступінь АК-ІА був майже в 25 разів достовірно вищим у групі поєднання ХКС та ЦД, та саме для цієї когорти хворих метод мав високу чутливість, специфічність та силу зв'язку.

Так, ступінь АК-індукованої агрегації був у 1,4 рази нижчим у групі ІІІ, ніж у групі ІV, що може свідчити про неадекватну реакцію тромбоцитів на стимуляцію АК у категорії хворих з поєднаним перебігом ХКС та ЦД. Швидкість АК-індукованої агрегації не мала достовірної різниці ні між групами, ні у порівнянні з КГ ($p > 0,05$).

Помірно виражені зміни ступеню АДФ-агрегації спостерігалися тільки у групі ізольованої ХКС, показники якої були на 24% нижчими, ніж в КГ ($p < 0,05$), у групі пацієнтів з поєднанням ХКС та ЦД вони достовірно не відрізнялись від контролю, хоча були на 11% меншими за нього ($p > 0,05$). Швидкість утворення агрегатів була нижчою за показник контролю тільки у групі ізольованого перебігу ХКС.

Таким чином, у групі хворих із поєднанням ХКС та ЦД не було знайдено суттєвих відмінностей показників стимульованої агрегації тромбоцитів від контролю, незважаючи на той факт, що переважна більшість пацієнтів отримувала ПАТТ. Знайдені дані можуть свідчити про відсутність належного впливу застосованого лікування.

Серед когорти хворих на ГКС та ХКС була проаналізована наявність кореляційного зв'язку між показниками тромбоцитарного гемостазу та супутнім ожирінням (табл. 4.1.5).

Таблиця 4.1.5

Оцінка кореляційних зв'язків між показниками тромбоцитарного гемостазу та супутнім ожирінням

	ГКС	Р	ХКС	Р
Спонтанна агрегація тромбоцитів				
Ступінь, %;	0,134744	p>0,05	0,221875	p<0,05
Швидкість, %/min.	0,139272	p>0,05	0,034561	p>0,05
СРА	0,042208	p>0,05	0,019777	p>0,05
АК-індукована агрегація тромбоцитів				
Ступінь, %;	0,147514	p>0,05	0,101103	p>0,05
Швидкість, %/min.	0,154478	p>0,05	0,285321	p>0,05
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів				
Ступінь, %;	0,124521	p>0,05	0,199923	p>0,05
Швидкість, %/min.	0,449846	p>0,05	0,472420	p>0,05

В результаті аналізу виявлено слабкий позитивний кореляційний зв'язок між ступенем СпАТ на наявність супутнього ожиріння у хворих на ХКС, що дозволяє розглянути ожиріння як один із можливих факторів ризику розвитку тромбофілічних змін у тромбоцитарній ланці гемостазу. Однак, при наступних етапах аналізу дані зміни підтвердилися лише у групі ХКС із ЦД, що вказує на відсутність пригнічення взаємодії тромбоцитів з колагеном за умови наявності супутнього ожиріння, що розвивається на тлі інсулінорезистентності.

Отже, отримані у дослідженні результати функціональної активності тромбоцитів дозволяють розглядати ЦД у хворих із ГКС та ХКС як додатковий фактор ризику у формуванні підвищеного агрегаційного потенціалу та резистентності до антитромбоцитарного лікування.

4.2 Показники коагуляційного гемостазу у хворих на різні форми ішемічної хвороби серця в поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу

В останні роки особливе значення в патогенезі судинних уражень при ЦД надається змінам в системі гемокоагуляції, які виявлені у всіх трьох складових компонентах гемостазу: структурі та функції тромбоцитів, факторів згортання і цілісності судинної стінки.

З метою вивчення плазмового гемостазу у хворих на ГКС та ХКС було проведено порівняльний аналіз отриманих результатів всіх груп обстежених хворих, а також КГ.

Знайдені зміни дозволили відмітити прокоагуляційні тенденції всіх етапів згортання порівняно до КГ, як у пацієнтів з ГКС, так і у хворих із поєднанням ГКС та ЦД (табл. 4.2.1).

Таблиця 4.2.1

Показники плазмового гемостазу у хворих на гострий коронарний синдром з та без цукрового діабету 2-го типу (Me [25; 75])

Показник	Група			p I-II
	I	II	Контроль	
ПТЧ, с	10,25 [8,8; 11,1]**	9,55 [8,7; 10,8]**	13,5 [12,8; 14,6]	p>0,05
ТЧ, с	13,1 [12,5; 13,8]**	9,65 [8,6; 11,1]**	17,7 [13,7; 19,2]	p<0,001
АЧТЧ, с	25,6 [23,2; 29,3]**	23,0 [21,4; 24,1]**	29,8 [26,8; 33,2]	p<0,001
ФГ, г/л	3,49 [3,2; 4,0]**	4,27 [4,1; 5,0]**	2,9 [2,6; 3,3]	p<0,001
РФМК, г/лх10 ⁻²	9,5 [9,1; 9,9]**	15,1 [13,2; 17,1]**	4,0 [3,5; 4,5]	p<0,001
ПрС, нс	0,91 [0,8; 0,9]	0,66 [0,6; 0,7]**	1,05 [0,9; 1,2]	p<0,001
АТ III, %	78,0 [74,0; 82,0]*	65,5 [54,0; 76,0]**	90,0 [80,0; 110,0]	p<0,001
ХШа ЗФ, хв	13,05 [12,6; 13,7]**	20,4 [18,5; 23,7]**	8,0 [7,0; 11,0]	p<0,001

Примітка. p I-II - вірогідність різниці показників між хворими I групи та II групи; *, ** - вірогідність різниці відносно КГ p<0,01, p<0,001.

Аналізуючи показники згортуючої ланки гемостазу у групі хворих з поєднаним перебігом ГКС та ЦД були продемонстровані достовірні зміни на всіх етапах коагуляції у порівнянні з КГ. А саме: зменшення ПТЧ на

29,3%, вкорочення ТЧ на 45,5% та АЧТЧ на 22,8%, підвищення рівня ФГ на 47,2% та зростання вмісту РФМК в 3,8 разів.

При міжгруповому аналізі показників згортання крові виявлено, що найбільших змін зазнали показники у групі поєднаного перебігу ГКС та ЦД. Так, вкорочення показника ТЧ на 26,3% та АЧТЧ на 10,2%, збільшення рівня ФГ на 22,3% та РФМК в 1,6 разів відносно групи без ЦД може свідчити про підвищений рівень тромбонебезпеки у пацієнтів групи II. І лише показник ПТЧ не набував достовірної різниці між групами, що дозволяло констатувати подібність змін зовнішнього шляху згортання крові у хворих на ГКС, незалежно від наявності супутнього ЦД.

Для визначення стану протизгортуючої системи крові у хворих на ГКС та при поєднанні ГКС та ЦД ми провели аналіз активності основних компонентів власної антикоагулянтної (АТ III та ПрС), а також фібринолітичної (ХIIa-ЗФ) ланки гемостазу.

При загальній подібності змін антикоагулянтної системи крові в обох групах звертало на себе увагу значне виснаження антитромбінової активності у хворих із поєднанням ГКС з ЦД, які супроводжувалися пригніченням системи ПрС. Так, вміст АТIII у цій групі був нижчим за групу контролю на 27,8%, а ПрС знижувався на 37,2%, натомість у пацієнтів із ізольованим ГКС зменшення антикоагулянтної активності відбувалось лише за рахунок АТIII, тоді як рівень ПрС суттєвих змін не зазнавав.

Комплекс знайдений нами змін у системі гемокоагуляції підтверджує думку про підвищений тромбогенний ризик у пацієнтів з коморбідним станом. Слід зауважити, що подібні результати були отримані й іншими авторами. Так, було показано [84] підвищення вмісту ФГ у пацієнтів з ЦД у порівнянні з КГ, при чому рівень позитивно корелював при збільшенні давності захворювання та наявності судинних ускладнень.

У нашому дослідженні вказані зрушення відбувалися на тлі пригнічення фібринолітичної активності в обох досліджуваних групах. При

цьому ХІІа-ЗФ виявився найбільш подовженим в ІІ групі, а саме в 1,6 рази у порівнянні з аналогічним показником І групи та в 2,6 рази відрізнявся від контролю. Отже, окрім порушень в системі коагуляції, при ЦД розвиваються зміни системи фібринолізу, що проявляються зниженням активності цього процесу та сприяють розвитку прокоагулянтного стану. Одним із пояснень знайдених змін може бути достовірне зниження антикоагулянтної та фібринолітичної активності плазми крові у групі хворих з поєднаним перебігом ЦД та ГКС, що супроводжується пригніченням синтезу плазміногену в ендотелії судин, який є білковим активатором фібринолізу.

Таким чином, зменшення протизгортуючої активності крові у хворих ІІ групи характеризувалось гальмуванням систем АТІІІ, ПрС та фібринолізу, що поглиблювало прокоагулянтні зміни, виявлені в ході дослідження.

При оцінці коагуляційної ланки гемостазу серед груп хворих на ХКС було визначено вкорочення АЧТЧ в обох групах - на 14% у групі ІІІ, та на 22% - у групі ІV, відповідно ($p < 0,05$) у порівнянні з КГ (табл. 4.2.2).

Таблиця 4.2.2

Показники коагуляційного гемостазу у хворих на хронічний коронарний синдром з та без цукрового діабету 2-го типу (Ме [25; 75])

Показник	Група			р ІІІ-ІV
	ІІІ	ІV	Контроль	
ПТЧ, с	11,85 [10,3; 13,8]*	9,85 [9,2; 10,8]***	13,5 [12,8; 14,6]	$p < 0,001$
ТЧ, с	13,85 [13,1; 14,6]**	11,5 [10,6; 11,9]***	17,7 [13,7; 19,2]	$p < 0,001$
АЧТЧ, с	25,65 [23,4; 28,8]**	23,25 [21,9; 24,2]***	29,8 [26,8; 33,2]	$p < 0,01$
ФГ, г/л	3,45 [3,1; 4,0]**	3,9 [3,5; 4,0]***	2,9 [2,6; 3,3]	$p < 0,05$
РФМК, г/лх10 ⁻²	6,3 [5,7; 7,7]***	10,35 [9,7; 11,5]***	4,0 [3,5; 4,5]	$p < 0,001$
ПрС, нс	0,95 [0,78; 1,1]	0,86 [0,77; 0,99]*	1,05 [0,9; 1,2]	$p > 0,05$
АТ ІІІ, %	86,5 [78,0; 94,0]	69,7 [63,2; 73,5]***	90,0 [80,0; 110,0]	$p < 0,001$
ХІІа ЗФ, хв	11,45 [10,6; 12,2]***	16,0 [14,6; 17,3]***	8,0 [7,0; 11,0]	$p < 0,001$

Примітка. р ІІІ-ІV - вірогідність різниці показників між хворими ІІІ та ІV групи; *, **, *** – вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$.

Оцінка ТЧ виявила суттєві відмінності у результатах обох груп, де достовірно вкоротився показник у порівнянні із КГ: у III групі на 22%, а у IV групі – на 35% ($p < 0,01$ та $p < 0,001$, відповідно). Так, серед пацієнтів з поєднаним перебігом ХКС та ЦД на 20,4% швидше утворювався згусток у порівнянні з групою пацієнтів з ізольованим перебігом ХКС ($p < 0,001$).

Вміст ФГ був більшим у групі IV (на 13,04% та 34,5%) у порівнянні із групою III та КГ ($p < 0,05$ та $p < 0,001$, відповідно).

Концентрація РФМК виходила за межі референтних значень в групах III та IV. В групі ізольованого перебігу ХКС показник був достовірно вищим у 1,58 разів, ніж у КГ, та зростав при приєднанні ЦД на 64,3% ($p < 0,001$).

Аналіз показників протизгортуючої системи крові дозволив виявити наступні зміни. Активність АТ III в групі III практично не відрізнялась від контрольних значень. Натомість, показник активності у групі поєданого перебігу був на 19,4% нижчим від групи ізольованого перебігу ХКС та на 22,6% меншим від КГ ($p < 0,001$).

В ході проведеного аналізу суттєве зниження активності антикоагулянтної системи ПрС було виявлено лише в групі IV у порівнянні з КГ, хоча достовірних відмінностей між групами III та IV не спостерігалось.

Зміни фібринолітичної системи гемостазу, оцінені за часом XIIa-3Ф, характеризувались достовірним пригніченням активності в групах III та IV. Під час порівняння показників між досліджуваними групами було виявлено подовження часу XIIa-3Ф у групі IV на 39,7% ($p < 0,001$). Аналізуючи показники обох груп у порівнянні з КГ виявлені достовірні зміни: збільшення часу фібринолізу у групі III у 1,4 рази, а у групі IV – у 2 рази ($p < 0,001$ для обох випадків).

Узагальнюючи результати дослідження тромбоцитарно-плазмового гемостазу, слід зазначити, що у хворих на ЦД більш інтенсивно відбувається СпАТ. При цьому значна частина тромбоцитів є задіяною у формування

агрегатів, завдяки чому зменшується кількість тромбоцитів, що мають фізіологічну можливість до агрегаційної активності.

Зміни, виявлені в результаті вивчення коагуляційної ланки гемостазу в досліджуваних групах, свідчать про прискорення процесів згортання крові на трьох етапах коагуляції: скорочення періодів генерації активного тромбіну за внутрішнім та зовнішнім механізмами при одночасній активації процесів фібриногенезу. Аналіз показників антикоагулянтної ланки гемостазу дозволив встановити, що активність АТ III і ПрС була значно нижчою за значення КГ, що свідчило про достовірне пригнічення антикоагулянтної активності в досліджуваних групах. Крім того виявлене значне подовження показників ХПа-ЗФ, що також є свідченням гальмування процесів фібринолізу з максимальним пригніченням у пацієнтів з поєднаним перебігом ГКС та ЦД. Отже, наявність ЦД характеризується цілим рядом змін з боку системи гемостазу, що обумовлюють підвищений ризик тромботичних ускладнень.

Результати досліджень, представлені в розділі 4, опубліковано в роботах:

1. Карпенко, О. (2019). Стан згортаючої, антикоагулянтної та фібринолітичної активності крові у хворих на гостру ішемічну хворобу серця та особливості змін при поєднанні з цукровим діабетом типу 2 (когортне проспективне дослідження). *ScienceRise. Medical Science*, (4 (31)), 4-8.
2. Карпенко, О.О. (2019). Вплив антитромбоцитарного лікування на агрегаційну здатність тромбоцитів у хворих на ішемічну хворобу серця та у поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, (1), 11-17.
3. Карпенко, О.О., Нетяженко, В.З. (2019). Особливості змін функціональної активності тромбоцитів у хворих із поєднанням ІХС та цукрового діабету 2-го типу в умовах проведення подвійної

антитромбоцитарної терапії. *Український кардіологічний журнал*, 26(1), 46 – 47.

4. Карпенко, Е.А. (2019). Особенности изменений коагуляционного гемостаза у пациентов с острой ишемической болезнью сердца и при комбинации с сахарным диабетом 2 типа. *Сборник материалов VIII Международного молодежного медицинского конгресса «Санкт-Петербургские научные чтения-2019»*, 173.

РОЗДІЛ 5

ЧАСТОТА ТА ЗВ'ЯЗОК T1565C ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА ITGB3, G455A ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА FGB ТА G20210A ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНА FII З ПОКАЗНИКАМИ ГЕМОСТАЗУ У ПАЦІЄНТІВ З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ІШЕМІЧНОЇ ХВОРОБИ СЕРЦЯ У ПОЄДНАННІ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2-ГО ТИПУ

5.1 T1565C поліморфізм гена ITGB3 та його зв'язок з активністю тромбоцитарного та плазмового гемостазу

Вивчення генетичних аспектів тромбозу свідчить про переважання останнього у людей з «несприятливими» алелями білків-учасників гемостатичного каскаду. Один з ефективних підходів до вивчення ролі генетичних механізмів пов'язаний з виділенням генів, що мають найбільший внесок у регуляцію первинної ланки гемостазу, забезпечуючи адекватність тромбоцитарної відповіді.

Найважливіша особливість при активації тромбоцитів – модифікація комплексу мембранних глікопротеїдів Пв/Ша. В результаті конформаційних змін комплекс набуває спроможності до зв'язування ФГ, тим самим створюючи містки між активованими тромбоцитами. Внаслідок цього відбувається агрегація кров'яних пластинок, що закінчується формуванням в зоні ушкодження судинної стінки тромбоцитарного тромбу.

З метою вивчення зв'язку генотипів за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 з активністю гемостазу було проаналізовано результати генетичного дослідження глікопротеїнових рецепторів тромбоцитів до ФГ (одна з субодиниць яких кодується цим геном) у пацієнтів з ГКС та ХКС у поєднанні з ЦД.

Дослідження розподілу генотипів за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 показало, що фактичний розподіл генотипів відповідає теоретично очікуваному при рівновазі Харді-Вайнберга ($p > 0,05$) (табл. 5.1.1).

Таблиця 5.1.1

Розподіл T1565C поліморфізму гену ITGB3 серед хворих на ішемічну хворобу серця з та без цукрового діабету 2-го типу

Локуси, алелі, показники	I група	II група	III група	IV група
	ГКС без ЦД	ГКС з ЦД	ХКС без ЦД	ХКС з ЦД
T1565C поліморфізм гена ITGB3				
ΣN	30	30	30	30
N_0				
1565 T/T	21 (70%)	22 (73,3%)	26 (86,7%)	27 (90%)
1565 T/C	5 (16,7%)	5 (16,7%)	2 (6,7%)	3 (10%)
1565 C/C	4 (13,3%)	3 (10%)	2 (6,7%)	0
1565 T	0,783	0,817	0,9	0,95
1565 C	0,217	0,183	0,1	0,05
N_E				
1565 T/T	18,39	19,97	24,3	27,08
1565 T/C	10,20	8,95	5,4	2,85
1565 C/C	1,41	1,004	0,3	0,08
χ^2	7,78	5,91	11,89	0,09
p	0,25	0,0518	0,055	0,956

Примітка. ΣN – об'єм вибірки; N_0 – фактичний розподіл фенотипу; N_E – теоретичний розподіл фенотипу; χ^2 - показник співвідношення фактичного розподілу до теоретичного, виходячи із рівноваги Харді – Вайнберга; p – досягнутий рівень значимості для χ^2 .

Генотипування хворих показало, що T1565C поліморфізм гена ITGB3 в когорті хворих на ГКС мав наступний розподіл: нативний T/T генотип був присутній у 71,7% пацієнтів (n=43), генотипи з наявністю C-алелі розподілились наступним чином: T/C – 16,7% (n=10), C/C – 11,7% (n=7). У когорті хворих на ХКС вказані генотипи зустрічалися з такою частотою: T/T – 88,3% (n=53), T/C – 8,3% (n=5), C/C – 3,3% (n=2) (рис. 5.1.1). Таким чином, у 28,3% хворих з гострим порушенням коронарного кровообігу спостерігалася C-алель за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, натомість при стабільному перебігу ІХС вона була присутня лише у 11,6% пацієнтів.

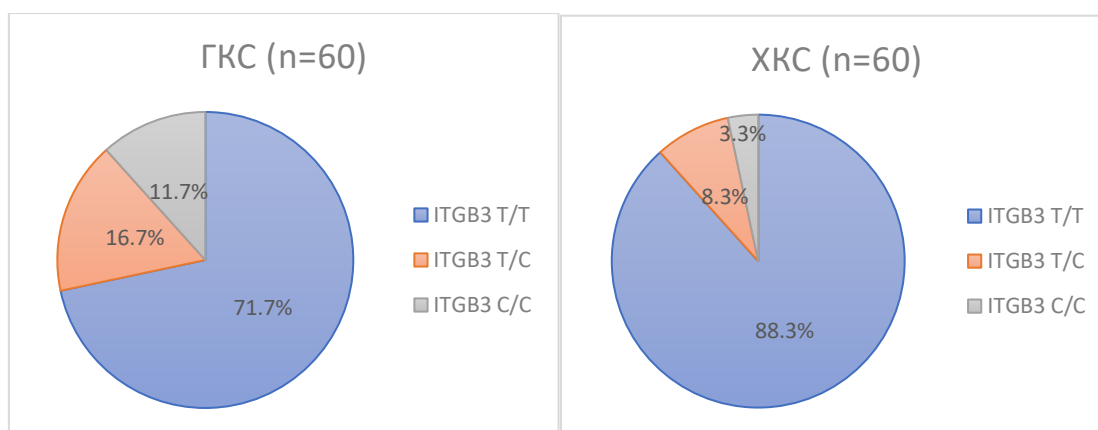


Рис. 5.1.1 Розподіл генотипів серед обстежених хворих

Шанс зустріти мутований С-алель у групі хворих на ГКС був майже у 3 рази вищим (ВШ = 2,993; 95% ДІ: 1,137 – 7,879; $p < 0,05$). Отже, хворі із мутованим С-алелем були більше схильні до виникнення гострих форм ІХС, основу яких, як відомо, становить активація тромбоутворення у коронарному руслі. Зважаючи на виключну роль тромбоцитів у патогенезі коронаротромбозу та значення глікопротеїнових рецепторів у його реалізації, можна стверджувати про важливість генетичної схильності до перебігу захворювання саме за цим сценарієм. А ось наявність супутнього ЦД не асоціювалася з наявністю мутованого С-алеля (ВШ = 0,812; 95% ДІ: 0,331 – 1,991; $p > 0,05$).

Для підтвердження ролі T1565C поліморфізму гена ITGB3 в активації процесів гемокоагуляції було вивчено агрегаційну здатність тромбоцитів у когорті хворих на ГКС (табл. 5.1.2). Усі пацієнти цієї когорти були розділені на підгрупи в залежності від генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3.

Виявлено, що показники ступеня СпАТ достовірно відрізнялися від КГ в усіх підгрупах обстежених хворих, при цьому найвищий показник був зафіксований у підгрупі С/С – 4,81 [4,2; 6,1], який в 5,46 разів перевищував контрольне значення ($p < 0,001$). Слід відмітити, що наявність С-алелі була пов'язана зі зростанням ступеню СпАТ відносно Т/Т поліморфізму на 76,92% у підгрупі Т/С ($p < 0,01$), та на 94,74% у підгрупі С/С ($p < 0,001$). Проте при

аналізі розподілу високого ступеню СпАТ не відмічено схильності між поліморфізмами (ВШ=1,275; 95% ДІ: 0,124 - 13,147; $p=0,838$). Подібні зміни було відмічено також і щодо швидкості СпАТ.

Таблиця 5.1.2

Показники тромбоцитарного гемостазу у когорті хворих на гострий коронарний синдром (Ме [25; 75])

Показник	T1565C поліморфізм гена ITGB3			Контроль	P
	T/T	T/C	C/C		
Спонтанна агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %;	2,47 [1,7; 3,7]***	4,37 [2,5; 5,9]***	4,81 [4,2; 6,1]***	0,88 [0,5; 1,1]	$p_{1-2}<0,01$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}>0,05$
Швидкість, %/мін.	2,24 [1,6; 3,1]	2,91 [1,9; 5,2]	3,89 [2,9; 4,2]***	1,64 [1,3; 2,8]	$p_{1-2, 1-3, 2-3}>0,05$
CPA	1,19 [1,0; 2,4]*	1,13 [0,9; 1,7]	1,01 [0,9; 2,5]	1 [0,9; 1,1]	$p_{1-2, 1-3, 2-3}>0,05$
АК-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %;	21,5 [15,3; 30,1]***	22,5 [18,9; 30,1]*	26,25 [21,8; 33,5]*	36,4 [32,0; 42,6]	$p_{1-2, 1-3, 2-3}>0,05$
Швидкість, %/мін.	16,7 [10,0; 24,3]***	16,85 [11,6; 29,4]*	24,95 [12,3; 49,2]	41,9 [24,1; 56,0]	$p_{1-2, 1-3, 2-3}>0,05$
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %;	37,2 [21,3; 44,6]*	43,13 [33,2; 60,2]	72,9 [56,4; 86,4]**	43,5 [36,5; 52,6]	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,05$
Швидкість, %/мін.	25,12 [10,4; 64,2]	43,65 [26,2; 81,1]	95,7 [88,1; 113,0]***	48,9 [44,4; 73,5]	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}<0,001$ $p_{2-3}<0,01$

Примітка. $p_{1-2, 1-3, 2-3}$ - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, **, *** – вірогідність різниці відносно КГ $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$

Аналізуючи показники АК-індукованої агрегації тромбоцитів, встановлено, що її ступінь у підгрупі хворих з С/С генотипом мав тенденцію до збільшення на 22% у порівнянні з підгрупою Т/Т та на 16,6% - у порівнянні з підгрупою Т/С, при цьому різниця між підгрупами не набувала статистичної значущості ($p>0,05$). Це підтверджується аналізом розподілу високих показників АК-агрегації між поліморфізмами, що мало низьку чутливість та

слабку силу зв'язку ($W=2,733$; 95% ДІ: 0,353 - 21,175; $p=0,320$). Достовірно нижчі значення щодо КГ в усіх підгрупах пацієнтів можна, очевидно, пояснити лікуванням АСК, яка має вплив саме на метаболізм АК, що призводить до зниження реакції тромбоцитів на цей індуктор. Таким чином, виразність зниження ступеню та швидкості АК-індукованої агрегації тромбоцитів може розглядатись як критерій ефективності терапії. Слід зазначити, що при відсутності достовірної різниці у вказаних показниках між підгрупами хворих із різним генотипом за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, простежувалась чітка тенденція до нижчих значень АК-агрегації у хворих із нативним T/T генотипом, натомість тромбоцити хворих із мутованим гомозиготним C/C генотипом демонстрували менш адекватну відповідь на лікування.

Щодо ступеню АДФ-індукованої агрегації встановлено, що найбільший показник зафіксований у підгрупі C/C, він виявився в 1,68 разів вищим за КГ ($p<0,01$). Необхідно відмітити, що всі хворі отримували лікування клопідогрелем, який має безпосередній вплив саме на АДФ-агрегацію тромбоцитів. Отже, зростання відповіді тромбоцитів на цей індуктор можна розцінювати як парадоксальну реакцію і свідчення неефективності препарату. Виявлено, що носійство C-алелі спричиняє зростання АДФ-агрегації відносно T/T генотипу на 15,9% у групі T/C ($p>0,05$) та достовірне збільшення у підгрупі C/C, як відносно групи T/C (69%, $p<0,05$), так і відносно групи T/T (95,7%, $p<0,001$). Шанс зустріти високий ступінь АДФ-агрегації майже однаковий серед обох поліморфізмів ($W=0,583$; 95% ДІ: 0,111 - 3,078; $p=0,410$). З боку швидкості АДФ-індукованої агрегації спостерігалися подібні зміни. Так, показник швидкості у підгрупі C/C був вищим у 2,2 рази та у 3,8 разів, ніж у підгрупах T/C ($p<0,01$) та T/T ($p<0,001$), відповідно.

Вивчаючи зміни тромбоцитарного гемостазу у групі обстежених з ГКС було вирішено провести аналіз серед групи I та II і проаналізувати

особливості показників при кожному генотипі за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 (табл. 5.1.3).

Аналізуючи показники, наведені у табл. 5.1.3, особливу увагу слід звернути на ті, що мали достовірну міжгрупову різницю. Ступінь СпАТ у когорті хворих з ГКС без ЦД незалежно від генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 достовірно відрізнявся від КГ та між підгрупами. Серед пацієнтів з ГКС та ЦД відмічено аналогічне, проте більш інтенсивне зростання показника ступеня СпАТ при появі С-алелі. Щодо швидкості СпАТ, то прискорення агрегаційного процесу в 1,7 разів спостерігалось лише у підгрупі хворих з С/С генотипом відносно нативного Т/Т генотипу ($p < 0,05$). Наявність ЦД достовірно вплинула на СРА лише у підгрупі з Т/Т поліморфізмом ($p < 0,05$).

Таблиця 5.1.3

Показники тромбоцитарного гемостазу у обстежених I та II груп
(Me [25; 75])

	T1565C поліморфізм гена ITGB3			Контроль	P
	T/T	T/C	C/C		
Ступінь СпАТ, %:					
без ЦД	1,70 [1,24; 2,47]***	2,49 [2,45; 2,92]***	4,39 [3,99; 4,7]***	0,88 [0,5; 1,1]	$p_{1-2} < 0,01$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,05$
з ЦД	3,43 [2,47; 4,31]***	5,87 [5,83; 6,77]***	6,11 [6,04; 6,64]***		$p_{1-2} < 0,001$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} > 0,05$
P	<0,001	<0,05	>0,05		
Швидкість СпАТ, %/хв					
без ЦД	2,14 [1,54; 2,91]	2,91 [1,43; 2,91]	3,07 [2,08; 3,56]	1,64 [1,3; 2,8]	$p_{1-2,1-3,2-3} > 0,05$
з ЦД	2,53 [2,1; 3,43]	5,15 [2,34; 5,26]	4,22 [4,04; 8,19]		$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} < 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$
P	>0,05	>0,05	>0,05		
Середній розмір агрегатів					
без ЦД	1,44 [1,11; 2,48]**	1,3 [0,94; 2,45]	1,72 [0,9; 2,5]	1 [0,9; 1,1]	$p_{1-2,1-3,2-3} > 0,05$
з ЦД	1,14 [0,87; 1,35]**	0,95 [0,93; 1,3]	0,94 [0,87; 3,21]		$p_{1-2,1-3,2-3} > 0,05$
P	<0,05	>0,05	>0,05		

Продовження табл. 5.1.3

	Т/Т	Т/С	С/С	Контроль	Р
Ступінь АК-агрегації, %					
без ЦД	18,46 [12,14; 21,65]***	19,8 [11,4; 30,1]*	25,46 [18,0; 31,31]*	36,4 [32,0; 42,6]	$p_{1-2,1-3,2-3} > 0,05$
з ЦД	24,38 [20,8; 32,9]***	23,21 [21,8; 29,81]*	26,25 [23,2; 34,2]*		$p_{1-2,1-3,2-3} > 0,05$
Р	<0,01	>0,05	>0,05		
Швидкість АК-агрегації, %/хв					
без ЦД	16,35 [9,59; 24,3]	19,4 [11,56; 29,4]*	25,87 [18,63; 77,9]	41,9 [24,1; 56,0]	$p_{1-2,1-3,2-3} > 0,05$
з ЦД	16,75 [12,68; 24,3]	14,3 [12,3; 26,01]*	24,02 [6,54; 49,2]		$p_{1-2,1-3,2-3} > 0,05$
Р	>0,05	>0,05	>0,05		
Ступінь АДФ-агрегації, %					
без ЦД	21,3 [11,4; 33,2]***	46,8 [46,4; 49,3]	58,9 [55,6; 67,15]*	43,5 [36,5; 52,6]	$p_{1-2} < 0,01$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,05$
з ЦД	42,14 [37,2; 51,5]***	67,8 [60,2; 80,4]	86,4 [76,4; 92,9]*		$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} > 0,05$
Р	<0,001	>0,05	>0,05		
Швидкість АДФ-агрегації, %/хв					
без ЦД	11,30 [10,1; 47,9]**	40,28 [39,4; 44,3]	88,1 [87,45; 91,9]***	48,9 [44,4; 73,5]	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{1-3} < 0,001$ $p_{2-3} > 0,05$
з ЦД	33,4 [14,18; 64,2]**	88,1 [81,1; 88,1]	113,0 [101,0; 131,0]***	48,9 [44,4; 73,5]	$p_{1-2} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,01$ $p_{2-3} < 0,05$
Р	>0,05	>0,05	<0,05		

Примітка. p_{1-2} , p_{1-3} , p_{2-3} - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, **, *** – вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$

Ступінь АК-індукованої агрегації зазнав аналогічних змін, що і СРА – лише у підгрупі Т/Т виявлена достовірна різниця показників при наявності ЦД ($p < 0,01$). Швидкість АК-агрегації не відобразила залежності від коморбідного перебігу ГКС. Показник ступеня АДФ-індукованої агрегації зазнав найбільшої різниці, однак тільки у підгрупі Т/Т ($p < 0,001$), аналізуючи інші поліморфізми гена ITGB3 – достовірних змін не виявлено. Показники швидкості АДФ-агрегації у групах з та без ЦД підтримували зміни, характерні для загальної групи хворих на ГКС. Достовірної зміни зазнала

лише підгрупа з С/С поліморфізмом – саме тут виявлений достовірний вплив наявності ЦД на показник швидкості агрегації.

Отже, для кожної групи хворих, як з супутнім ЦД, так і без нього характерні загальні тенденції змін: зростання показників при появі С-алелі. Достовірний вплив ЦД в основному мав на показник ступеня СпАТ, та на ступінь АК- та АДФ-індукованої агрегації, проте тільки у підгрупах з Т/Т поліморфізмом гену ITGB3.

Дослідження функціональної активності тромбоцитів у хворих з ХКС дозволило виявити, що показники ступеня СпАТ достовірно відрізнялися від КГ у всіх підгрупах обстежених хворих, тобто аналогічно до змін, відмічених у пацієнтів з ГКС (табл. 5.1.4).

Таблиця 5.1.4

Показники тромбоцитарного гемостазу у обстежених з хронічним коронарним синдромом (Me [25; 75])

Показник	T1565C поліморфізм гену ITGB3			Контроль	P
	Т/Т	Т/С	С/С		
Ступінь СпАТ, %;	1,11 [0,84; 1,44]*	1,59 [1,54; 1,87]**	2,18 [2,04; 2,31]*	0,88 [0,5; 1,1]	p ₁₋₂ <0,05 p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ >0,05
Швидкість СпАТ, %/min.	2,09 [1,3; 2,9]	2,91 [2,5; 2,9]	2,13 [1,64; 2,6]	1,64 [1,3; 2,8]	p _{1-2, 1-3, 2-3} >0,05
СРА	1,01 [0,84; 1,16]	0,78 [0,74; 0,84]	1,53 [1,01; 2,04]	1 [0,9; 1,1]	p _{1-2, 1-3, 2-3} >0,05
АК-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %;	33,2 [24,2; 41,7]	36,2 [36,2; 36,5]	40,52 [38,9; 42,2]	36,4 [32,0; 42,6]	p _{1-2, 1-3, 2-3} >0,05
Швидкість, %/min.	44,13 [34,1; 52,1]	62,3 [52,1; 62,9]	99,52 [70,1; 129]	41,9 [24,1; 56,0]	p ₁₋₂ <0,01 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ >0,05
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %;	33,6 [26,1; 43,2]*	54,8 [49,3; 60,2]	81,4 [76,4; 86,4]*	43,5 [36,5; 52,6]	p ₁₋₂ <0,01 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ >0,05
Швидкість, %/min.	31,3 [12,7; 44,3]*	86,8 [78,6; 101]	107 [101; 113]*	48,9 [44,4; 73,5]	p ₁₋₂ <0,01 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ >0,05

Примітка. p_{1-2, 1-3, 2-3} - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, **, *** – вірогідність різниці відносно КГ p<0,05, p<0,01, p<0,001.

Найвищий показник ступеня СпАТ був також зафіксований у підгрупі С/С – 2,18 [2,04; 2,31], що у 2,5 разів перевищувало контрольне значення ($p < 0,05$). І хоча міжгрупове порівняння не виявило значущої різниці, схильність до посилення СпАТ чітко простежувалась у хворих із наявним С-алелем. При цьому подібних змін з боку швидкості СпАТ не спостерігалось.

Встановлено, що показник ступеня АК-індукованої агрегації тромбоцитів суттєво між обстеженими підгрупами не відрізнявся, однак мав схильність до збільшення у підгрупі хворих з С/С генотипом на 21% у порівнянні з підгрупою Т/Т ($p > 0,05$) та на 11,9% - у порівнянні з підгрупою Т/С ($p > 0,05$). При співставленні показників ступеню агрегації у підгрупах з КГ виявлена відсутність достовірної різниці ($p > 0,05$). Швидкість АК-індукованої агрегації у підгрупі з мутацією С/С була в 2,7 разів вищою, ніж у підгрупі Т/Т ($p < 0,05$) та мала тенденцію до перевищення на 59,7% у підгрупі Т/С ($p > 0,05$).

Аналізуючи показники ступеню АДФ-індукованої агрегації у підгрупах, відмічено, що найбільший показник був у підгрупі С/С – в 1,7 разів вище за КГ ($p < 0,05$). Виявлено, що носійство С-алелі спричиняє зростання АДФ-агрегації відносно Т/Т генотипу на 63,1% у підгрупі Т/С ($p < 0,01$) та значне збільшення у 2,4 рази у підгрупі С/С ($p < 0,05$). Шанс зустріти високий ступінь агрегації при наявності С-алелі був у 24 рази достовірно вищим, маючи високу чутливість (87,5%) та специфічність (77,4%) (ВШ=23,977; 95% ДІ: 2,672 - 114,097; $p = 0,002$). Швидкість АДФ-індукованої агрегації мала аналогічні тенденції по відношенню до ступеню. Так, показник швидкості у підгрупах з мутованим С-алелем перевищував значення підгрупи Т/Т, відповідно, в 2,8 разів у підгрупі Т/С ($p < 0,001$) та в 3,4 рази – у підгрупі С/С ($p < 0,05$).

Як і у випадку з когортою хворих на ГКС, було вирішено оцінити вплив ЦД на показники агрегації тромбоцитів серед пацієнтів з ХКС в залежності від генотипів за Т1565С поліморфізмом гена ITGB3 (табл. 5.1.5). Слід

відмітити, що у когорті пацієнтів з поєднаним перебігом ХКС та ЦД не виявлено пацієнтів з гомозиготним носійством С-алелі, у той час у III групі їх кількість склала 2 пацієнти. Загальна тенденція змін показників агрегації тромбоцитів III та IV групи повторювала зміни, характерні для I та II групи

Зростання показника ступеню та швидкості СпАТ, АК- та АДФ-індукованої агрегації з появою мутованого С-алелі, проте при міжгруповому аналізі достовірної різниці зазнавали лише показники ступеню індукованої агрегації. Важливо, що показники ступеня АК- та АДФ-індукованої агрегації мали достовірну різницю між групами з ЦД та без тільки при генотипі Т/Т.

Таблиця 5.1.5

Показники тромбоцитарного гемостазу у обстежених III та IV груп
(Ме [25; 75])

	T1565C поліморфізм гена ITGB3			Контроль	P
	T/T	T/C	C/C		
Ступінь СпАТ, %:					
з ЦД	1,19 [0,77; 2,47]*	1,59 [1,45; 2,49]**	-	0,88 [0,5; 1,1]	p ₁₋₂ <0,01
без ЦД	1,11 [0,84; 1,24]*	1,71 [1,54; 1,87]*	2,18 [2,04; 2,31]*		p ₁₋₂ <0,05 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ >0,05
P	>0,05	>0,05			
Швидкість СпАТ, %/хв					
з ЦД	2,1 [1,3; 2,91]	2,91 [2,45; 2,91]	-	1,64 [1,3; 2,8]	p ₁₋₂ >0,05
без ЦД	1,91 [1,17; 2,87]	2,12 [1,32; 2,91]	2,13 [1,64; 2,62]		p _{1-2,1-3,2-3} >0,05
P	>0,05	>0,05			
Середній розмір агрегатів					
з ЦД	1,01 [0,87; 1,17]	0,84 [0,74; 1,19]	-	1 [0,9; 1,1]	p ₁₋₂ >0,05
без ЦД	0,95 [0,78; 1,16]	0,67 [0,55; 0,78]	1,53 [1,01; 2,04]		p _{1-2,1-3,2-3} >0,05
P	>0,05	>0,05			
Ступінь АК-агрегації, %					
з ЦД	41,65 [36,2; 51,8]	40,80 [33,99; 56,32]	-	36,4 [32,0; 42,6]	p ₁₋₂ >0,05
без ЦД	24,8 [21,4; 32,25]**	36,35 [36,2; 36,5]	40,52 [38,9; 42,14]	36,4 [32,0; 42,6]	p ₁₋₂ <0,05 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ >0,05
P	<0,001	>0,05			

Продовження табл. 5.1.5

Швидкість АК-агрегації, %/хв					
	Т/Т	Т/С	С/С	Контроль	Р
з ЦД	44,3 [37,18; 53,25]	64,8 [61,56; 79,59]	-	41,9 [24,1; 56,0]	p ₁₋₂ >0,05
без ЦД	40,27 [32,9; 49,2]	65,8 [64,8; 66,8]	99,52 [70,03; 129]		p ₁₋₂ <0,05 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ >0,05
Р	>0,05	>0,05			
Ступінь АДФ-агрегації, %					
з ЦД	37,2 [32,8; 44,6]*	76,4 [54,8; 80,4]*	-	43,5 [36,5; 52,6]	p ₁₋₂ <0,01
без ЦД	30,28 [19,01; 40,1]**	66,1 [66,1; 66,1]*	81,4 [76,4; 86,4]*		p ₁₋₂ <0,05 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ >0,05
Р	<0,05	>0,05			
Швидкість АДФ-агрегації, %/хв					
з ЦД	33,6 [14,2; 60,1]*	101 [81,1; 113]**	-	48,9 [44,4; 73,5]	p ₁₋₂ >0,05
без ЦД	22,79 [10,4; 39,4]***	82,7 [78,6; 86,8]*	94,55 [88,1; 101]*		p _{1-2,1-3,2-3} >0,05
Р	>0,05	>0,05			

Примітка. p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, **, *** – вірогідність різниці відносно КГ p<0,05, p<0,01, p<0,001.

Всі інші показники не продемонстрували достовірних змін в жодному генотипі за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, незалежно від наявності чи відсутності ЦД серед хворих на ХКС.

Оцінка взаємозалежності між показниками тромбоцитарного гемостазу та генотипів за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, що відображена у таблиці 5.1.6, у групі хворих на ГКС виявила достовірний позитивний кореляційний зв'язок середньої сили між ступенем СпАТ, ступенем та швидкістю АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів та мутацією алелі.

У той же час, при пошуку взаємозв'язку між досліджуваними показниками у групі хворих на ХКС було виявлено достовірну позитивну кореляцію між ступенем спонтанної агрегації тромбоцитів та мутацією

алелі, а також між швидкістю АК-індукованої агрегації, показниками АДФ-індукованої агрегації та поліморфізмом гена.

Таблиця 5.1.6

Оцінка кореляційних зв'язків між показниками тромбоцитарного гемостазу та T1565C поліморфізмом гена ITGB3

	ГКС (n=60)		ХКС (n=60)	
	ITGB3	P	ITGB3	P
Спонтанна агрегація тромбоцитів				
Ступінь, %;	0,534766	p<0,05	0,362285	p<0,05
Швидкість, %/min.	0,249234	p>0,05	0,134566	p>0,05
CPA	-0,042208	p>0,05	-0,049226	p>0,05
АК-індукована агрегація тромбоцитів				
Ступінь, %;	0,147514	p>0,05	0,104433	p>0,05
Швидкість, %/min.	0,154478	p>0,05	0,385296	p<0,05
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів				
Ступінь, %;	0,466312	p<0,05	0,442282	p<0,05
Швидкість, %/min.	0,449846	p<0,05	0,472420	p<0,05

Отже, результати аналізу тромбоцитарного гемостазу у хворих на ІХС та його зв'язки з T1565C поліморфізмом гена ITGB3 дозволило дійти висновків, що T1565C поліморфізм гена ITGB3 у хворих на гостру та хронічну ІХС не асоціюється із наявністю супутнього ЦД. Ступінь СПАТ має чітку залежність із генотипом T1565C поліморфізму гена ITGB3, при цьому наявність С-алелі супроводжується збільшенням агрегаційної здатності, максимальні значення якої спостерігаються у випадку гомозиготної С/С мутації. Для кожної когорти хворих, як з супутнім ЦД, так і без нього, характерні загальні тенденції змін: зростання показників ступеня та швидкості СПАТ при появі С-алелі. Достовірний вплив ЦД в основному мав на показник ступеня СПАТ, та, певним чином, на ступінь АК- та АДФ-індукованої агрегації, проте тільки у підгрупах з Т/Т генотипом за T1565C поліморфізмом гену ITGB3.

Аналіз показників плазмового гемостазу у пацієнтів з ГКС та поєднанням ГКС із ЦД також дозволив виявити певну залежність від

генотипів за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, яка відрізнялась у різних ланках гемокоагуляції (табл. 5.1.7).

Таблиця 5.1.7

Показники плазмового гемостазу у пацієнтів з гострим коронарним синдромом в залежності від T1565C поліморфізмом гена ITGB3
(Me [25; 75])

	T1565C поліморфізм гена ITGB3			Контроль	P
	T/T	T/C	C/C		
	1	2	3		
ПТЧ, с	10,3 [9,2; 11,1]***	9,05 [8,6; 10,6]***	8,6 [8,0; 8,9]***	13,5 [12,8; 14,6]	p ₁₋₂ >0,05 p ₁₋₃ <0,01 p ₂₋₃ >0,05
ТЧ, с	12,0 [9,1; 13,2]***	11,45 [10,5; 13,1]**	11,5 [8,6; 12,2]**	17,7 [13,7; 19,2]	p ₁₋₂ >0,05 p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ >0,05
АЧТЧ, с	23,9 [22,7; 26,2]***	24,05 [22,8; 25,3]***	20,8 [20,2; 30,2]*	29,8 [26,8; 33,2]	p ₁₋₂ >0,05 p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ >0,05
ФГ, г/л	3,98 [3,4; 4,3]***	4,06 [3,9; 4,9]***	4,32 [4,1; 6,0]***	2,9 [2,6; 3,3]	p ₁₋₂ >0,05 p ₁₋₃ <0,01 p ₂₋₃ >0,05
РФМК, г/лх10 ⁻²	10,0 [9,4; 14,8]***	12,75 [9,8; 17,1]***	10,6 [10,2; 18,2]***	4,0 [3,5; 4,5]	p ₁₋₂ >0,05 p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ >0,05
ПрС, нс	0,8 [0,66; 0,9]***	0,81 [0,68; 0,92]*	0,9 [0,44; 0,99]	1,05 [0,9; 1,2]	p ₁₋₂ >0,05 p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ >0,05
АТ III, %	77,0 [69,0; 81,0]**	72,5 [66,0; 81,0]**	70,0 [63,0; 72,0]***	90,0 [80,0; 110,0]	p ₁₋₂ >0,05 p ₁₋₃ <0,05 p ₂₋₃ >0,05
XIIa ЗФ, хв	15,9 [13,0; 20,0]***	15,5 [13,5; 22,6]***	14,3 [13,9; 24,6]***	8,0 [7,0; 11,0]	p ₁₋₂ >0,05 p ₁₋₃ >0,05 p ₂₋₃ >0,05

Примітка. p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, **, *** – вірогідність різниці відносно КГ p<0,05, p<0,01, p<0,001.

Так, показник ПТЧ був достовірно вкорочений у всіх підгрупах хворих відносно КГ, що свідчило про посилення активності згортання крові за зовнішнім шляхом при будь-якому генотипі за T1565C поліморфізмом гену ITGB3. Однак найвиразнішими ці зміни були у підгрупі з C/C генотипом, де

шанс зустріти низький показник ПТЧ був у 4 рази вищим (ВШ=4,105; 95% ДІ: 1,151 - 14,649, $p=0,012$), що супроводжувалось прискоренням згортання на 19,8% у порівнянні із підгрупою Т/Т ($p<0,01$).

Для показників, що відображають внутрішній шлях згортання крові як в цілому (АЧТЧ), так і заключні його етапи (ТЧ), було відмічено подібні тенденції змін: утворення згустку у тестах АЧТЧ та ТЧ відбувалось достовірно швидше, ніж у КГ, без суттєвої різниці у підгрупах з різними генотипами за T1565C поліморфізмом гену ITGB3. При цьому шанси зустріти низькі показники ТЧ майже однакові між поліморфізмами (ВШ=1,458; 95% ДІ: 0,271 - 7,848; $p=0,968$) (табл.5.1.8).

Таблиця 5.1.8

Значущість наявності факторів ризику у пацієнтів з ГКС (I та II група)

Фактор ризику	ВШ	95% ДІ	χ^2	p	Se	Sp	ϕ
ПТЧ <10 с	4,105	1,151 – 14,649	5,047	0,012	76,5	55,8	0,331
ТЧ <13,7 с	1,458	0,271 – 7,848	0,002	0,968	88,2	16,3	0,057
АЧТЧ <26,8 с	0,065	0,015 – 0,272	15,352	<0,001	17,6	23,3	0,544
ФГ >3,3 г/л	2,273	0,442 – 11,673	0,416	0,520	88,2	23,3	0,129
РФМК >4,5 г/л*10 ⁻²	0,395	0,023 – 6,687	0,016	0,899	94,4	23	0,084
ПрС <0,9 нс	0,433	0,131 – 1,433	1,145	0,285	58,8	23,3	0,179
АТШ <80 %	1,117	0,300 – 4,155	0,027	0,869	76,5	25,6	0,021
XIIa-3Ф >11 хв	0,395	0,023 – 6,687	0,016	0,899	94,4	23	0,084

Примітка. ВШ – відношення шансів, 95% ДІ – довірчий інтервал, χ^2 – критерій Хі-квадрат з поправкою Йетса, Se – чутливість, Sp – специфічність, ϕ - сила зв'язку між фактором ризику та наслідком

Хоча для показника АЧТЧ, який інтегрально характеризує весь внутрішній шлях згортання, простежувалась спрямованість до більш виразної активації у підгрупах з мутованим С-алелем, що сягала максимуму при його гомозиготному С/С варіанті, однак вказані зміни не набували статистичної значущості.

Слід зазначити, що при міжгруповому порівнянні показників вмісту ФГ, його найвищий рівень був знайденим нами саме в підгрупі з

гомозиготним мутованим С/С генотипом, при цьому він перевищував рівень аналогічного показника в підгрупі пацієнтів з Т/Т генотипом на 8,5% ($p < 0,01$) та мав тенденцію до збільшення відносно підгрупи Т/С на 6,4% ($p > 0,05$).

Вміст РФМК не залежав від генотипу за Т1565С поліморфізмом гена ITGB3 та в усіх підгрупах хворих суттєво перевищував контрольні значення: при Т/Т генотипі – в 2,5 рази, при Т/С генотипі – в 3,2 рази, при С/С генотипі – в 2,7 разів ($p < 0,001$ для всіх відмінностей), що могло бути відображенням активації заключних етапів тромбоутворення (а саме – процес утворення фібрину з ФГ) при ГКС. А враховуючи розподіл гранично високих показників РФМК серед обох генотипів, ВШ було майже однаковим серед підгруп (ВШ=0,395; 95% ДІ: 0,023 - 6,687; $p = 0,899$).

Аналіз активності основних компонентів власної антикоагулянтної системи організму – АТ III та ПрС – дозволив виявити наступні зміни (рис.5.1.2).

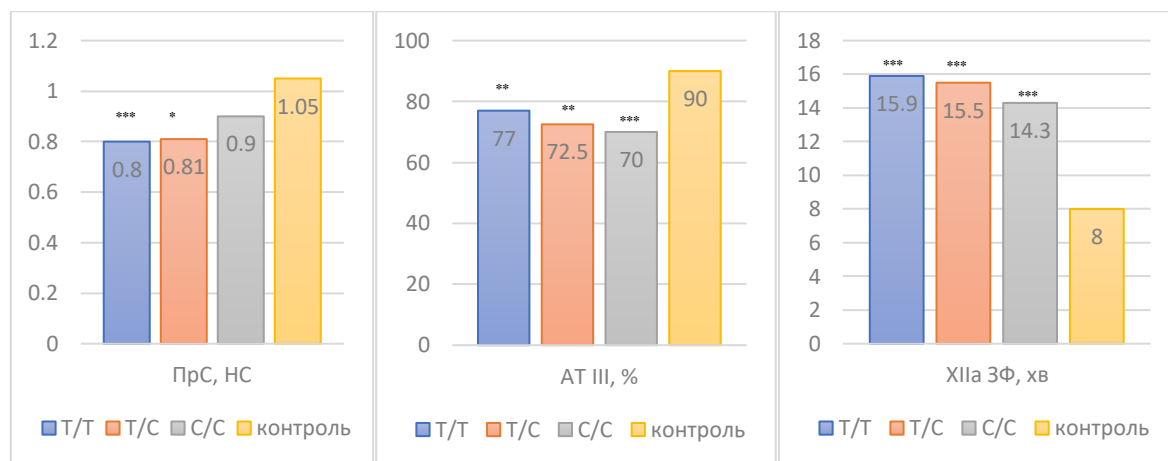


Рис. 5.1.2 Аналіз активності основних компонентів власної антикоагулянтної системи організму – АТ III, ПрС та XIIIa-3Ф (*, **, *** - вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$)

При загальному зниженні активності АТ III у всіх підгрупах хворих із ГКС, найбільше виснаження антитромбінової системи спостерігалось при

C/C генотипі, що на 9,1% було виразнішим за T/T генотип ($p < 0,05$). Натомість, показник вмісту ПрС у цій підгрупі практично не відрізнявся від контрольних значень, у той час як при T/T генотипі виявився нижчим на 31,3% ($p < 0,001$), а при T/C генотипі – 29,6% ($p < 0,05$). Однак при аналізі ВШ обидва показники мали однаковий розподіл між підгрупами з різними алелями.

Отже, гомозиготний мутований C/C генотип асоціювався із значним зниженням АТ ІІІ при збереженні активності системи ПрС, у той час як наявність нативної T-алелі (у вигляді гомо- та гетерозиготи) частіше супроводжувалась пригніченням обох складових антикоагулянтної системи відносно КГ.

Звертало на себе увагу, що фібринолітичний потенціал крові пацієнтів з ГКС був значно зниженим у всіх обстежуваних, причому виразність цих змін не залежала від генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3. Так, в підгрупі пацієнтів з C/C генотипом показник XIIa-3Ф виявився в 1,8 разів ($p < 0,001$) довшим за КГ, в якій він склав 8,0 [7,0; 11,0], в підгрупі з T/C генотипом – в 1,9 разів ($p < 0,001$), а при T/T генотипі – майже в 2 рази ($p < 0,001$). При міжгруповому аналізі не виявлено статистично значущої різниці, як за критерієм Манна-Уїтні, так і при аналізі відношення шансів (ВШ=0,395; 95% ДІ: 0,023 - 6,687; $p=0,899$).

Таким чином, нами було підтверджено пригнічення протизгортуючої активності крові при розвитку ГКС, в тому числі на тлі ЦД. При цьому ступінь змін її фібринолітичної ланки не залежав від генотипів за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, натомість антитромбінова активність виявилась найнижчою у підгрупі з C/C генотипом, що певною мірою компенсувалося збереженням потенціалу ПрС. Зв'язок вказаних змін із генотипами за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 описаний нами вперше.

Для оцінки можливого впливу супутнього ЦД на показники плазмового гемостазу було проведено аналіз I та II групи в залежності від генотипів за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 (рис.5.1.3).

Виявлено, що при наявності С-алелі зберігається загальна тенденція до пригнічення ПТЧ. Показник ПТЧ достовірно відрізнявся у кожній підгрупі, незалежно від поліморфізму гена, у порівнянні з КГ. Проте статистично значимих змін при наявності ЦД виявлено не було.

З появою С-алелі однаковою мірою зазнавав вкорочення і ТЧ, особливо у підгрупі хворих із поєднаним перебігом ГКС та ЦД, з достовірною різницею з КГ. Звертають на себе увагу зміни у когорті з Т/Т та Т/С поліморфізмом гена ITGB3: показник ТЧ у підгрупі з коморбідним перебігом захворювання був на 29,9% та на 19,9% меншим, ніж у підгрупі без ЦД ($p < 0,001$ та $p < 0,05$, відповідно).

Показник АЧТЧ був найнижчим у підгрупі з ЦД при гомозиготній С-мутації і на 23,1% відрізнявся від підгрупи без ЦД при тому ж поліморфізмі ($p > 0,05$) та достовірно відрізнявся від КГ ($p < 0,01$). У когорті пацієнтів з Т/Т поліморфізмом помічена статистично значима відмінність між показниками АЧТЧ у хворих з та без ЦД ($p < 0,01$), з більш вираженою активністю згортання саме у пацієнтів з поєднаною патологією.

Рівень ФГ також мав достовірну відмінність лише при поліморфізмі Т/Т ($p < 0,001$), проте показник зростав при появі С-алелі на 14,7% та на 23,2% при гетеро- і гомозиготній мутації, відповідно, але тільки у підгрупі без ЦД (рис. 5.1.3).

Зміни, характерні для активації прокоагулянтної системи, підтверджувалися показниками РФМК, кожен з яких достовірно відрізнявся від КГ та зростав на 18,3% при генотипі Т/С та на 26% - при С/С у підгрупі хворих з ЦД, і на 4,3% і 9% відповідно у підгрупі без ЦД. Наявність ЦД суттєво вплинула на рівень РФМК при генотипі Т/Т ($p < 0,001$) та Т/С ($p < 0,05$).

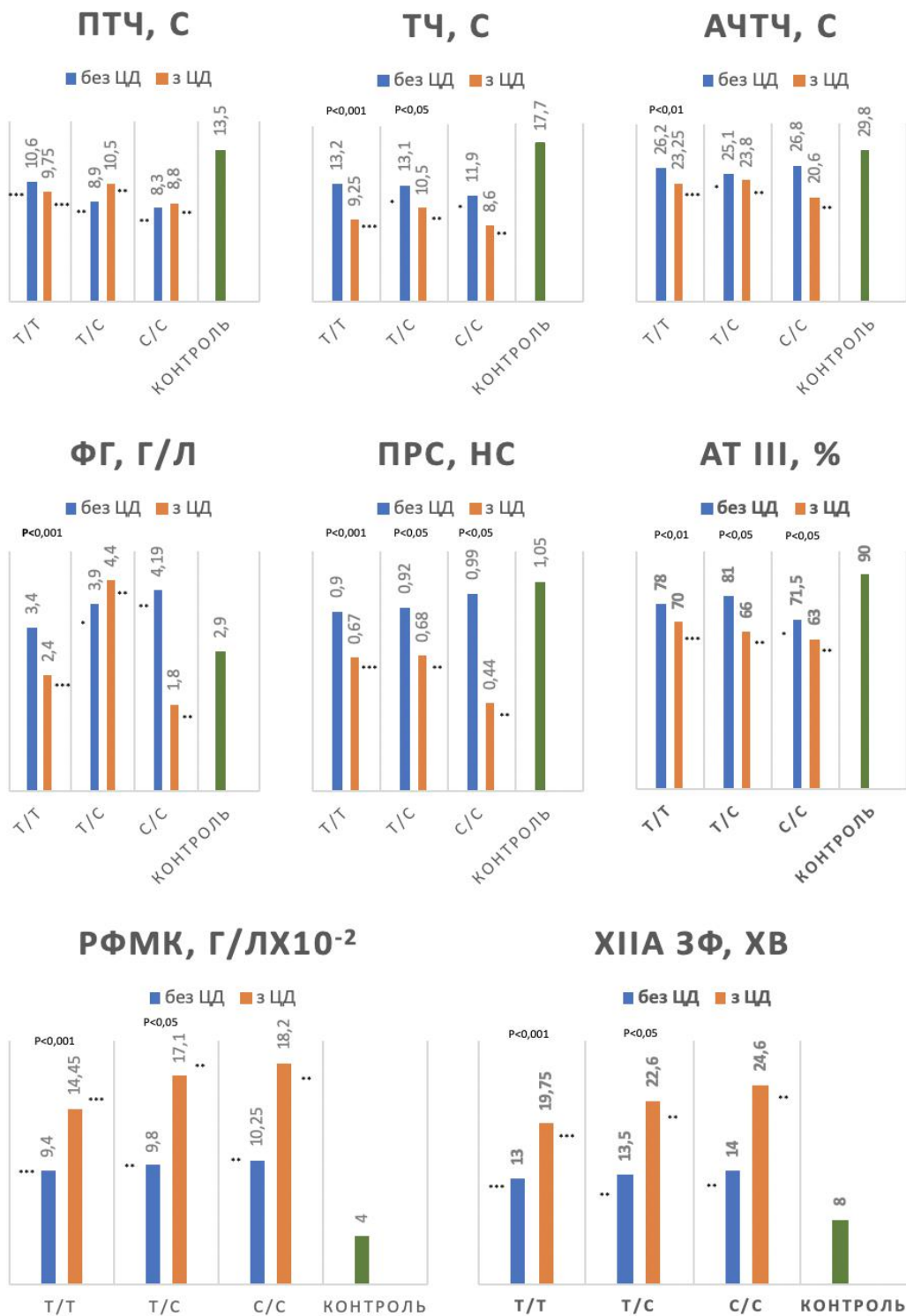


Рис. 5.1.3 Показники плазмового гемостазу у підгрупах хворих на ГКС в залежності від генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 (*, **, *** - вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$)

Показники антикоагулянтної та фібринолітичної системи продемонстрували суттєву залежність як від наявності ЦД, так і від появи С-алелі. Активність АТШ та ПрС була значно нижчою за контрольні показники в усіх генотипах при наявності ЦД. В свою чергу виявлено подовження розчинення фібринового згортку в обох підгрупах, але достовірно лише у генотипах Т/Т ($p < 0,001$) і Т/С ($p < 0,05$) та при наявності ЦД.

Проведення подібних досліджень плазмового гемостазу у групах пацієнтів з ХКС незалежно від поєднання з ЦД, дозволило зробити висновок, що загальна спрямованість гемостазіологічних зрушень та її асоціації з генотипами за Т1565С поліморфізмом гена ITGB3 практично не відрізнялась від груп з ГКС, що підвищує значимість виявлених зв'язків.

Так, показник АЧТЧ практично не відрізнявся між підгрупами ($p > 0,05$), проте у пацієнтів з генотипом С/С був найнижчим і становив 21,45 [21,1; 21,8]. Порівнюючи з КГ показник АЧТЧ у всіх підгрупах був достовірно нижчим. Аналогічних змін зазнав показник ТЧ: достовірних змін між підгрупами не виявлено, проте при порівнянні з КГ встановлено вкорочення показника на 27,7% у підгрупі Т/Т ($p < 0,001$), на 30,5% у підгрупі Т/С ($p < 0,01$) та на 30,8% у підгрупі С/С ($p < 0,05$).

Показник ПТЧ був майже однаково вкорочений у підгрупах з гетерота гомозиготною мутацією С-алеля ($p > 0,05$), що підтверджується відсутністю асоціації між низькими показниками ПТЧ та мутантним С-алелем (ВШ=5,294; 95% ДІ: 0,931-30,112; $p = 0,107$).

Зміни, які торкнулися показника РФМК у хворих на ХКС були віддзеркаленням змін у пацієнтів з ГКС, при цьому найвищий показник був також виявлений у підгрупі з Т/С генотипом та становив 9,8 [8,6; 10,0]. При порівнянні з даними обстежених КГ, показник РФМК був збільшений в 2,3, в 2,5 та в 2,2 рази, відповідно, у пацієнтів з Т/Т, Т/С та С/С генотипом ($p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,05$, відповідно). При міжгруповому порівнянні не

знайдено достовірної різниці між підгрупами, враховуючи те, що шанс зустріти високі показники РФМК був майже однаковий (ВШ=0,135; 95% ДІ: 0,008-2,403; $p=0,613$) (табл. 5.1.9).

Таблиця 5.1.9

Показники плазмового гемостазу у пацієнтів з хронічним коронарним синдромом в залежності від генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 (Me [25; 75])

Показник	T1565C поліморфізм гена ITGB3			Контроль	P
	T/T	T/C	C/C		
ПТЧ, с	10,6 [9,8; 12,6]***	9,8 [9,1; 10,3]**	9,8 [9,8; 9,8]*	13,5 [12,8; 14,6]	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}<0,01$ $p_{2-3}>0,05$
ТЧ, с	12,8 [11,5; 14,1]***	12,3 [10,9;12,6]**	12,25 [11,9; 12,6]	17,7 [13,7; 19,2]	$p_{1-2, 1-3, 2-3}>0,05$
АЧТЧ, с	24,1 [22,8; 27,1]***	24,5 [21,9; 24,6]**	21,45 [21,1; 21,8]*	29,8 [26,8; 33,2]	$p_{1-2, 1-3, 2-3}>0,05$
ФГ, г/л	3,7 [3,3; 4,0]***	4,1 [4,0; 4,7]**	4,65 [4,2; 5,1]*	2,9 [2,6; 3,3]	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}<0,01$ $p_{2-3}>0,05$
РФМК, г/лх 10^{-2}	9,0 [6,2; 10,5]***	9,8 [8,6; 10,0]**	8,85 [8,8; 8,9]*	4,0 [3,5; 4,5]	$p_{1-2, 1-3, 2-3}>0,05$
ПрС, нс	0,92 [0,78; 1,01]	0,87 [0,78; 0,96]	0,48 [0,41; 0,55]*	1,05 [0,9; 1,2]	$p_{1-2, 1-3, 2-3}>0,05$
АТ Ш, %	76,9 [67,4; 87,0]	78,7 [73,0; 79,0]*	73,0 [71,0; 75,0]**	90,0 [80,0; 110,0]	$p_{1-2}>0,05$ $p_{1-3}<0,05$ $p_{2-3}>0,05$
ХПа ЗФ, хв	14,0 [11,2; 16,1]***	13,1 [12,8; 13,8]**	13,35 [12,9; 13,8]*	8,0 [7,0; 11,0]	$p_{1-2, 1-3, 2-3}>0,05$

Примітка. $p_{1-2, 1-3, 2-3}$ - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, **, *** – вірогідність різниці відносно КГ $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$.

Вміст ФГ був також достовірно вищим за контрольні значення в усіх генотипах ($p<0,001$, $p<0,01$, $p<0,05$ відповідно). Можливим поясненням підвищеного вмісту ФГ у всіх підгрупах пацієнтів з ХКС як з, так і без ЦД, слід розглядати наявність хронічного запального процесу, що призводить до гіперкоагуляції. Виявлені у дослідженні зміни відбуваються не тільки за

рахунок ФГ, як маркера запального процесу, але і за рахунок активації зовнішньої ланки згортання крові, як продемонстровано вище.

При порівнянні антикоагулянтної активності плазми в групі пацієнтів з ХКС нами отримані наступні результати (рис. 5.1.4). Виявлено, що показники антикоагулянтної системи достовірно не відрізняються між собою у підгрупах з різними генотипами за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, хоча в підгрупі пацієнтів з С/С генотипом рівень АТШ виявився найнижчим. Під час порівняння показників у підгрупах з даними КГ спостерігається зниження рівня АТ Ш на 18,9% у пацієнтів з С/С генотипом ($p < 0,01$), на 12,6% у підгрупі з Т/С генотипом ($p < 0,05$) та на 14,6% у підгрупі з Т/Т генотипом ($p > 0,05$).

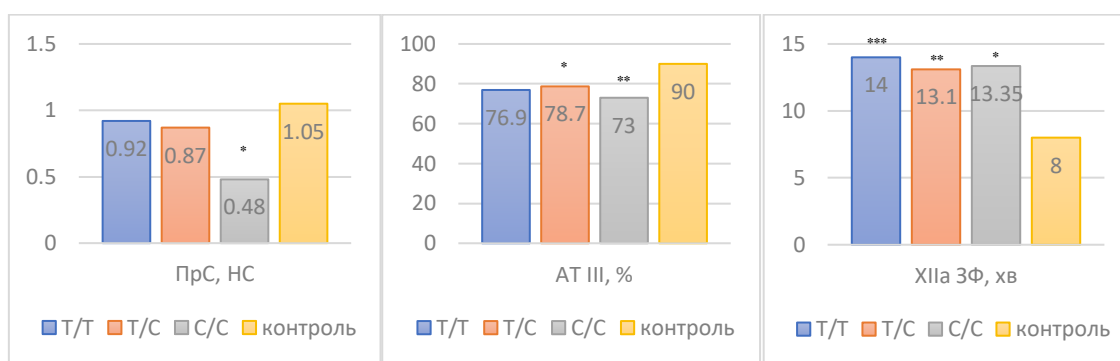


Рис. 5.1.4 Відмінність вмісту антикоагулянтних факторів та показників фібринолітичної активності крові серед хворих на ХКС (*, **, *** - вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$)

Окрім того, при аналізі виявлено зниження рівня ПрС на 54,3% у пацієнтів з гомозиготною С-алельною мутацією у порівнянні з КГ ($p < 0,05$), та тенденцією до зниження на 17,1% у підгрупі Т/С ($p > 0,05$) та на 12,4% у підгрупі Т/Т ($p > 0,05$). Тобто, спостерігалось пригнічення загального антикоагулянтного потенціалу, як за рахунок АТ Ш, так і ПрС, найбільш виразне у пацієнтів з С/С генотипом за T1565C поліморфізмом гена ITGB3.

Для аналізу впливу супутнього ЦД на стан плазмового гемостазу при генотипах за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 було оцінено результати

групи III та IV. Нагадаємо, що у когорті пацієнтів з поєднаним перебігом ХКС та ЦД не виявлено пацієнтів з гомозиготним носійством С-алелі (рис. 5.1.5).

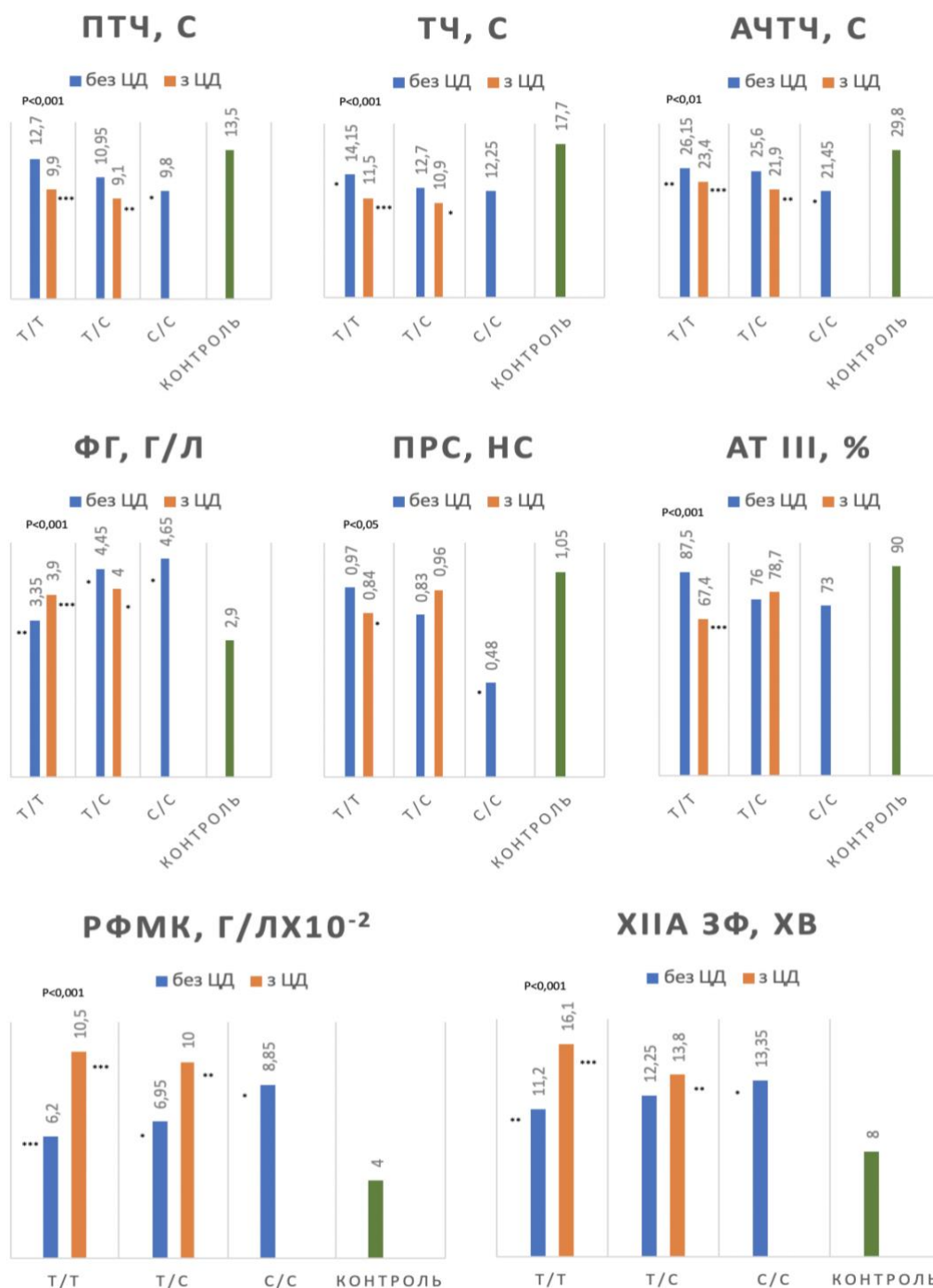


Рис. 5.1.5 Показники плазмовеого гемостазу у III та IV групах в залежності від поліморфізму гена ITGB3 (*, **, *** - вірогідність різниці відносно КГ p<0,05, p<0,01, p<0,001)

При оцінці коагуляційної ланки гемостазу було визначено вкорочення показників ПТЧ, ТЧ та АЧТЧ. Відмітимо тенденцію, яка була характерна і для хворих на ГКС та супутній ЦД – достовірні відмінності ПТЧ, ТЧ та АЧТЧ між підгрупами з та без ЦД виявлені лише при Т/Т генотипі за Т1565С поліморфізмом гена ITGB3. При цьому показник ПТЧ у підгрупі з ЦД був на 22% меншим, ніж у підгрупі без ЦД ($p < 0,001$), ТЧ - на 18,7% ($p < 0,001$), а АЧТЧ – на 10,5% ($p < 0,01$). Дані зміни вказують на більш значиму активацію системи прокоагуляції при наявності супутнього ЦД.

Рівень ФГ також неухильно зростав при появі С-алелі, проте достовірний вплив ЦД був відмічений лише у підгрупі Т/Т ($p < 0,001$).

Відповідних змін зазнав і рівень РФМК при поліморфізмі Т/Т, який був підвищеним на 69,4% в підгрупі з ЦД у порівнянні з підгрупою без ЦД ($p < 0,001$) та достовірно відрізнявся від КГ ($p < 0,001$). Тенденція до зростання зберігалася і при інших поліморфізмах, проте без достовірної різниці.

Аналізуючи отримані дані про антикоагулянту та фібринолітичну систему крові, можна зробити висновок про її пригнічення в обох досліджуваних групах. Однак, поєднання ХКС та ЦД призводило до більш суттєвого зниження активності як фібринолітичної, так і антикоагулянтної ланок гемостазу, проте з достовірною різницею лише у Т/Т генотипі. Так, показник ПрС у підгрупі з ЦД був на 13,4% меншим за групу порівняння ($p < 0,05$), показник АТШ – на 23% меншим ($p < 0,001$), а показник XIIa-3Ф був подовженим на 43,8% ($p < 0,001$).

Оцінка взаємозалежності між показниками плазмового гемостазу та Т1565С поліморфізмом гена ITGB3, що відображена у таблиці 5.1.10, в групі хворих на ГКС виявила достовірний позитивний кореляційний зв'язок між рівнем ФГ, показником РФМК та мутацією алелі, а достовірний негативний зв'язок – між показником ПТЧ та мутацією.

Таблиця 5.1.10

Оцінка кореляційних зв'язків між показниками плазмового гемостазу та T1565C поліморфізмом гена ITGB3

Показник	ГКС (n=60)		ХКС (n=60)	
	ITGB3	P	ITGB3	P
ПТЧ, с	-0,400092	p<0,05	-0,259866	p<0,05
ТЧ, с	-0,125133	p>0,05	-0,135622	p>0,05
АЧТЧ, с	-0,138261	p>0,05	-0,171111	p>0,05
ФГ, г/л	0,350711	p<0,05	0,305930	p<0,05
РФМК, г/лх10 ⁻²	0,264352	p<0,05	-0,018661	p>0,05
ПрС, НС	0,079370	p>0,05	0,054293	p>0,05
АТ Ш, %	-0,179735	p>0,05	-0,253389	p>0,05
ХШа ЗФ, хв	0,185681	p>0,05	-0,037974	p>0,05

При аналізі кореляційних зв'язків між показниками у когорті хворих на ХКС виявлено аналогічні до когорти ГКС зв'язки наявні між показниками ПТЧ, ФГ та T1565C поліморфізмом гену ITGB3.

Отже, наявність у когорті хворих на ГКС С-алелі за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, особливо гомозиготної форми, супроводжувалась прискоренням згортання крові у порівнянні з нативним генотипом, що підтверджувалось підвищеним рівнем ФГ. Проте ступінь змін фібринолітичної ланки не залежав від генотипів за T1565C поліморфізмом гена ITGB3. Загальна спрямованість гемостазіологічних зрушень у когорті хворих на ХКС та її асоціації з генотипами за T1565C поліморфізмами гена ITGB3 практично не відрізнялась від групи з ГКС, що підвищує значимість виявлених зв'язків.

5.2 G455A поліморфізм гена FGB та його зв'язок з активністю тромбоцитарного та плазмового гемостазу

В оглядах літератури, з метою систематизації наявних даних, гени були об'єднані в групи відповідно до процесів, в які залучені закодовані ними білки. В нашій роботі ми приділили увагу гену системи гемостазу – гену ФГ (FGB).

Дані епідеміологічних досліджень і мета-аналізів показують, що підвищені рівні ФГ в плазмі пов'язані з підвищеним ризиком ІХС та ІМ. Підвищення рівня ФГ в плазмі на 1 г/л пов'язано з більш, ніж дворазовим збільшенням ризику ІХС, інсульту і судинної смертності. Висока концентрація ФГ в плазмі крові вважається незалежним предиктором ризику ІМ. ФГ циркулює в плазмі у вигляді димеру. Алель FGB -455A діє як незалежний фактор ризику ІХС, ГКС, хвороби периферичних артерій і інсульту [9].

Вивчення розподілу генотипів за G455A поліморфізмом гена FGB у нашому дослідженні показало, що для всіх груп фактичний розподіл генотипів відповідає теоретично очікуваному при рівновазі Харді-Вайнберга ($p > 0,05$), що відображено у таблиці 5.2.1.

Таблиця 5.2.1

Розподіл G455A поліморфізму гена FGB серед хворих на ішемічну хворобу серця з та без цукрового діабету 2-го типу

Локуси, алелі, показники	I група	II група	III група	IV група
	ГКС без ЦД	ГКС з ЦД	ХКС без ЦД	ХКС з ЦД
G455A поліморфізм гена FGB				
ΣN	30	30	30	30
N_0				
455 G/G	21 (70%)	25 (83,3%)	22 (73,3%)	25 (83,3%)
455 G/A	7 (23,3%)	4 (13,3%)	8 (26,7%)	5 (16,7%)
455 A/A	2 (6,7%)	1 (3,3%)	0	0
455 G	0,817	0,9	0,867	0,917
455 A	0,183	0,1	0,133	0,083
N_E				
455 G/G	20.02	24.3	22.55	25.23
455 G/A	8.97	5.4	6.92	4.57
455 A/A	1.004	0.3	0.53	0.21
χ^2	1.4686	2.016	0.7119	0,2526
p	0,479	0,365	0,7	0,881

Примітка. ΣN – об'єм вибірки; N_0 – фактичний розподіл фенотипу; N_E – теоретичний розподіл фенотипу; χ^2 – показник співвідношення фактичного розподілу до теоретичного, виходячи із рівноваги Харді – Вайнберга; p – досягнутий рівень значимості для χ^2 .

У пацієнтів з ГКС нативний G/G генотип був присутній у 76,67% пацієнтів (n=46), генотип з гетерозиготною мутацією G/A – 18,33% (n=11), а з гомозиготною мутацією – A/A – 5% (n=3). У когорті хворих на ХКС виявлена особливість розподілу генотипів, а саме – не виявлено жодного пацієнта з гомозиготною мутацією A-алелі. Інші генотипи пацієнтів цієї когорти розподілилися наступним чином: G/G – 70% (n=47), G/A – 30% (n=13) (рис. 5.2.1). Враховуючи даний розподіл відмічено, що немає суттєвих шансів у превалюванні A-алелі в обох групах (ВШ =1,100; 95% ДІ: 0,467 – 2,594; $p>0,05$). Аналогічний результат отриманий і при вивченні потенційного зв'язку супутнього ЦД з поліморфізмом G/A-A/A (ВШ = 0,506; 95% ДІ: 0,210 – 1,221; $p>0,05$) [148].

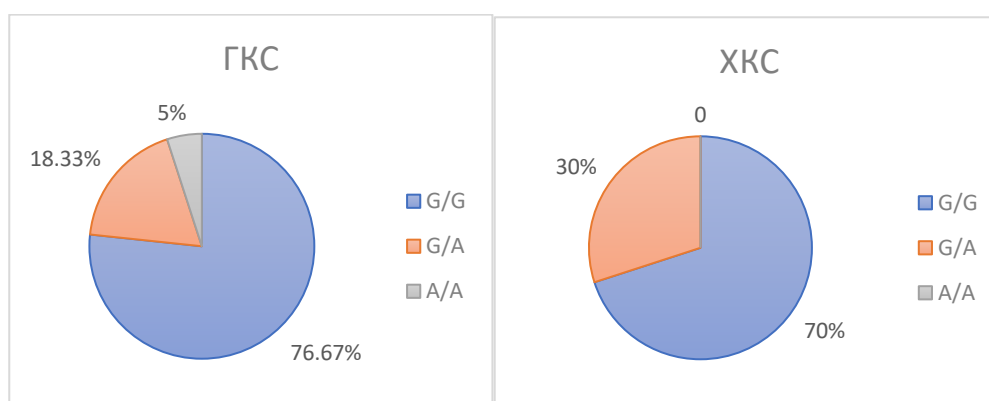


Рис. 5.2.1. Розподіл генотипів за G455A поліморфізмом гена FGB серед обстежених хворих

Для підтвердження ролі генотипів за G455A поліморфізмом гена FGB в активації процесів гемокоагуляції було вивчено агрегаційну здатність тромбоцитів у групі хворих на ГКС (табл. 5.2.2). Розподіл у підгрупі відбувся в залежності від генотипу за G455A поліморфізмом гена FGB. Зважаючи на те, що кількість пацієнтів з гомозиготною мутацією алелі A надто мала і в результаті статистичних підрахунків не дасть ефективних даних, нами було вирішено об'єднати хворих з G/A та A/A генотипами в одну підгрупу – підгрупу з наявним мутованим A-алелем (у вигляді гомо- та гетерозиготи).

Таблиця 5.2.2

Показники тромбоцитарного гемостазу в обстежених з гострий коронарним синдромом (Me [25; 75])

	G455A поліморфізм гена FGB			Контроль	P 1-2
	G/G	G/A	A/A		
Спонтанна агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	2,89 [2,17; 4,2]***	3,0 [1,64; 4,81]***	0,88 [0,5; 1,1]	p>0,05	
Швидкість, %/хв	2,29 [1,72; 3,22]	2,95 [2,45; 5,15]*	1,64 [1,3; 2,8]	p>0,05	
CPA	1,17 [0,94; 2,15]*	1,27 [0,95; 2,44]*	1 [0,9; 1,1]	p>0,05	
АК-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	23,9 [18,9; 31,4]**	15,35 [12,54; 23,21]***	36,4 [32,0; 42,6]	p>0,05	
Швидкість, %/хв	16,75 [11,0; 26,8]**	18,17 [9,59; 26,01]**	41,9 [24,1; 56,0]	p>0,05	
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	41,35 [32,8; 52,5]	35,75 [21,3; 56,4]	43,5 [36,5; 52,6]	p>0,05	
Швидкість, %/хв	34,48 [12,7; 88,1]	53,2 [10,4; 88,1]	48,9 [44,4; 73,5]	p>0,05	

Примітка. p₁₋₂ - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, **, *** – вірогідність різниці відносно КГ p<0,05, p<0,01, p<0,001.

Показник ступеня СПАТ достовірно відрізнявся від КГ в обох підгрупах обстежених хворих (p<0,001). У другій підгрупі був зафіксований найвищий показник, який в 3,4 рази перевищував контрольне значення (p<0,001). При міжгруповому порівнянні вірогідної різниці не виявлено, а розподіл гранично високих показників СПАТ серед підгруп був майже однаковим (ВШ=0,591; 95% ДІ: 0,060 – 7,049; p=0,780). Достовірна різниця швидкості СПАТ була відмічена лише у підгрупі з мутованим алелем, що на 79,8% перевищувала показник КГ (p<0,05). CPA у підгрупі з G/G генотипом був на 17% достовірно вищим за показник у КГ (p<0,05), а з G/A-A/A генотипами – на 27% (p<0,05).

Ступінь та швидкість АК-індукованої агрегації тромбоцитів не набували статистичної значущості між підгрупами (p>0,05), а гранично високі показники ступеня агрегації зустрічалися однаково рідко (у 7% і 13% випадків відповідно). У порівнянні з КГ показник ступеня у підгрупі G/G був на 34,3% (p<0,01), а у підгрупі G/A-A/A – на 57,8% більш пригніченим

($p < 0,001$). Швидкість АК-агрегації достовірно відрізнялась від контролю в обох підгрупах: G/G - в 2,5 рази, а G/A-A/A – в 2,3 рази була нижчою ($p < 0,01$).

При аналізі АДФ-індукованої агрегації було відмічено, що реакція тромбоцитів досліджуваних підгруп хворих на цей індуктор була майже однаковою за ступенем з КГ. Статистично значимої різниці ступеня та швидкості АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів не було виявлено ні між підгрупами з різними генотипами за G455A поліморфізмом гена FGB, ні у порівнянні з КГ ($p > 0,05$). Шанси зустріти високі показники АДФ-агрегації були майже однаковими при обох генотипах (ВШ=0,789; 95% ДІ: 0,228 – 2,730; $p > 0,05$).

При аналізі можливого впливу ЦД на показники тромбоцитарного гемостазу при різних генотипах за G455A поліморфізмом гена FGB були виявлені наступні зміни (табл. 5.2.3).

У пацієнтів обох підгруп як з ЦД, так і без нього, знайдено значне статистично значуще збільшення СпАТ в порівнянні до КГ. Менш виразно ступінь СпАТ змінювався в підгрупі без супутнього ЦД. Вплив ЦД на показник ступеня СпАТ був наявний в обох генотипах. Так, при генотипі G/G цей показник на 53,5% був вищим у підгрупі з коморбідним перебігом ($p < 0,001$), а при генотипі G/A-A/A – у 3,16 разів ($p < 0,05$).

Швидкість СпАТ достовірно відрізнялася при генотипі G/G і була на 24,4% вищою при наявності супутнього ЦД ($p < 0,05$). Аналогічним чином відреагував показник СРА, який виявився на 26,4% нижчим у підгрупі з ЦД при гомозиготному носійстві G-алелі ($p < 0,05$).

Ступінь АК-індукованої агрегації зазнав локальних, проте достовірних змін лише у підгрупі G/A-A/A при наявності ЦД ($p < 0,05$). Швидкість АК-агрегації не відобразила залежності від коморбідного перебігу ГКС.

Таблиця 5.2.3

Показники тромбоцитарного гемостазу у обстежених з гострим коронарним синдромом з та без цукрового діабету 2-го типу (Me [25; 75])

	G455A поліморфізм гена FGB			Контроль	P
	G/G	G/A	A/A		
Ступінь СпАТ, %:					
без ЦД	2,45 [1,55; 2,71]***	1,84 [1,44; 3,77]***		0,88 [0,5; 1,1]	p ₁₋₂ >0,05
з ЦД	3,76 [2,92; 5,12]***	5,83 [4,48; 6,04]**			p ₁₋₂ >0,05
P	<0,001	<0,05			
Швидкість СпАТ, %/хв					
без ЦД	2,09 [1,43; 2,91]	2,92 [2,45; 3,5]		1,64 [1,3; 2,8]	p ₁₋₂ >0,05
з ЦД	2,6 [2,1; 4,1]**	5,15 [2,99; 5,26]*			p ₁₋₂ >0,05
P	<0,05	>0,05			
Середній розмір агрегатів					
без ЦД	1,44 [1,01; 2,48]**	1,19 [1,10; 2,44]*		1 [0,9; 1,1]	p ₁₋₂ >0,05
з ЦД	1,06 [0,87; 1,3]	1,35 [0,95; 1,99]			p ₁₋₂ >0,05
P	<0,05	>0,05			
Ступінь АК-агрегації, %					
без ЦД	20,8 [18,46; 29,11]***	12,9 [12,14; 15,29]***		36,4 [32,0; 42,6]	p ₁₋₂ <0,05
з ЦД	24,56 [20,8; 32,9]*	23,21 [23,2; 29,8]*			p ₁₋₂ >0,05
P	>0,05	<0,05			
Швидкість АК-агрегації, %/хв					
без ЦД	18,0 [11,0; 40,5]*	16,8 [9,59; 20,08]*		41,9 [24,1; 56,0]	p ₁₋₂ >0,05
з ЦД	16,7 [12,68; 24,3]**	22,1 [12,3; 26,01]*			p ₁₋₂ >0,05
P	>0,05	>0,05			
Ступінь АДФ-агрегації, %					
без ЦД	32,8 [12,8; 46,4]*	28,3 [13,7; 40,1]*		43,5 [36,5; 52,6]	p ₁₋₂ >0,05
з ЦД	44,1 [40,1; 54,8]	67,8 [38,3; 80,4]			p ₁₋₂ >0,05
P	<0,01	>0,05			
Швидкість АДФ-агрегації, %/хв					
без ЦД	26,17 [10,4; 58,5]*	47,9 [10,4; 86,8]		48,9 [44,4; 73,5]	p ₁₋₂ >0,05
з ЦД	58,5 [20,44; 88,1]	81,1 [47,9; 88,1]			p ₁₋₂ >0,05
P	>0,05	>0,05			

Примітка. p₁₋₂, p₁₋₃, p₂₋₃ - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, **, *** – вірогідність різниці відносно КГ p<0,05, p<0,01, p<0,001.

Залежність від ЦД показника ступеня АДФ-індукованої агрегації була виявлена у генотипі G/G (p<0,01). Слід відмітити, що менш пригнічений показник ступеня АДФ-агрегації був саме при наявності супутнього ЦД – на 34,5% вищий за аналогічний показник у хворих без ЦД, що наводить на

думку про гіршу реакцію пацієнтів з коморбідною патологією на антитромбоцитарне лікування клопідогрелем.

Отже, основний вплив ЦД мав на показники СпАТ, СРА, ступеню АДФ-агрегації при генотипі G/G та ступеню АК-агрегації при генотипі G/A-A/A.

Вивчення активності тромбоцитів у хворих з ХКС дозволило виявити статистично значущі зміни лише у показника ступеня СпАТ у підгрупі G/G генотипу, який на 37,5% був вищим за контрольну групу ($p < 0,01$) (табл. 5.2.4).

При міжгруповому аналізі та при порівнянні з КГ достовірних змін показників СпАТ та СРА не виявлено ($p > 0,05$).

Таблиця 5.2.4

Показники тромбоцитарного гемостазу у обстежених з хронічним коронарним синдромом (Me [25; 75])

	G455A поліморфізм гена FGB			Контроль	P 1-2
	G/G	G/A	A/A		
Спонтанна агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	1,21 [0,84; 1,59]*	0,99 [0,81; 1,54]	0,88 [0,5; 1,1]		$p > 0,05$
Швидкість, %/хв	2,09 [1,24; 2,87]	2,56 [1,54; 3,02]	1,64 [1,3; 2,8]		$p > 0,05$
СРА	1,01 [0,78; 1,16]	0,92 [0,57; 1,19]	1 [0,9; 1,1]		$p > 0,05$
АК-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	33,65 [24,2; 41,65]	36,5 [25,4; 45,4]	36,4 [32,0; 42,6]		$p > 0,05$
Швидкість, %/хв	44,13 [34,13; 52,9]	49,54 [37,0; 60,24]	41,9 [24,1; 56,0]		$p > 0,05$
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	34,21 [26,21; 49,3]	37,2 [31,46; 43,2]	43,5 [36,5; 52,6]		$p > 0,05$
Швидкість, %/хв	33,2 [14,18; 81,1]	34,25 [14,18; 64,2]	48,9 [44,4; 73,5]		$p > 0,05$

Примітка. p_{1-2} - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; * – вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,01$.

Оцінюючи результати АК- та АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів у хворих на ХКС було відмічено, що реакція тромбоцитів досліджуваних підгруп пацієнтів на вказані індуктори була майже однаковою за ступенем та швидкістю з КГ. Також не спостерігалось статистично значущих відмінностей вказаних показників не від КГ, ні між собою.

Для виявлення впливу ЦД на показники агрегації тромбоцитів серед хворих на ХКС в залежності від генотипу за G455A поліморфізмом гена FGB був проведений аналіз результатів III та IV групи. Звертав на себе увагу факт відсутності гомозиготної мутації А-алелі в обох підгрупах як з ЦД, так і без нього (табл. 5.2.5).

Таблиця 5.2.5

Показники тромбоцитарного гемостазу у хворих III та IV групи
(Me [25; 75])

	G455A поліморфізм гена FGB			Контроль	P
	G/G	G/A	A/A		
Ступінь СпАТ, %:					
без ЦД	1,19 [0,96; 1,31]**	0,99 [0,74; 1,43]	0,88 [0,5; 1,1]		p ₁₋₂ >0,05
з ЦД	1,27 [0,84; 2,44]**	0,99 [0,81; 2,47]			p ₁₋₂ >0,05
P	>0,05	>0,05			
Швидкість СпАТ, %/хв					
без ЦД	1,9 [1,17; 2,62]	1,88 [1,41; 3,13]	1,64 [1,3; 2,8]		p ₁₋₂ >0,05
з ЦД	2,1 [1,3; 2,91]	2,67 [2,56; 2,91]	1,64 [1,3; 2,8]		p ₁₋₂ >0,05
P	>0,05	>0,05			
Середній розмір агрегатів					
без ЦД	0,92 [0,78; 1,06]	1,12 [0,76; 1,63]	1 [0,9; 1,1]		p ₁₋₂ >0,05
з ЦД	1,04 [0,87; 1,19]	0,88 [0,54; 0,91]			p ₁₋₂ <0,05
P	>0,05	<0,05			
Ступінь АК-агрегації, %					
без ЦД	29,8 [21,8; 33,5]**	29,3 [21,12; 36,08]	36,4 [32,0; 42,6]		p ₁₋₂ >0,05
з ЦД	40,8 [33,99; 51,8]	48,7 [45,4; 52,54]*	36,4 [32,0; 42,6]		p ₁₋₂ >0,05
P	<0,001	<0,01			
Швидкість АК-агрегації, %/хв					
без ЦД	22,79 [10,4; 44,3]	51,09 [36,9; 62,52]	41,9 [24,1; 56,0]		p ₁₋₂ >0,05
з ЦД	45,1 [40,5; 56,35]	49,54 [44,3; 57,0]			p ₁₋₂ >0,05
P	>0,05	>0,05			
Ступінь АДФ-агрегації, %					
без ЦД	27,66 [19,01; 49,3]*	41,65 [34,33; 56,45]	43,5 [36,5; 52,6]		p ₁₋₂ >0,05
з ЦД	42,3 [33,2; 49,3]	33,25 [25,1; 34,9]*			p ₁₋₂ >0,05
P	<0,05	>0,05			
Швидкість АДФ-агрегації, %/хв					
без ЦД	22,79 [10,4; 44,3]**	39,84 [26,23; 89,8]	48,9 [44,4; 73,5]		p ₁₋₂ >0,05
з ЦД	40,1 [24,9; 81,1]	14,18 [4,55; 25,12]*			p ₁₋₂ >0,05
P	>0,05	>0,05			

Примітка. p₁₋₂ - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, ** – вірогідність різниці відносно КГ p<0,05, p<0,01.

Ступінь СпАТ у підгрупі з поліморфізмом G/G достовірно відрізнявся від КГ, як в групі ізольованого перебігу ХКС, так і коморбідного ($p < 0,01$), без статистичної різниці між підгрупами та між генотипами за G455A поліморфізмом гена FGB. Вірогідних змін також не виявлено і для показника швидкості СпАТ ($p > 0,05$). Достовірно менший на 21,4% СРА виявлений у підгрупі з ЦД та мутованим А-алелем ($p < 0,05$). Загальна тенденція змін показників індукованої агрегації тромбоцитів по підгрупам з та без ЦД повторювала зміни, характерні для когорти ГКС.

Показник ступеня АК-індукованої агрегації зазнав вірогідних змін в обох поліморфізмах при наявності ЦД ($p < 0,001$ та $p < 0,01$, відповідно), і був більшим на 33,8% у підгрупі з G/A генотипом у порівнянні з КГ ($p < 0,05$), що може свідчити про недостатню відповідь на використання АСК у когорті хворих на ХКС з ЦД. Показник ступеня АДФ-індукованої агрегації продемонстрував достовірну різницю, навпаки, у підгрупі з G/G поліморфізмом ($p < 0,05$).

Для виявлення взаємозв'язку між показниками тромбоцитарного гемостазу та G455A поліморфізмом гена FGB було досліджено кореляційну залежність, результати якої відображені у таблиці 5.2.6.

Таблиця 5.2.6

Оцінка кореляційних зв'язків між показниками тромбоцитарного гемостазу та G455A поліморфізмом гена FGB

	ГКС		ХКС	
	FGB	P	FGB	P
Спонтанна агрегація тромбоцитів				
Ступінь, %;	-0,022756	$p > 0,05$	-0,116862	$p > 0,05$
Швидкість, %/min.	0,198009	$p > 0,05$	0,130889	$p > 0,05$
СРА	0,113841	$p > 0,05$	-0,037406	$p > 0,05$
АК-індукована агрегація тромбоцитів				
Ступінь, %;	-0,234398	$p > 0,05$	0,054921	$p > 0,05$
Швидкість, %/min.	-0,025037	$p > 0,05$	0,123834	$p > 0,05$
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів				
Ступінь, %;	-0,060314	$p > 0,05$	0,003505	$p > 0,05$
Швидкість, %/min.	0,043355	$p > 0,05$	-0,023371	$p > 0,05$

Аналізуючи отримані дані було встановлено, що немає жодних достовірних зв'язків між показниками тромбоцитарного гемостазу та генотипами як у групі хворих на ГКС, так і ХКС.

Досліджуючи ланки плазмового гемостазу у когорті хворих на ГКС були виявлені певні тенденції змін. У обох підгрупах хворих спостерігається достовірне вкорочення показника ПТЧ відносно контролю ($p < 0,01$) (табл. 5.2.7), що свідчило про високу активність зовнішнього шляху згортання крові, незалежно від G455A поліморфізму гена FGB.

Таблиця 5.2.7

Показники плазмового гемостазу у пацієнтів з гострим коронарним синдромом в залежності від генотипу за G455A поліморфізмом гену FGB
(Me [25; 75])

	G455A поліморфізм гена FGB			Контроль	P 1-2
	G/G	G/A	A/A		
ПТЧ, с	10,4 [8,9; 11,1]**	8,65 [8,0; 9,8]**		13,5 [12,8; 14,6]	$p < 0,01$
ТЧ, с	11,85 [9,4; 13,2]**	11,8 [9,9; 12,5]**		17,7 [13,7; 19,2]	$p > 0,05$
АЧТЧ, с	24,15 [22,9; 27,1]**	21,7 [20,9; 24,1]**		29,8 [26,8; 33,2]	$p < 0,05$
ФГ, г/л	4,02 [3,27; 4,26]**	4,05 [3,97; 5,26]**		2,9 [2,6; 3,3]	$p > 0,05$
РФМК, г/лх 10^{-2}	10,2 [9,4; 14,9]**	10,15 [9,8; 17,1]**		4,0 [3,5; 4,5]	$p > 0,05$
ПрС, НС	0,8 [0,66; 0,92]*	0,8 [0,59; 0,86]*		1,05 [0,9; 1,2]	$p > 0,05$
АТ Ш, %	77,0 [66,0; 81,0]**	73,0 [63,0; 75,0]**		90,0 [80,0; 110,0]	$p > 0,05$
XIIa 3Ф, хв	16,5 [12,9; 20,10]**	13,95 [13,5; 23,7]**		8,0 [7,0; 11,0]	$p > 0,05$

Примітка. p_{1-2} - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, ** – вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,01$, $p < 0,001$.

Найбільш вкороченим рівень ПТЧ був у підгрупі з генотипом G/A-A/A, що підтверджувалося прискоренням згортання на 16,8% у порівнянні із підгрупою G/G ($p < 0,01$). Шанс зустріти зменшені показники ПТЧ був у 7 разів достовірно вищим у підгрупі з мутованим А-алелем (ВШ=7,143; 95% ДІ: 1,434 – 35,572; $p=0,020$).

Також, статистично значущого вкорочення на 10,1% набув показник АЧТЧ у підгрупі з мутованим А-алелем у порівнянні з G/G генотипом ($p < 0,05$). При аналізі розподілу гранично низьких показників АЧТЧ

відмічено, що вони зустрічалися у 93% пацієнтів з мутованим алелем, що було у 4,5 рази більше, ніж у підгрупі з гомозиготним носійством G-алелі та мало високу чутливість (92,9%). В той же час показник АЧТЧ обох підгруп вірогідно відрізнявся від КГ ($p < 0,01$). Для показника ТЧ, що відображає заключний етап згортання крові, не виявлено залежності від генотипів за G455A поліморфізмом гена FGB ($p > 0,05$), що підтверджується ВШ=2,513; 95% ДІ: 0,283 – 22,285; $p = 0,681$). Проте відмічена достовірна різниця у порівнянні з КГ ($p < 0,01$ для обох випадків).

При міжгруповому порівнянні показника вмісту ФГ статистично значущої різниці не виявлено, однак він був достовірно вищий в обох підгрупах у порівнянні з КГ ($p < 0,01$). Вміст РФМК не залежав від генотипу, однак суттєво перевищував контрольні значення ($p < 0,01$ для обох випадків). Таким чином, нами було відмічено збільшення активності фібриноутворення у хворих на ГКС, проте незалежно від генотипу за G455A поліморфізмом гена FGB.

Досліджуючи показники власної антикоагулянтної системи організму виявлена відсутність вірогідної різниці між генотипами за G455A поліморфізмом гена FGB, проте вона супроводжувалася пригніченням АТШ та ПрС відносно КГ ($p < 0,001$ та $p < 0,01$ відповідно). Показник фібринолітичного потенціалу також не мав достовірних змін при міжгруповому аналізі, однак у підгрупі з генотипом G/G виявився в 2,1 рази ($p < 0,001$) довшим, а при G/A-A/A генотипі – в 1,7 разів довшим за КГ ($p < 0,001$).

Отже, нами було підтверджено посилення активності згортання крові за рахунок показників ПТЧ та АЧТЧ, що були достовірно вкороченими саме при мутованому генотипі. Але ступінь виразності змін антикоагулянтної та фібринолітичної ланки не залежав від генотипу за G455A поліморфізмом гена FGB.

При порівняльному аналізі групи I та II в залежності від генотипу за G455A поліморфізмом гена FGB (рис. 5.2.2) виявлено, що супутній ЦД мав достовірний вплив як на показники згортуючої, так і антикоагулянтної та фібринолітичної ланки крові.

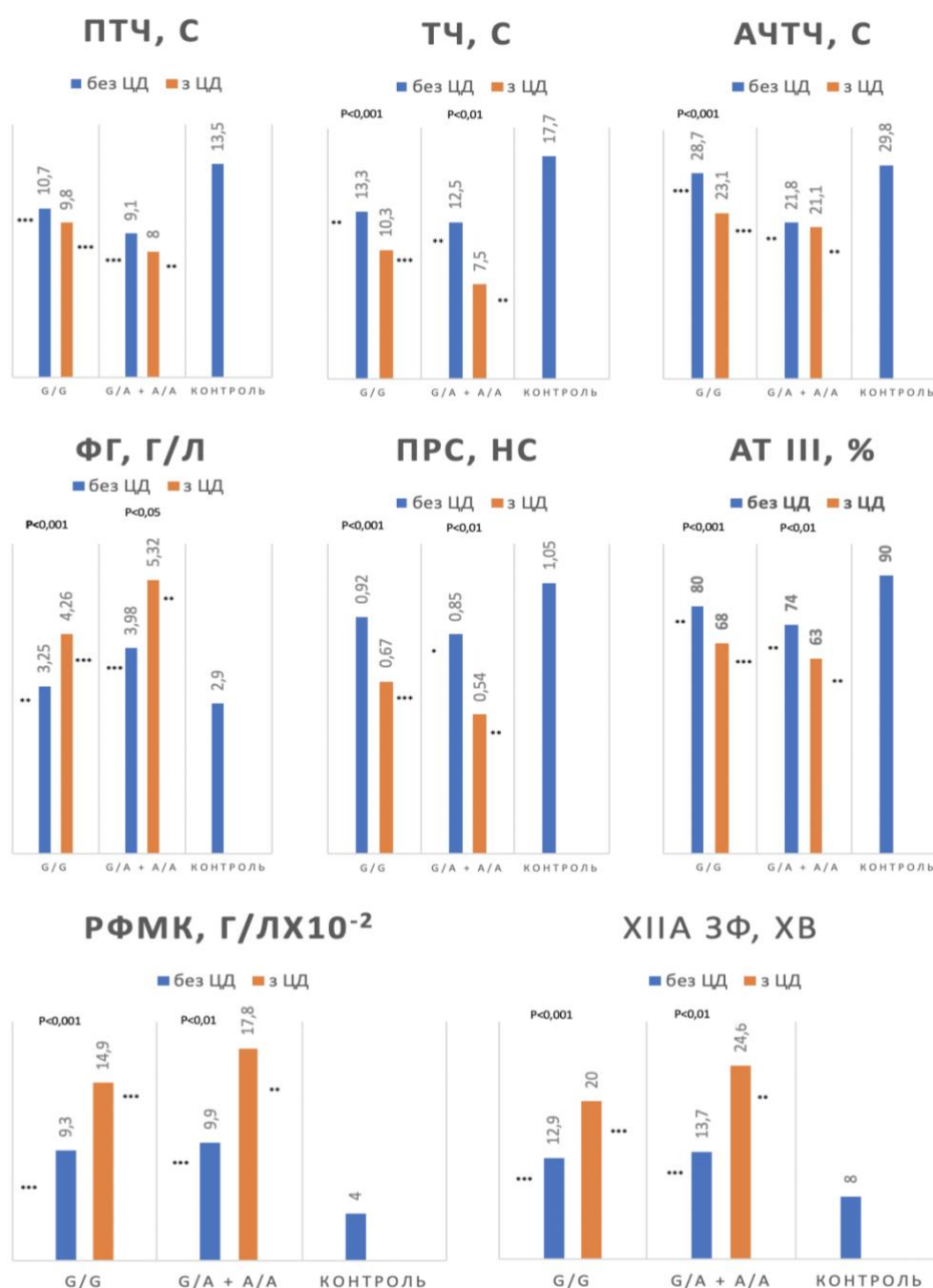


Рис. 5.2.2 Показники плазмового гемостазу у групі I та II в залежності від поліморфізму гена FGB.

Показник ПТЧ хоч і не зазнав статистичної різниці при міжгруповому аналізі, однак був вірогідно більш вкороченим у порівнянні з КГ. Тромбіновий час також був достовірно пригнічений по відношенню до контрольних значень, але мав і особливу залежність при наявності ЦД.

Так, при генотипі G/G ТЧ у підгрупі хворих з ЦД був на 22,6% більш вкорочений, ніж у підгрупі без ЦД ($p < 0,001$), а при генотипі G/A-A/A – на 40% ($p < 0,01$). Показник АЧТЧ при генотипі G/G також продемонстрував достовірне зменшення на 19,5% у порівнянні з підгрупою хворих з ізольованим перебігом ГКС ($p < 0,001$).

При міжгруповому порівнянні показників згортання крові було виявлено, що найвищий рівень ФГ був знайдений нами саме в підгрупах поєднаного перебігу ГКС та ЦД. При генотипі G/G за G455A поліморфізмом гена FGB рівень ФГ був на 31,1% вищим у підгрупі з ЦД ($p < 0,001$), а при генотипі G/A-A/A – на 33,7% ($p < 0,05$). Дана тенденція підтверджувалася зростанням рівня РФМК при аналогічних порівняннях. У групі хворих на ГКС та ЦД спостерігалось зростання РФМК на 60,2% при G/G генотипі ($p < 0,001$) та на 79,8% при мутації А-алелі ($p < 0,01$).

Показники АТШ, ПрС та ХІа-3Ф продемонстрували суттєву залежність як від наявності ЦД, так і від мутації А-алелі. Кожен показник достовірно відрізнявся від КГ в усіх генотипах, особливо при наявності ЦД.

В результаті міжгрупового аналізу виявлено достовірне пригнічення ПрС при наявності ЦД у G/G генотипі на 27,2% ($p < 0,001$) та у G/A-A/A генотипі – на 36,5% ($p < 0,01$). Ті ж зміни торкнулися АТШ: при G/G генотипі та поєднаному перебігу ГКС та ЦД спостерігалось пригнічення на 15% ($p < 0,001$), а при G/A-A/A – на 14,9% ($p < 0,01$). Крім того виявлене значне подовження ХІа-3Ф у підгрупах хворих з ЦД – на 55% ($p < 0,001$) у G/G генотипі та на 79,6% ($p < 0,01$) у G/A-A/A генотипі.

Дослідження показників плазмового гемостазу у групах хворих на ХКС, дозволило зробити висновок, що загальна тенденція змін практично не відрізнялась від груп з ГКС та підтверджувала асоціацію з генгруппами за G455A поліморфізмом гена FGB (табл. 5.2.8). Перш за все звертає на себе увагу достовірний різниця кожного показника плазмового гемостазу при обох генотипах у порівнянні з КГ, але зупинимось на тих, де наявність А-алелі мала суттєвий вплив. Показник ПТЧ був на 15,3% меншим у підгрупі з G/A генотипом ($p < 0,001$).

Таблиця 5.2.8

Показники плазмового гемостазу у пацієнтів з хронічним коронарним синдромом в залежності від генотипу за G455A поліморфізмом гена FGB (Me [25; 75])

	G455A поліморфізм гена FGB			Контроль	P 1-2
	G/G	G/A	A/A		
ПТЧ, с	11,1 [9,9; 13,1]**	9,4 [9,0; 10,1]***	13,5 [12,8; 14,6]	$p < 0,001$	
ТЧ, с	12,5 [11,6; 14,2]**	12,8 [10,0; 13,1]***	17,7 [13,7; 19,2]	$p > 0,05$	
АЧТЧ, с	24,1 [22,8; 27,1]***	23,2 [21,2; 25,1]***	29,8 [26,8; 33,2]	$p > 0,05$	
ФГ, г/л	3,5 [3,2; 3,9]***	4,2 [4,1; 4,9]***	2,9 [2,6; 3,3]	$p < 0,001$	
РФМК, г/лх 10^{-2}	9,1 [6,1; 10,1]***	8,7 [7,8; 11,9]***	4,0 [3,5; 4,5]	$p > 0,05$	
ПрС, НС	0,92 [0,78; 0,99]	0,75 [0,67; 0,99]*	1,05 [0,9; 1,2]	$p > 0,05$	
АТ Ш, %	75,0 [67,4; 86,0]***	79,0 [71,0; 88,0]*	90,0 [80,0; 110,0]	$p > 0,05$	
ХПа ЗФ, хв	13,1 [11,1; 15,8]***	13,8 [12,4; 17,6]***	8,0 [7,0; 11,0]	$p < 0,05$	

Примітка. p_{1-2} - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, **, *** – вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$.

У той же час вміст ФГ був достовірно вищим за контрольні значення в обох генотипах ($p < 0,001$ відповідно) і також мав вірогідну різницю між підгрупами – наявність А-алелі на 20% підвищувала рівень ФГ у пацієнтів з G/A поліморфізмом ($p < 0,001$), проте високі показники ФГ зустрічалися з однаковою частотою між обома генотипами (ВШ=1,086; 95% ДІ: 0,657 – 46,311; $p = 0,170$). Також статистично значущим виявилось подовження ХПа-ЗФ у підгрупі G/A генотипу – на 5,4% ($p < 0,05$).

Для аналізу впливу супутнього ЦД на стан плазмового гемостазу при генотипах за G455A поліморфізмом гена FGB було проведено вивчення результатів III та IV групи. Нагадаємо, що у когорті пацієнтів з поєднаним перебігом ХКС та ЦД не виявлено пацієнтів з гомозиготним носійством А-алелі (рис. 5.2.4).

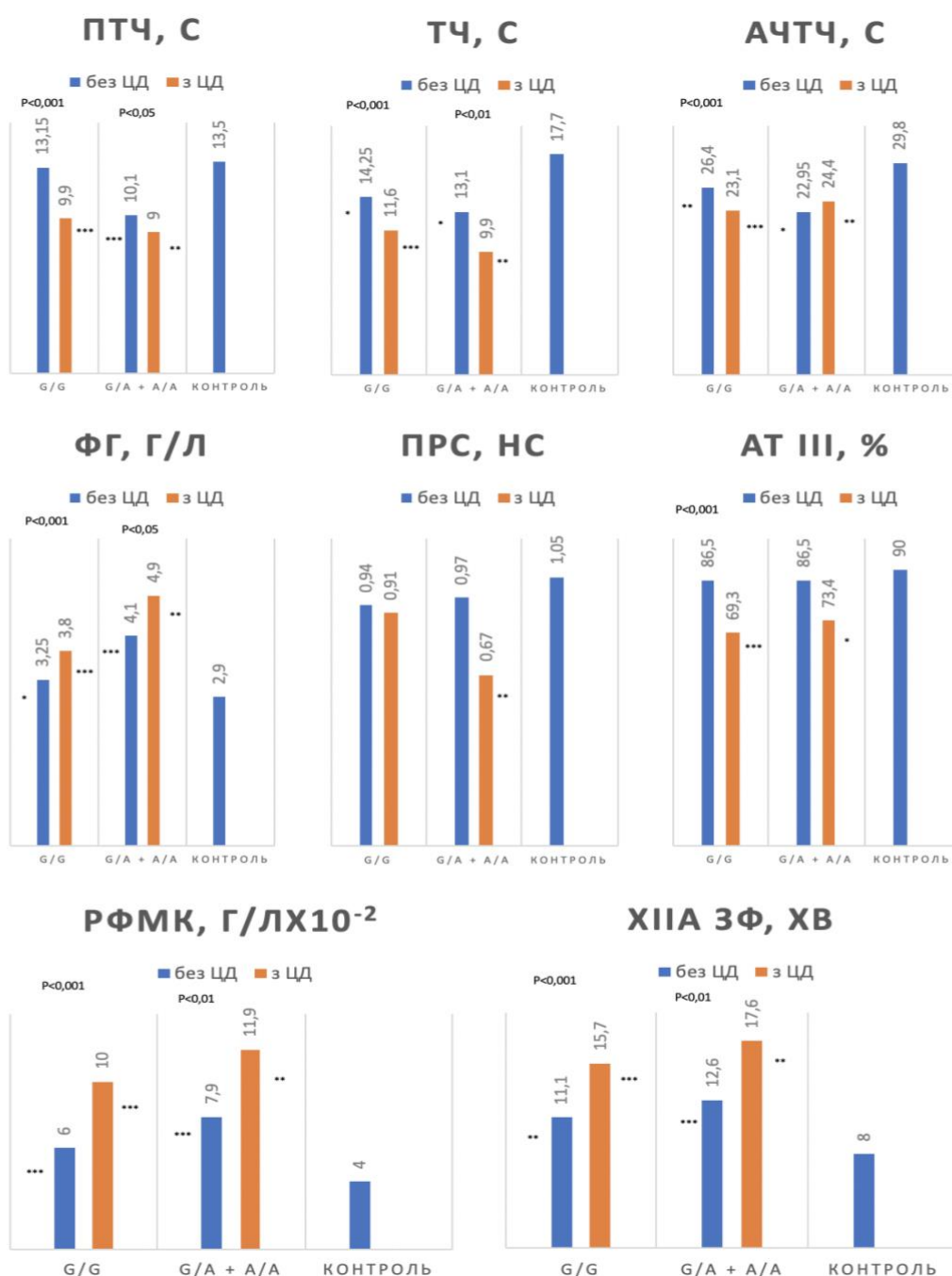


Рис. 5.2.4 Показники плазмового гемостазу у групах хворих на ХКС в залежності від генотипу за G455A поліморфізмом гена FGB

Наявність ЦД суттєво вплинула на вкорочення показників ПТЧ та ТЧ при обох варіантах генотипів за G455A поліморфізмом гена FGB. Так, при генотипі G/G показник ПТЧ у підгрупі з ЦД був вкороченим на 24,7%, ніж у підгрупі без ЦД ($p < 0,001$), а при генотипі G/A – на 10,9% ($p < 0,05$). Показник ТЧ продемонстрував аналогічні зміни: при генотипі G/G наявність ЦД на 19% зменшувала його ($p < 0,001$), а при генотипі G/A – на 24,4% ($p < 0,01$).

Показник АЧТЧ зазнав суттєвої різниці лише у підгрупі з G/G генотипом і був на 12,5% більш вкороченим при коморбідному перебігу ХКС ($p < 0,01$), що підтверджує більш значиму активацію системи прокоагуляції при наявності супутнього ЦД.

Рівень ФГ достовірно відрізнявся як від КГ, так і при міжгруповому аналізі, а саме, зростання рівня ФГ відмічено при наявності ЦД в обох генотипах за G455A поліморфізмом гена FGB: при G/G – на 16,9% ($p < 0,001$), а при G/A – на 19,5% ($p < 0,05$). Відповідних змін зазнав і рівень РФМК при обох генотипах за G455A поліморфізмом гена FGB, який був підвищеним на 66,7% в підгрупі з ЦД у порівнянні з підгрупою без ЦД при G/G генотипі ($p < 0,001$) та достовірно відрізнявся на 50,6% при G/A генотипі ($p < 0,01$).

Показник ПрС не зазнав суттєвих змін при аналізі, а от показник АТШ мав статистично значущу різницю при G/G поліморфізмі – на 19,9% меншим при наявності супутнього ЦД ($p < 0,001$). Що стосується показника ХІа-3Ф, то він продемонстрував достовірний вплив коморбідної патології при обох генотипах та був подовженим на 41,4% у G/G генотипі ($p < 0,001$) та на 39,9% - при G/A ($p < 0,01$).

Оцінка впливу між показниками плазмового гемостазу та G455A поліморфізмом гена FGB, що відображена у таблиці 5.2.9, в групі хворих на ГКС виявила достовірний слабкий негативний кореляційний зв'язок між показником ПТЧ, АЧТЧ та мутацією.

Аналізуючи зміни аналогічних показників у когорті хворих на ХКС виявлений достовірний слабкий негативний зв'язок між показником ПТЧ та

мутацією гена FGB. А також, позитивний зв'язок середньої сили між рівнем ФГ та слабкий позитивний зв'язок показника XIIa-ЗФ з поліморфізмами гену FGB.

Таблиця 5.2.9

Оцінка кореляційних зв'язків між показниками плазмовеого гемостазу та G455A поліморфізмом гена FGB

Показник	ГКС		ХКС	
	FGB	P	FGB	P
ПТЧ, с	-0,418987	p<0,05	-0,489698	p<0,05
ТЧ, с	-0,137694	p>0,05	-0,192838	p>0,05
АЧТЧ, с	-0,319742	p<0,05	-0,146024	p>0,05
ФГ, г/л	0,200296	p>0,05	0,573317	p<0,05
РФМК, г/лх10 ⁻²	0,149092	p>0,05	0,150720	p>0,05
ПрС, НС	-0,135467	p>0,05	-0,188305	p>0,05
АТ III, %	-0,199310	p>0,05	0,113318	p>0,05
XIIa ЗФ, хв	0,127477	p>0,05	0,260540	p<0,05

Отже, результати аналізу тромбоцитарного гемостазу у хворих на ІХС та його зв'язки з генотипами за G455A поліморфізмом гена FGB дозволило дійти висновків, що генотипи у хворих на гостру та хронічну ІХС не асоціюється із наявністю супутнього ЦД. Проте супутній ЦД мав неоднорідний вплив на показники тромбоцитарного гемостазу обох груп хворих. Нами не було виявлено впливу наявності А-алелі за G455A поліморфізмом гена FGB на показники тромбоцитарного гемостазу, в зв'язку з відсутністю статистично значимих змін між досліджуваними підгрупами.

Наступні висновки торкнулися показників плазмовеого гемостазу при вивченні генотипів за G455A поліморфізмом гена FGB. У групі хворих на ГКС спостерігалось посилення активності згортання крові за зовнішнім шляхом при будь-якому генотипі за G455A поліморфізмом гена FGB, свідченням чого було вкорочення показника ПТЧ, а наявність супутнього ЦД суттєво вплинула на пригнічення показників антикоагулянтної та фібринолітичної системи крові. У когорті хворих на ХКС була підтверджена більш значима активація системи прокоагуляції при наявності супутнього ЦД

та звернула на себе увагу динаміка змін рівня ФГ при обох варіантах генотипів, особливо з мутованим А-алелем, що і підкреслює значення вивчення G455A поліморфізму гена FGB у цій популяції хворих.

5.3 G20210A поліморфізм гена FII та його зв'язок з активністю тромбоцитарного та плазмового гемостазу

Найважливішими системами, що забезпечують гемокоагуляцію, є функціональні системи плазмового (коагуляційного) і судинно-тромбоцитарного гемостазу, а обмежують їх надмірну активність система фібринолізу та природних протеаз (антикоагулянтів).

За останні десятиліття були отримані дані, що у пацієнтів як з гострими, так і з стабільними формами ІХС виявлено підвищений вміст маркерів активації згортуючої системи. Ген FII кодує амінокислотну послідовність білка протромбіну, а протромбін є одним з головних компонентів системи згортання крові. В результаті його ферментативного розщеплення утворюється тромбін. Дана реакція є першою стадією утворення кров'яного згустку.

Генетичний розподіл серед всієї когорти хворих виглядав наступним чином (табл.5.3.1). Дослідження розподілу генотипів за G20210A поліморфізмом гена FII показало, що для всіх груп фактичний розподіл генотипів відповідає теоретично очікуваному при рівновазі Харді-Вайнберга ($p > 0,05$).

Враховуючи те, що в деяких підгрупах не виявлено жодного носія А-алелі, що не дає змогу статистично обробити отримані результати, нами було прийнято рішення не розділяти пацієнтів на підгрупи з та без супутнього ЦД при наступному аналізі, а також об'єднати носіїв А-алелі в одну підгрупу.

Таблиця 5.3.1

Розподіл генотипів за G20210A поліморфізмом гена FII серед хворих на ішемічну хворобу серця з та без цукрового діабету 2-го типу

Локуси, алелі, показники	I група	II група	III група	IV група
	ГКС без ЦД	ГКС з ЦД	ХКС без ЦД	ХКС з ЦД
G20210A поліморфізм гена FII				
ΣN	30	30	30	30
N_0				
20210 G/G	28 (93,3%)	29 (96,7%)	29 (96,7%)	28 (93,3%)
20210 G/A	2 (6,7%)	0	1 (3,3%)	2 (6,7%)
20210 A/A	0	1 (3,3%)	0	0
20210 G	0,783	0,817	0,9	0,95
20210 A	0,217	0,183	0,1	0,05
N_E				
20210 G/G	28,05	28,05	28,99	28,05
20210 G/A	1,92	1,92	1,003	1,92
20210 A/A	0,03	0,03	0,009	0,03
χ^2	0,03	33,31	0,009	0,03
p	0,9834	0,518	0,9955	0,9834

Примітка. ΣN – об'єм вибірки; N_0 – фактичний розподіл фенотипу; N_E – теоретичний розподіл фенотипу; χ^2 – показник співвідношення фактичного розподілу до теоретичного, виходячи із рівноваги Харді – Вайнберга; p – досягнутий рівень значимості для χ^2 .

У когортах хворих як з ГКС, та і з ХКС нативний G/G генотип був присутній у 95% пацієнтів (n=57 в обох групах). Генотип G/A у першій когорті зустрічався у 2 пацієнтів – 3,3%, а з гомозиготною мутацією у цій же групі був лише 1 пацієнт – 1,7%. У когорті хворих з хронічним перебігом ІХС не виявлено жодного пацієнта з гомозиготною мутацією А-алелі, а ось з G/A мутацією – троє – 5% (рис. 5.3.1).

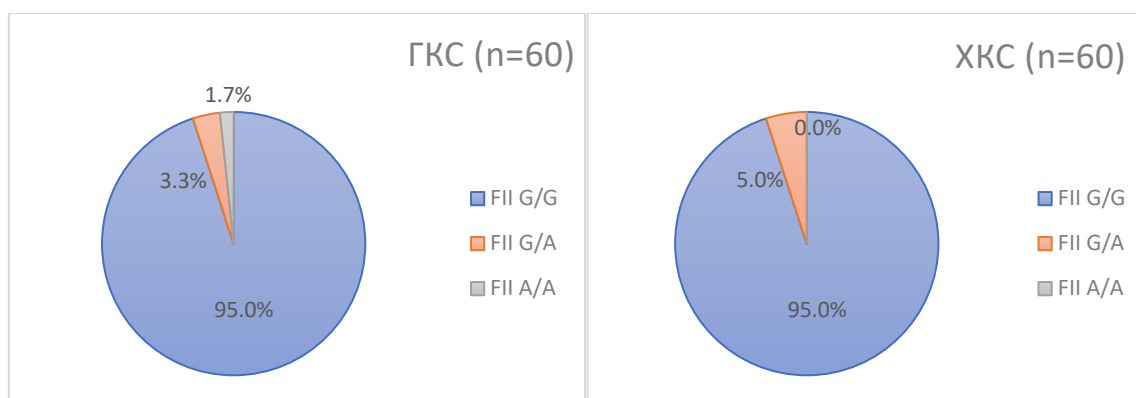


Рис. 5.3.1. Розподіл генотипів серед обстежених хворих

При оцінці можливого впливу поліморфізмів гена FII на агрегаційну здатність тромбоцитів у групі хворих на ГКС (табл. 5.3.2) було виявлено відсутність статистично значущої різниці між G/G та G/A-A/A генотипами.

Нашу увагу привернув лише показник ступеня СпАТ, який достовірно відрізнявся від КГ в обох підгрупах обстежених хворих ($p < 0,01$). У підгрупі з мутованим А-алелем був зафіксований найвищий показник СпАТ, який в 4,5 рази перевищував контрольне значення ($p < 0,01$). Однак, при міжгруповому аналізі виявлено, що не має жодного зв'язку між генотипами та ступенем СпАТ (ВШ=0,167; 95% ДІ: 0,013 – 2,123; $p = 0,620$).

Таблиця 5.3.2

Показники тромбоцитарного гемостазу в обстежених з гострим коронарним синдромом (Me [25; 75])

	G20210A поліморфізм гена FII			Контроль	P
	G/G	G/A	A/A		
Спонтанна агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	2,85 [2,04; 4,31]**	4,2 [2,13; 4,45]**	0,88 [0,5; 1,1]	$p > 0,05$	
Швидкість, %/хв	2,6 [1,88; 3,5]	2,45 [1,43; 3,22]	1,64 [1,3; 2,8]	$p > 0,05$	
CPA	1,19 [0,94; 2,44]	0,84 [0,78; 1,19]	1 [0,9; 1,1]	$p > 0,05$	
АК-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	22,5 [15,4; 30,1]	21,8 [19,8; 31,4]*	36,4 [32,0; 42,6]	$p > 0,05$	
Швидкість, %/хв	16,8 [10,4; 26,32]	12,3 [11,56; 40,5]	41,9 [24,1; 56,0]	$p > 0,05$	
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	40,1 [28,3; 53,6]	41,21 [25,1; 72,9]	43,5 [36,5; 52,6]	$p > 0,05$	
Швидкість, %/хв	39,4 [11,3; 88,1]	44,3 [14,18; 95,7]	48,9 [44,4; 73,5]	$p > 0,05$	

Примітка. p_{1-2} - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, ** – вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,05$, $p < 0,01$.

Показник ступеня АК-індукованої агрегації тромбоцитів достовірно відрізнявся від КГ також лише при генотипі G/A-A/A та був більш пригніченим на 40,1% ($p < 0,05$). Міжгруповий аналіз не продемонстрував суттєвих взаємозв'язків з генотипами (ВШ=2,833; 95% ДІ: 0,235 – 31,740; $p = 0,947$). Інші показники тромбоцитарного гемостазу не зазнали достовірних змін.

Аналіз активності тромбоцитарної ланки хворих на ХКС при обох генотипах за G20210A поліморфізмом гена FII продемонстрував відсутність достовірної різниці між показниками (табл. 5.3.3). Ті ж результати ми отримали при порівнянні з КГ ($p > 0,05$).

Серед показників СпАТ простежується тенденція до зростання як ступеню, так і швидкості при появі А-алелі.

Оцінюючи результати індукованої агрегації тромбоцитів у хворих на ХКС було відмічено, що реакція тромбоцитів на індуктори АК та АДФ при генотипі G/G була майже однаковою за ступенем та швидкістю з КГ.

Таблиця 5.3.3

Показники тромбоцитарного гемостазу у обстежених з хронічним коронарним синдромом (Me [25; 75])

	G20210A поліморфізм гена FII			Контроль	P
	G/G	G/A	A/A		
Спонтанна агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	1,19 [0,84; 1,55]	1,44 [0,81; 2,71]	0,88 [0,5; 1,1]		$p > 0,05$
Швидкість, %/хв	2,1 [1,32; 2,91]	2,56 [1,02; 3,19]	1,64 [1,3; 2,8]		$p > 0,05$
CPA	0,95 [0,78; 1,16]	1,16 [0,91; 2,54]	1 [0,9; 1,1]		$p > 0,05$
АК-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	33,99 [24,2; 41,4]	52,54 [29,8; 54,2]	36,4 [32,0; 42,6]		$p > 0,05$
Швидкість, %/хв	44,3 [34,3; 56,54]	49,54 [31,56; 56,35]	41,9 [24,1; 56,0]		$p > 0,05$
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	34,9 [29,1; 49,2]	46,8 [14,21; 54,8]	43,5 [36,5; 52,6]		$p > 0,05$
Швидкість, %/хв	33,6 [14,2; 78,6]	14,18 [10,44; 59,3]	48,9 [44,4; 73,5]		$p > 0,05$

Примітка. p_{1-2} - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах.

Проте, у пацієнтів з G/A-A/A генотипом спостерігалася тенденція до зростання ступеня індукованої агрегації, однак без статистичної вірогідності. Також ВШ виявити вищий ступінь агрегації відмічалися дещо частіше у групі мутованої алелі (ВШ = 2,750; 95% ДІ: 0,236 – 32,105; $p=0,812$ та ВШ = 4,706; 95% ДІ: 0,399 – 55,450; $p=0,484$, відповідно).

Оцінка кореляційного впливу G20210A поліморфізму гена FII на показники тромбоцитарного гемостазу відображена у таблиці 5.3.4.

Таблиця 5.3.4

Оцінка кореляційних зв'язків між показниками тромбоцитарного гемостазу та G20210A поліморфізму гена FII

Показник	ГКС		ХКС	
	FII	P	FII	P
Спонтанна агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	0,066240	$p>0,05$	0,075106	$p>0,05$
Швидкість, %/хв	-0,048585	$p>0,05$	0,053017	$p>0,05$
Середній розмір агрегатів	-0,198832	$p>0,05$	0,156880	$p>0,05$
АК-індукована агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	0,039747	$p>0,05$	0,161246	$p>0,05$
Швидкість, %/хв	-0,024294	$p>0,05$	0,006625	$p>0,05$
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	0,033127	$p>0,05$	0,033127	$p>0,05$
Швидкість, %/хв	0,064209	$p>0,05$	-0,097192	$p>0,05$

В отриманих результатах виявлено, що немає жодних достовірних зв'язків між показниками тромбоцитарного гемостазу та G20210A поліморфізмом гена FII як у групі хворих на ГКС, так і ХКС.

Показники плазмового гемостазу у групі хворих на ГКС з або без супутнього ЦД мали наступні зміни в залежності від G20210A поліморфізму гена FII (табл. 5.3.5). ПТЧ мав тенденцію до вкорочення в обох підгрупах, однак достовірно лише в підгрупі мутованого генотипу – на 40,7% відносно КГ ($p<0,01$). ТЧ також був вкорочений у підгрупі з генотипом G/A-A/A, що продемонстровано прискоренням згортання на 31,6% у порівнянні із КГ ($p<0,05$). У цій же підгрупі статистично значущих змін набув показник АЧТЧ, що був на 21,5% меншим по відношенню до контролю ($p<0,05$). В

той же час рівень ФГ не продемонстрував залежності від генотипів, проте відмічена достовірна різниця на 48,3% між G/A-A/A генотипом та КГ ($p < 0,05$).

Таблиця 5.3.5

Показники плазмового гемостазу у пацієнтів з гострим коронарним синдромом в залежності від генотипів за G20210A поліморфізмом гена FII (Me [25; 75])

	G20210A поліморфізм гена FII			Контроль	P 1-2
	G/G	G/A	A/A		
ПТЧ, с	9,9 [8,8; 11,1]	8,0 [6,9; 9,2]**	13,5 [12,8; 14,6]	$p > 0,05$	
ТЧ, с	11,8 [9,9; 13,1]	12,1 [7,8; 13,1]*	17,7 [13,7; 19,2]	$p > 0,05$	
АЧТЧ, с	23,9 [22,2; 25,3]	23,4 [21,3; 26,1]*	29,8 [26,8; 33,2]	$p > 0,05$	
ФГ, г/л	4,01 [3,46; 4,32]	4,03 [3,9; 4,26]*	2,9 [2,6; 3,3]	$p > 0,05$	
РФМК, г/лх10 ⁻²	10,2 [9,5; 15,2]**	10,1 [9,8; 11,4]**	4,0 [3,5; 4,5]	$p > 0,05$	
ПрС, нс	0,8 [0,66; 0,91]*	0,92 [0,74; 0,99]	1,05 [0,9; 1,2]	$p > 0,05$	
АТ III, %	76,0 [66,0; 80,0]	70,0 [65,0; 81,0]*	90,0 [80,0; 110,0]	$p > 0,05$	
XIIa ЗФ, хв	15,9 [13,0; 20,4]**	14,3 [13,9; 22,1]**	8,0 [7,0; 11,0]	$p > 0,05$	

Примітка. p_{1-2} - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, ** – вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,05$, $p < 0,01$.

При міжгруповому порівнянні показник вмісту РФМК не залежав від генотипу, однак суттєво перевищував контрольні значення ($p < 0,01$ для обох випадків). Показник ПрС у підгрупі з гомозиготним G-генотипом був на 46,7% меншим за КГ ($p < 0,05$), а АТIII був на 22,2% пригнічений у підгрупі з мутованим генотипом ($p < 0,05$). Показник фібринолітичного потенціалу також не мав достовірних змін при міжгруповому аналізі, однак у підгрупі з генотипом G/G виявився майже в 2 рази ($p < 0,01$) довшим, а при G/A-A/A генотипі – в 1,8 разів довшим за КГ ($p < 0,01$). Статистично значимих відмінностей між показниками плазмового гемостазу у підгрупах хворих з різними генотипами виявлено не було, що підтвердилося відсутністю взаємозв'язків між вказаними елементами за аналізом ВШ (табл. 5.3.6). Проаналізувавши отримані дані, можна зробити висновок, що загальні тенденції змін показників плазмового гемостазу у групі хворих на ГКС мали

схильність до активації коагуляційних процесів, однак вони не залежали від генотипів за G20210A поліморфізмом гена FII.

Таблиця 5.3.6

Значущість наявності факторів ризику у пацієнтів з гострим коронарним синдромом (I та II групи)

Фактор ризику	ВШ	95% ДІ	χ^2	p	Se	Sp	ϕ
ПТЧ <10 с	2,897	0,284 – 29,534	0,173	0,678	75	49,1	0,120
ТЧ <13,7 с	0,563	0,052 – 6,033	0,047	0,828	75	15,8	0,062
АЧТЧ <26,8 с	0,886	0,085 – 9,259	0,264	0,608	75	22,8	0,013
ФГ >3,3 г/л	0,800	0,076 – 8,398	0,198	0,657	75	21,1	0,024
РФМК >4,5 г/л*10 ⁻²	0,053	0,003 – 1,063	1,178	0,278	75	1,7	0,278
ПрС <0,9 нс	0,231	0,020 – 2,714	0,395	0,530	33,3	31,6	0,162
АТШ <80 %	0,780	0,066 – 9,218	0,212	0,646	66,7	28,1	0,025
ХПа-3Ф >11 хв	0,053	0,003 – 1,063	1,178	0,278	75	1,7	0,278

Примітка. ВШ – відношення шансів, 95% ДІ – довірчий інтервал, χ^2 – критерій Хі-квадрат з поправкою Йетса, Se – чутливість, Sp – специфічність, ϕ - сила зв'язку між фактором ризику та наслідком.

Дослідження показників плазмового гемостазу у групах хворих на ХКС з або без ЦД демонструє аналогічні зміни до виявлених у групі I та II (табл. 5.3.7).

Таблиця 5.3.7

Показники плазмового гемостазу у пацієнтів з хронічним коронарним синдромом в залежності від генотипу за G20210A поліморфізмом гена F2 (Me [25; 75])

	G20210A поліморфізм гена FII			Контроль	P
	G/G	G/A	A/A		
ПТЧ, с	10,6 [9,8; 12,4]	9,2 [8,9; 10,3]*	13,5 [12,8; 14,6]	p>0,05	
ТЧ, с	12,6 [11,6; 13,8]	10,3 [10,0; 14,1]*	17,7 [13,7; 19,2]	p>0,05	
АЧТЧ, с	24,1 [22,8; 26,2]	21,4 [21,2; 27,5]*	29,8 [26,8; 33,2]	p>0,05	
ФГ, г/л	3,7 [3,3; 4,1]	4,5 [3,7; 4,9]*	2,9 [2,6; 3,3]	p>0,05	
РФМК, г/лх10 ⁻²	8,9 [6,4; 10,2]**	9,2 [5,6; 11,9]**	4,0 [3,5; 4,5]	p>0,05	
ПрС, нс	0,92 [0,78; 0,99]	0,67 [0,54; 0,76]*	1,05 [0,9; 1,2]	p<0,05	
АТ Ш, %	76,9 [70,0; 87,0]	69,3 [63,2; 81,0]*	90,0 [80,0; 110,0]	p>0,05	
ХПа 3Ф, хв	13,1 [11,3; 16,0]**	14,5 [9,6; 17,6]	8,0 [7,0; 11,0]	p>0,05	

Примітка. p₁₋₂ - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, ** – вірогідність різниці відносно КГ p<0,05, p<0,01.

При міжгруповому аналізі показник ПТЧ не зазнав статистичної різниці, однак у підгрупі з G/A-A/A генотипом був вкороченим на 31,9% у порівнянні з КГ ($p < 0,05$). ТЧ також був вкорочений на 41,8% по відношенню до контрольних значень у мутованому генотипі ($p < 0,05$). При цьому ж генотипі показник АЧТЧ продемонстрував достовірне вкорочення на 28,2% у порівнянні з КГ ($p < 0,05$).

Вміст ФГ був вищим за контрольні значення в обох генотипах, але мав вірогідну різницю лише при наявності А-алелі, що на 55,2% перевищував рівень ФГ у КГ ($p < 0,05$). Спостерігалось зростання РФМК в 2,2 рази при G/G генотипі та в 2,3 рази при появі А-алелі у порівнянні з КГ ($p < 0,01$) для обох випадків.

Показники АТШ, ПрС та ХІа ЗФ продемонстрували суттєву залежність від наявності мутації А-алелі у порівнянні з КГ. В результаті міжгрупового аналізу виявлено достовірне пригнічення ПрС при G/A-A/A генотипі на 27,2% ($p < 0,05$). Однак, за аналізом ВШ спостерігалася лише тенденція майже у 4 рази частіше зустріти низький показник ПрС у підгрупі з мутованим А-алелем (ВШ = 3,840; 95% ДІ: 0,376 – 39,188; $p = 0,491$). Також статистично значущим по відношенню до контрольних значень виявилось подовження ХІа-ЗФ у підгрупі G/G генотипу – на 63,8% ($p < 0,01$).

Для виявлення впливу мутації за G20210A поліморфізмом гена FII на показники плазмового гемостазу проведено оцінку кореляційних зв'язків, результати якої відображені у таблиці 5.3.8.

Так, в групі хворих на ГКС не виявлено жодного достовірного зв'язку між показниками згортуючої, протизгортуючої системи крові та генотипами за G20210A поліморфізмом гена G20210A.

Аналізуючи зміни аналогічних показників когорти хворих на ХКС виявлений достовірний слабкий негативний зв'язок між показником ПрС та мутацією гена FII.

Таблиця 5.3.8

Оцінка кореляційних зв'язків між показниками плазмового гемостазу та G20210A поліморфізмом гена FII

Показник	ГКС		ХКС	
	FII	P	FII	P
ПТЧ, с	-0,254095	p>0,05	-0,236386	p>0,05
ТЧ, с	-0,035334	p>0,05	-0,148015	p>0,05
АЧТЧ, с	-0,44164	p>0,05	-0,110410	p>0,05
ФГ, г/л	0,024294	p>0,05	0,207897	p>0,05
РФМК, г/лх10 ⁻²	-0,022087	p>0,05	0,022085	p>0,05
ПрС, НС	0,183362	p>0,05	-0,289620	p<0,05
АТ III, %	-0,044205	p>0,05	-0,108205	p>0,05
ХIIa ЗФ, хв	0,066264	p>0,05	0,024293	p>0,05

Вивчення генотипів за G20210A поліморфізмом гена FII та аналіз їх впливу на тромбоцитарно-плазмовий гемостаз у пацієнтів з ГКС та ХКС дозволило дійти наступних висновків. Враховуючи специфічний розподіл генотипів серед обстеженої когорти хворих дослідження впливу супутнього ЦД виявилось статистично недоцільним. При міжгрупових аналізах показників тромбоцитарно-плазмового гемостазу не виявлено жодних статистично значущих залежностей. Лише при наявності А-алелі показники плазмового гемостазу достовірно відрізнялися від КГ. Саме в цій підгрупі хворих була продемонстрована активація коагулятивних процесів та подовження фібринолітичних як у групі хворих на ГКС, так і на ХКС, а особливістю для групи ХКС стало пригнічення системи ПрС.

Результати досліджень, представлені в розділі 5, опубліковано в роботах:

1. Karpenko, O.O., Netiazhenko, V.Z. and Plenova, O.M. (2019). ITGB3 gene polymorphism and its relation to platelet phase of hemostasis activity in patients with coronary artery disease combined with type 2 diabetes. *East European Science Journal*, 11(51), 24 – 29.
2. Карпенко, О.О., Нетяженко, В.З. (2020). Вплив мутації гена інтегрин бета-3 та цукрового діабету 2 типу на активність

тромбоцитарного гемостазу у хворих на гострі та хронічні коронарні синдроми. *Проблеми ендокринної патології*, 3(2020), 62 – 70.

3. Karpenko, O.O. and Netiazhenko, V.Z. (2020). Mutation of the fibrinogen gene G(-455)A and activity of platelet hemostasis in patients with acute and chronic coronary syndromes. *Norwegian Journal of development of the International Science*, 49(2020), 12 – 14.

РОЗДІЛ 6

ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ АНТИТРОМБОЦИТАРНОГО ЛІКУВАННЯ ПАЦІЄНТІВ З РІЗНИМИ ФОРМАМИ ІШЕМІЧНОЇ ХВОРОБИ СЕРЦЯ, ПОЄДНАНОЇ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2-го ТИПУ

Сьогодні питання резистентності до антитромбоцитарних препаратів, її причини, механізми розвитку та шляхи подолання активно досліджуються, однак немає повної згоди відносно терміну «резистентність» внаслідок недостатньої стандартизації методів моніторингу функції тромбоцитів та загальноприйнятих порогових значень, що дозволило розділити хворих «відповідачів» та «резистентних».

Адекватне зниження функціональної активності тромбоцитів у пацієнтів із ГКС та ХКС, які отримують антитромбоцитарне лікування, є основою ефективною профілактики тромбоутворення в коронарних судинах та розвитку несприятливих серцево-судинних подій. Всі обстежені нами пацієнти отримували лікування блокатором P2Y₁₂-рецепторів тромбоцитів - клопідогрелем, що було обов'язковим критерієм включення в дослідження.

Для оцінки тромбоцитарної реакції на застосування клопідогрелю та її співставлення з особливостями генотипу пацієнта нами проводилось вивчення G681A поліморфізму гена CYP2C19, який відповідає за метаболізм клопідогрелю. На підставі отриманих результатів проводився розподіл пацієнтів на підгрупи (табл. 6.1.1), в яких у подальшому вивчалась функціональна активність тромбоцитів. Дослідження розподілу генотипів за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 показало, що для всіх груп фактичний розподіл генотипів відповідає теоретично очікуваному при рівновазі Харді-Вайнберга, що вказує на рівномірність вибірки ($p > 0,05$).

Таблиця 6.1.1

Розподіл генотипів за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 серед хворих на ішемічну хворобу серця

Локуси, алелі, показники	I група	II група	III група	IV група
	ГКС без ЦД	ГКС з ЦД	ХКС без ЦД	ХКС з ЦД
G681A поліморфізм гена CYP2C19				
ΣN	30	30	30	30
N_0				
681 G/G	23 (76,7%)	21 (70%)	25 (83,3%)	26 (86,7%)
681 G/A	5 (16,7%)	6 (20%)	5 (16,7%)	2 (6,7%)
681 A/A	2 (6,7%)	3 (10%)	0	2 (6,7%)
681 G	0,85	0,8	0,917	0,9
681 A	0,15	0,2	0,083	0,1
N_E				
681 G/G	21,68	19,2	25,22	24,3
681 G/A	7,65	9,6	4,57	5,4
681 A/A	0,68	1,2	0,21	0,3
χ^2	3,56	4,21	0,25	0,42
p	0,1685	0,1213	0,8814	0,5683

Примітка. ΣN – об'єм вибірки; N_0 – фактичний розподіл фенотипу; N_E – теоретичний розподіл фенотипу; χ^2 – показник співвідношення фактичного розподілу до теоретичного, виходячи із рівноваги Харді – Вайнберга; p – досягнутий рівень значимості для χ^2 .

Генотипування хворих дозволило виявити, що у 73,3% когорти хворих на ГКС та у 86,4% когорти хворих на ХКС переважав нативний генотип G/G (рис. 6.1.1). При цьому різниця між шансами зустріти мутований A-алель була статистично незначимою (ВШ=2,061; 95% ДІ: 0,829 – 5,123; p=0,178).

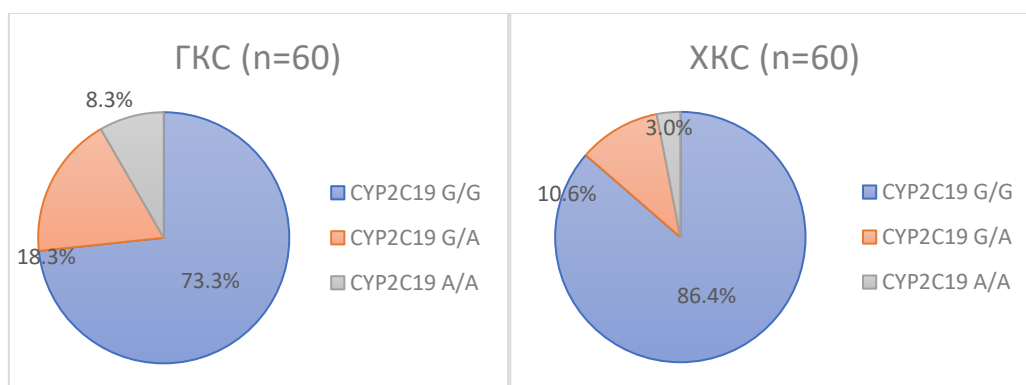


Рис. 6.1.1. Розподіл генотипів серед обстежених хворих

Знайдені особливості узгоджуються із даними літератури відносно розповсюдження G681A поліморфізму гена CYP2C19 у популяції. Генотип G/G, який асоціюється із швидким метаболізмом клопідогрелю у печінці, переважає у європеїдній популяції та обумовлює більш швидкий розвиток ефекту препарату.

На основі результатів генотипування когорти хворих на ГКС були розподілені на три підгрупи: до першої увійшло 44 хворих з генотипом G/G, який обумовлює швидкий метаболізм у печінці клопідогрелю та перетворення його з «пропрепарату» на активну речовину (табл. 6.1.2). Другу підгрупу склали 11 пацієнтів, носіїв гетерозиготної мутації, а третю – 5 носіїв гомозиготної мутації, наявність якої уповільнює метаболізм клопідогрелю, що в результаті призводить до зниження кількості активного метаболіту та, відповідно, до меншої ефективності або, за умови гомозиготності по цій алелі, навіть можливої відсутності ефекту препарату. Пацієнти з гомо- та гетерозиготною мутацією були об'єднані в одну підгрупу.

Таблиця 6.1.2

Показники тромбоцитарного гемостазу в когорті обстежених з гострим коронарним синдромом (Me [25; 75])

	G681A поліморфізм гена CYP2C19			Контроль	P
	G/G	G/A	A/A		
	1	2			
Спонтанна агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	2,67 [1,92; 3,86]***	4,0 [2,56; 5,28]***	0,88 [0,5; 1,1]	p>0,05	
Швидкість, %/хв	2,91 [2,02; 3,7]*	2,24 [1,65; 3,04]	1,64 [1,3; 2,8]	p>0,05	
CPA	1,14 [0,94; 2,44]*	1,32 [1,06; 2,02]*	1 [0,9; 1,1]	p>0,05	
АК-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь %	21,65 [15,35; 30,11]***	24,28 [19,95; 30,66]**	36,4 [32,0; 42,6]	p>0,05	
Швидкість, %/хв	14,98 [10,03; 24,63]***	23,2 [15,44; 34,95]*	41,9 [24,1; 56,0]	p>0,05	
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	40,1 [24,1; 49,25]	47,85 [33,4; 57,65]	43,5 [36,5; 52,6]	p>0,05	
Швидкість, %/хв	33,4 [10,82; 83,95]	71,3 [36,51; 88,1]	48,9 [44,4; 73,5]	p>0,05	

Примітка. p₁₋₂ - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, **, *** – вірогідність різниці відносно КГ p<0,05, p<0,01, p<0,001.

Ступінь СпАТ серед пацієнтів з G/A-A/A генотипом перевищував контрольні значення в 4,6 рази ($p < 0,001$). При порівнянні з відповідним показником у пацієнтів з G/G генотипом було виявлено, що наявність А-алелі не мала достовірного впливу на збільшення СпАТ (ВШ = 2,450; 95% ДІ: 0,462 – 12,982; $p = 0,480$). Слід зазначити, що у підгрупі хворих з G/G генотипом цей показник був у 3 рази вищий за групу контролю ($p < 0,001$). Швидкість СпАТ вірогідно відрізнялась на 77,4% від КГ лише при G/G генотипі ($p < 0,05$) без достовірної різниці при аналізі між підгрупами. СРА в обох підгрупах був достовірно більший за контрольні значення ($p < 0,05$ для обох випадків).

Ступінь та швидкість АК-індукованої агрегації тромбоцитів була суттєво нижчою за контрольні значення в усіх підгрупах, однак не відрізнялася між підгрупами пацієнтів з різними генотипами (ВШ=0,625; 95% ДІ: 0,065 – 6,090; $p = 0,912$).

Вивчаючи ступінь та швидкість АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів не виявлено статистично значущих змін ні у порівнянні з КГ, ні при міжгруповому аналізі. Також не виявлено суттєвого взаємозв'язку між генотипами за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 та ступенем АДФ-агрегації (ВШ=0,795; 95% ДІ: 0,216 – 2,928; $p = 0,983$).

Як видно з табл. 6.1.2, найбільш виразні розбіжності було виявлено стосовно СпАТ. Носійство А-алелі асоціювалося з її більш суттєвим підвищенням у порівнянні з КГ. Оскільки, саме СпАТ найбільш точно відображає стан початкових ланок активації кров'яних пластинок, можна зробити висновок, що незважаючи на лікування антитромбоцитарними препаратами у пацієнтів спостерігається недостатній ефект клопідогрелю.

Пацієнти зі стабільними формами ІХС були розподілені у підгрупи наступним чином: до підгрупи з нативним G/G генотипом увійшли 51 хворий, а до підгрупи з мутованим А-алелем – 9 осіб: 7 – з гетерозиготною мутацією та двоє – з гомозиготною. Аналізуючи показники функціональної

активності тромбоцитів у хворих на ХКС (табл. 6.1.3) нами було виявлено, що, незважаючи на застосування клопідогрелю в усіх пацієнтів, ступінь СпАТ був достовірно вищим за контрольні значення та залежав від генотипу за G681A поліморфізмом гена CYP2C19. Так, при G/G генотипі він перевищував показник контрольної групи на 28,4% ($p < 0,05$), а при мутації А-алелі – на 64,8% ($p < 0,01$). При міжгруповому порівнянні у підгрупі з поліморфним А-алелем ступінь СпАТ виявився на 31,8% вищим за підгрупу з нативним G/G генотипом. Інші показники СпАТ не продемонстрували вірогідних змін ($p > 0,05$).

Таблиця 6.1.3

Показники тромбоцитарного гемостазу у когорті обстежених з хронічним коронарним синдромом (Me [25; 75])

	G681A поліморфізм гена CYP2C19			Контроль	P
	G/G	G/A	A/A		
Спонтанна агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	1,13 [0,84; 1,54]*	1,45 [1,27; 2,44]**	0,88 [0,5; 1,1]	$p < 0,05$	
Швидкість, %/хв	2,11 [1,32; 2,91]	1,54 [1,17; 2,67]	1,64 [1,3; 2,8]	$p > 0,05$	
CPA	1,01 [0,78; 1,17]	0,92 [0,84; 1,06]	1 [0,9; 1,1]	$p > 0,05$	
АК-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь %	34,2 [25,4; 42,25]	31,5 [22,25; 36,5]	36,4 [32,0; 42,6]	$p > 0,05$	
Швидкість, %/хв	45,64 [34,18; 56,54]	42,9 [34,3; 52,1]	41,9 [24,1; 56,0]	$p > 0,05$	
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів:					
Ступінь, %	34,21 [26,21; 46,8]	39,87 [31,46; 60,2]	43,5 [36,5; 52,6]	$p > 0,05$	
Швидкість, %/хв	33,2 [12,7; 60,1]*	64,2 [25,12; 88,1]	48,9 [44,4; 73,5]	$p > 0,05$	

Примітка. p_{1-2} - вірогідність різниці показників між хворими у підгрупах; *, ** – вірогідність різниці відносно КГ $p < 0,05$, $p < 0,01$.

При дослідженні індукованої агрегації було відмічено, що реакція тромбоцитів досліджуваних груп хворих на АК була майже однаковою за ступенем та швидкістю з КГ. При цьому не спостерігалось статистично значущих відмінностей вказаних показників не від КГ, ні між підгрупами в залежності від генотипу за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 (ВШ=1,055; 95% ДІ: 0,253 – 4,393; $p=0,771$).

Ступінь АДФ-індукованої агрегації не мав вірогідної різниці у обстежених обох груп (ВШ=2,144; 95% ДІ: 0,495 – 9,027; $p=0,528$), хоча швидкість агрегації вірогідно відрізнялась від контрольних значень та була меншою на 67,9% у пацієнтів з G/G генотипом ($p<0,05$), що свідчило про більш виразне пригнічення агрегаційного процесу у хворих із нативним G/G генотипом.

Слід зазначити, що при проведенні оцінки кореляційних зв'язків між показниками функціональної активності тромбоцитів та G681A поліморфізмом гена CYP2C19 (табл. 6.1.4) серед когорти хворих на ГКС не виявлено впливу генотипів на тромбоцитарний гемостаз пацієнтів.

Таблиця 6.1.4

Оцінка кореляційних зв'язків між показниками тромбоцитарного гемостазу та G681A поліморфізму гена CYP2C19

Показник	ГКС		ХКС	
	CYP2C19	P	CYP2C19	P
Спонтанна агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	0,219341	$p>0,05$	0,275547	$p<0,05$
Швидкість, %/хв	-0,127151	$p>0,05$	-0,100222	$p>0,05$
Середній розмір агрегатів	0,065413	$p>0,05$	-0,093249	$p>0,05$
АК-індукована агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	0,103817	$p>0,05$	-0,130590	$p>0,05$
Швидкість, %/хв	0,181382	$p>0,05$	-0,065962	$p>0,05$
АДФ-індукована агрегація тромбоцитів:				
Ступінь, %	0,202758	$p>0,05$	0,127496	$p>0,05$
Швидкість, %/хв	0,225995	$p>0,05$	0,192202	$p>0,05$

У пацієнтів зі стабільними формами ІХС виявлений слабкий позитивний кореляційний зв'язок між ступенем спонтанної агрегації тромбоцитів та G681A поліморфізмом гена CYP2C19.

Ми оцінили вплив ЦД на ефективність пригнічення функціональної активності тромбоцитів клопідогрелем у носіїв різних алельних варіантів гена CYP2C19. Оскільки в кожній групі частота генотипу A/A виявилася замалою для статистичного аналізу, ми порівнювали між собою генотипи G/G та G/A-A/A. Група ізольованого перебігу ІХС складалася із 48 пацієнтів

з G/G генотипом (80%) та 12 пацієнтів з мутованим А-алелем (20%). Пацієнти з патологією вуглеводного обміну розподілились наступним чином: 47 пацієнтів мали G/G генотип (78%), а 13 – G/A – A/A (22%). Порівнюючи обидві когорти між собою, виявлено, що у групі з комбінованою патологією та G/G-генотипом ступінь АДФ-агрегації на 47,13% перевищував показник групи ізольованого перебігу ІХС (40,1 [33,43; 48,0] проти 27,26 [12,8; 47,43]). Відношення шансів при цьому не продемонструвало суттєвої залежності (ВШ=1,035 (0,442 – 2,427), $p=0,944$). А при носійстві G/A-A/A генотипу аналогічна різниця становила 72,6% (57,65 [49,34; 67,8] проти 33,4 [32,47; 37,99], $p<0,01$). Шанс зустріти високий ступінь АДФ-індукованої агрегації серед носіїв А-алелі гена CYP2C19 з ЦД майже у 17 разів достовірно перевищував групу пацієнтів з ізольованим перебігом ІХС (ВШ=16,667 (2,273 – 122,218), $p=0,009$), продемонструвавши високу чутливість ($Se=76,9\%$) та специфічність ($Sp=83,3\%$) методу. Отже, у пацієнтів з порушенням вуглеводного обміну був виявлений вищий ризик тромбофілічних змін на фоні прийому клопідогрелю у порівнянні з групою без коморбідної патології.

У сучасній клінічній практиці, не дивлячись на ефективність ПАТТ у попередженні тромботичних ускладнень, не втрачає актуальності проблема резистентності до клопідогрелю та АСК, в тому числі обумовлена генетичними факторами. Проте, в нашій роботі ми визначили, що носійство А-алелі за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 не є визначальною у формуванні стійкої клопідогрелерезистентності. Однак, підвищена ступінь АДФ-агрегації серед пацієнтів з ХКС, що приймали клопідогрель, є фактором ризику віддалених тромботичних ускладнень. Очевидно, що вказаний препарат має й інші механізми впливу на кров'яні пластинки. Цікавим також був той факт, що АК-індукована агрегація була практично однаковою в обох підгрупах пацієнтів з ХКС, що може свідчити про

відсутність впливу генотипів за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 на тромбоцитарну відповідь на АСК у цій когорті пацієнтів.

Отримані в нашому дослідженні дані показали, що вибірка хворих на ІХС та супутній ЦД, що мали мутований А-алель, була менш чутливою до дії клопідогреля, що проявлялося у більш високому ступені АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів. В той же час слід зазначити, що не тільки генетичний поліморфізм є предиктором тромботичних ускладнень. Відомо, що при ЦД виникають гемокоагуляційні та реологічні порушення, що характеризуються підвищенням агрегаційної активності тромбоцитів. Не дивлячись на доведений вплив мутованого генотипу CYP2C19 на ефективність пригнічення активності тромбоцитів при лікуванні інгібіторами P2Y₁₂-рецепторів, залишається відкритим питання корекції антиагрегантної терапії у носіїв певних алелей цього гену.

Результати досліджень, представлені в розділі 6, опубліковано в роботах:

1. Karpenko, O.O. (2016). Pharmacogenetic testing for CYP2C19 gene polymorphism for optimization of using antiplatelet therapy in patients with ischemic heart disease. *ScienceRise: Medical Science*, 8(4), 15-20.
2. Karpenko, O.O. (2016). Cyp2c19 genetic testing for personalisation using of anti platelet therapy in patients with history of myocardial infarction. *Науково-практичний журнал «Український кардіологічний журнал» - Матеріали XVII Національного конгресу кардіологів України*. (3), 155.
3. Карпенко, О.О. (2019). Вплив антитромбоцитарного лікування на агрегаційну здатність тромбоцитів у хворих на ішемічну хворобу серця та у поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, (1), 11-17.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Клінічний перебіг ЦД та прогноз для життя хворого визначаються розвитком серцево-судинних ускладнень. Патогенез цих ускладнень є багатофакторним і пов'язаний як з недостатнім метаболічним контролем ЦД, так і імунологічними, гормональними та генетичними порушеннями. В останні роки особливе значення в патогенезі ІХС при ЦД надається змінам в системі гемостазу [5, 8, 9].

Знання генетичних факторів, що сприяють розвитку захворювання і його ускладнень, може мати важливе прогностичне значення і використовуватися як до появи будь-яких клінічних або біохімічних симптомів хвороби, так і при виборі препаратів і методів лікування. При цьому для кожного конкретного захворювання можна виділити групу так званих генів-кандидатів, продукти яких можуть бути прямо або побічно залучені в патологічний процес. Дослідження генетичної складової багатофакторних захворювань включає пошук поліморфних маркерів в генах, здатних робити внесок в розвиток хвороби, і проявляється в достовірній різниці частоти певного генотипу цього маркера у хворих і здорових осіб однієї і тієї ж популяції. Встановлення зв'язку гена з захворюванням і подальша оцінка індивідуального генетичного ризику мають важливе значення для розробки диференційованого підходу до профілактики та лікування тієї чи іншої патології в залежності від спадкової схильності конкретного пацієнта. Подібні дослідження дозволяють прогнозувати генетичний ризик розвитку захворювання і його перебіг. Серед таких генів-кандидатів на особливу увагу заслуговують гени системи гемостазу, які відіграють значну роль у виникненні та прогресуванні серцево-судинних захворювань.

Для переходу на якісно новий рівень надання медичної допомоги необхідний прискорений інноваційний розвиток медицини і формування

персоналізованого підходу. Такий підхід потрібен для прогнозування схильності виникнення, розвитку захворювання, профілактики і лікування на основі індивідуального генетичного коду та інших персональних особливостей людини і зовнішнього середовища. Відомо, що генетика на 25% визначає здоров'я людини, а решту відносять до впливу епігенетики.

Дослідження генетичної складової розвитку тромботичних ускладнень у пацієнтів із серцево-судинною патологією є надзвичайно актуальним на сьогоднішній день. Враховуючи вище сказане в нашій роботі були обрані гени, відповідальні за активність окремих ланок системи гемостазу. Зокрема, тромбоцитарний гемостаз – ген тромбоцитарного рецептора фібриногену (ITGB3), що кодує мембранний тромбоцитарний глікопротеїн IIIa, який, в свою чергу, утворює комплекс з GPIIb. Гени, що відображають активність заключних ланок системи гемокоагуляції, а саме, утворення згустку – ген протромбіну (FII), як найбільш поширений в українській популяції, а також ген фібриногену (FGB), від якого залежить концентрація і функціональна активність самого фібриногену. Вибрані гени є високочутливими та репрезентативними для данної мети роботи та долсджованої категорії хворих.

Розширення останнім часом арсеналу антитромботичних засобів, а саме, антитромбоцитарних препаратів і результати ряду проведених досліджень, які вказують на можливість потенційного обмеження їх ефективності вказують на необхідність пошуку безпосередніх причин. Так, відомо, що резистентність до використання аспірину варіює від 5% до 45% населення. Великі надії поклалися на інші антитромбоцитарні препарати, зокрема, на клопідогрель, який широко застосовується відповідно до рекомендацій, але виявилось, що і він має значні обмеження ефективності – у 20-40% пацієнтів розвивається нечутливість до терапії. Таким чином, вивчення генетичної складової має велике значення для призначення ефективного лікування. Зокрема, ген CYP2C19 впливає на метаболізм

клопідогрелю, а вивчення ролі його поліморфізмів дозволить виявити самі ті генетичні складові, які можуть потенційно впливати на ефективність призначеного лікування, тобто, на персоналізований підхід у підборі терапії.

Отже, сутність моделі персоналізованої медицини полягає в призначенні лікування пацієнтам виходячи з їх індивідуальних особливостей, і що безумовно важливо - «набору» поліморфізмів певних генів. Це дозволяє зробити медикаментозне лікування максимально ефективним і безпечним. Особливого значення цей підхід набуває у пацієнтів із ССЗ і коморбідною патологією, враховуючи розповсюдженість та важкість перебігу таких захворювань.

Метою нашої роботи було встановлення особливостей змін тромбоцитарної та плазмової ланок гемостазу у хворих на ішемічну хворобу серця із супутнім цукровим діабетом 2-го типу, залежно від G20210A поліморфізму гена FII, G455A поліморфізму гена FGB, T1565C поліморфізму гена ITGB3, G681A поліморфізму гена CYP2C19 та визначення ефективності антитромботичного лікування.

У ході дослідження вирішувались наступні **завдання**:

1. Встановити особливості змін тромбоцитарного та плазмового гемостазу у хворих на ІХС із супутнім ЦД.
2. Вивчити частоту G20210A поліморфізму гена FII, G455A поліморфізму гена FGB, T1565C поліморфізму гена ITGB3, G681A поліморфізму гена CYP2C19 та проаналізувати їх превалювання при різних формах ІХС.
3. Дослідити активність тромбоцитарної ланки гемостазу та визначити ймовірний зв'язок G20210A поліморфізму гена FII, G455A поліморфізму гена FGB, T1565C поліморфізму гена ITGB3 з спонтанною та індукованою агрегацією тромбоцитів.

4. Визначити стан згортуючої активності крові залежно від G20210A поліморфізму гена FII, G455A поліморфізму гена FGB, T1565C поліморфізму гена ITGB3.

5. Встановити чутливість до клопідогрелю залежно від генотипів за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 на підставі комплексної оцінки тромбоцитарного гемостазу.

В рамках дисертаційної роботи ми обстежили 120 хворих на різні форми ІХС. Робота виконувалася на кафедрі пропедевтики внутрішньої медицини №1 Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (завідувач кафедри – член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, професор Нетяженко Василь Захарович). Здійснювалась наукова співпраця з КНП «Київська міська клінічна лікарня №1» (директор – Іванько О.В.) та Клінічною лікарнею «Феофанія» ДУС (головний лікар – Семенів І.П.), що підтверджено угодами про співпрацю.

Відповідно до поставлених завдань дисертаційної роботи пацієнти були розподілені за групами: 30 хворих на ГКС – I група (серед них 16 чоловіків та 14 жінок), 30 хворих на ГКС у поєднанні з ЦД – II група (відповідно 8 чоловіків та 22 жінки), 30 хворих на ХКС – III група (18 чоловіків та 12 жінок), 30 хворих на ХКС у поєднанні з ЦД – IV група (14 чоловіків та 16 жінок), та 15 практично здорових (контрольна група, серед яких 8 чоловіків та 7 жінок). Обстеження проводилось у перші години після госпіталізації хворого.

Агрегацію тромбоцитів досліджували на лазерному агрегометри «AGGREGATION ANALYSER» НПФ БІОЛА – 230LA (Росія) з комп'ютерною обробкою за програмою AGGR з використанням діагностичних наборів хімічних реактивів фірми «Технологія-стандарт» (Росія). На коагулометрі «Amellung» КС 4А (фірми «Еко-Med-Poll», Австрія) визначали показники плазмового гемостазу з використанням реактивів «Технологія стандарт» та «Ренам» (Росія). Типування

молекулярно-генетичних маркерів здійснювалося в імунологічній лабораторії Клінічної лікарні «Феофанія» ДУС на апараті Applied Biosystems 7500, USA для ПЛР в режимі Real Time з використанням готових наборів реагентів виробництва ТОВ «Синтол», Росія.

Результати дослідження оброблялися за допомогою статистичних методів та програми SPSS-23 з використанням критерію Шапіро-Уїлкі для оцінки характеру розподілу ознак. Оскільки всі досліджувані показники не відповідали закону нормального розподілу для їх опису застосовували медіану (Me) та інтерквартильний розмах (Q25 - Q75), а для порівняльного аналізу - критерії Манна-Уїтні. З метою оцінки відповідності фактичного розподілу генотипів теоретичному, виходячи з рівноваги Харді-Вайнберга, використовували критерій χ^2 .

Міжгрупові відмінності оцінювали з використанням критерію Хі-квадрат Пірсона з поправкою Йетса, враховуючи малі вибірки, а також, відношення шансів (ВШ, odd ratio, OR), 95% довірчий інтервал (ДІ, confidence interval, CI), чутливість (Se), специфічність (Sp).

Для оцінки сили та напрямлення кореляційного зв'язку використовували коефіцієнт рангової кореляції Спірмена.

Результати власних досліджень, викладені у третьому та четвертому розділі, присвячені вивченню функціональної активності тромбоцитарного гемостазу у хворих з ГКС та ХКС, ЦД та їх поєднанням. З цією метою була обстежена вся когорта досліджуваних пацієнтів, що розподілялися на 4 групи по 30 осіб в залежності від гострого або хронічного перебігу ІХС та наявності або відсутності супутнього ЦД.

В обстежених групах виявлено значне порушення властивостей крові як при ГКС, так і при ХКС, що проявлялось у достовірному збільшенні ступеня СпАТ у порівнянні з КГ, що узгоджується з результатами раніше проведених досліджень Гальченко О.Е. та Бабаєвої А.Р. [152] Показник ступеня СпАТ достовірно відрізнявся від КГ та у 2,5 рази в I групі та у 4,6

разів в II групі перевищував значення здорових осіб ($p < 0,001$ для обох випадків). У пацієнтів II групи спостерігалась активація швидкості СпАТ, що на 30 % прискорювало формування агрегатів у порівнянні з групою ізольованого ГКС ($p < 0,05$). В той же час, СРА достовірно зростав у обох групах хворих порівняно із контролем. Слід зауважити, що на зміни агрегаційного потенціалу тромбоцитів при ЦД вказувалось і раніше. Так у дослідженнях Чиркова Ю.Ю. і співавт. у хворих на ЦД із збільшенням тривалості патологічного процесу інтенсивно відбувається СпАТ. При цьому значна частина тромбоцитів виявляється залученою в агрегати, завдяки чому зменшується кількість тромбоцитів, що володіють фізіологічним рівнем агрегаційної активності [153].

У наших хворих ступінь агрегації тромбоцитів у відповідь на стимуляцію АК у групі I був у 1,9 рази достовірно нижчим за контрольні значення, у групі II – у 1,5 рази ($p < 0,001$ для обох випадків). Звертало на себе увагу, що у пацієнтів із ЦД ступінь АК-індукованої агрегації тромбоцитів на 29,7 % перевищував значення групи ГКС без ЦД ($p = 0,018$). При цьому швидкість агрегаційного процесу між порівнюваними групами хворих не відрізнялась і була практично в 2,5 рази меншою за показники КГ. Отже, застосування АСК в групі з ГКС, основною точкою дії якої є вплив на метаболізм АК, більшою мірою саме уповільнювало агрегаційний процес, причому цей механізм не залежав від наявності ЦД у хворих на ІХС. У той час як виразність пригнічення ступеню АК-агрегації асоціювалось із супутнім ЦД - його поєднання із ГКС супроводжувалось менш адекватною відповіддю на лікування, що повністю підтверджує результати наукової роботи Калугіної О.Ю. (2014) [154].

Помірне зменшення ступеню АДФ-агрегації спостерігалось лише в групі ізольованого ГКС, показники якої були в 1,4 рази нижчими, ніж в контролі ($p < 0,01$). У той же час, у пацієнтів з поєднанням ГКС та ЦД не тільки не реєструвалось зниження функціональної активності тромбоцитів,

а, навпаки, простежувалась чітка тенденція до пришвидшення утворення агрегатів, підтвердження чого знайдено у роботі Репіна О.М. та співавторів (2015) [155]. Таким чином, проведення подвійної антитромбоцитарної терапії супроводжувалось ефективним зниженням тромбоцитарних функцій лише у групі хворих з ізольованим ГКС, призводячи до гальмування швидкості та ступеня АК-індукованої агрегації та зменшення ступеня АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів. У хворих із поєднанням ГКС з ЦД 2-го типу на фоні значно збільшеної спонтанної агрегації зберігались високі значення АДФ-агрегації тромбоцитів, отже пригнічення зазнавала лише стимульована АК-агрегація кров'яних пластинок, що свідчило про негативний вплив супутнього ЦД на досягнення оптимального ефекту антитромбоцитарного лікування.

Показник ступеня СПАТ достовірно відрізнявся в обох групах з хронічним перебігом ІХС від КГ. У групі III він на 30% перевищував показник КГ, а у групі IV – на 40% ($p < 0,01$ в обох випадках). При цьому достовірної різниці між групами III та IV відмічено не було. Показник швидкості СПАТ відреагував відповідно до наявності ЦД, проте без достовірної міжгрупової різниці.

Реакція тромбоцитів досліджуваних груп хворих на АК достовірно відрізнялась за ступенем лише у групі III – вона виявилася на 22% нижче КГ ($p < 0,01$). При цьому спостерігалась статистично значуща відмінність вказаного показника між групами досліджуваних. Так, ступінь АК-індукованої агрегації був у 1,4 рази нижчим у групі III, ніж у групі IV, що може свідчити про неадекватну реакцію тромбоцитів на стимуляцію АК у категорії хворих з поєднаним перебігом ХКС та ЦД.

Помірно виражені зміни ступеню АДФ-агрегації спостерігалися тільки у групі ізольованої ХКС, показники якої були на 24% нижчими, ніж в контролі ($p < 0,05$), у групі пацієнтів з поєднанням ХКС та ЦД вони достовірно не відрізнялись від контролю.

Таким чином, антитромбоцитарне лікування призводило до характерного зниження активності тромбоцитів лише у хворих із ізольованим ХКС, що проявлялось пригніченням реакції на АДФ та АК. Наявність супутнього ЦД, як і у випадку ГКС, асоціювалася із меншою чутливістю до препаратів.

Найбільш значними були зсуви саме у групі ГКС, проте виражені порушення агрегаційних властивостей тромбоцитів у пацієнтів і з ХКС настановлюють на думку про можливе прогностичне значення показників для цієї когорти хворих.

На наступному етапі дисертаційної роботи ми оцінювали стан коагуляційної ланки гемостазу серед досліджуваних груп хворих. Було показано, що у I групі наявне вкорочення ПТЧ по відношенню до КГ на 24,1% ($p < 0,001$), зростання рівня ФГ на 20,3% ($p < 0,001$) та РФМК в 2,4 рази ($p < 0,001$), а також вкорочення таких показників, як АЧТЧ, ТЧ ($p < 0,001$).

Показники згортуючої ланки гемостазу у II групі продемонстрували достовірні зміни на всіх етапах коагуляції у порівнянні з КГ, а саме: зменшення ПТЧ на 29,3 %, вкорочення ТЧ на 45,5 % та АЧТЧ на 22,8 %, підвищення рівня ФГ на 47,2 % та зростання вмісту РФМК в 3,8 разів.

Міжгруповий аналіз вказав на найбільші зміни, виявлені у групі поєданого перебігу ГКС та ЦД. Вкорочення показника ТЧ на 26,3 % ($p < 0,001$) та АЧТЧ на 10,2 % ($p < 0,001$), збільшення рівня ФГ на 22,3 % ($p < 0,001$) та РФМК в 1,6 разів ($p < 0,001$) може свідчити про підвищений рівень тромбонебезпеки у пацієнтів групи II. І лише показник ПТЧ не набував достовірної різниці між групами, що дозволяло констатувати подібність змін зовнішнього шляху згортання крові у хворих на ГКС, незалежно від наявності супутнього ЦД. Привертає увагу високий рівень ФГ у II групі, що може розглядатися як ризик розвитку макросудинних ускладнень. У більшості досліджень, присвячених вивченню стану гемостазу у пацієнтів з ЦД, було також констатоване збільшення рівня ФГ

плазми [156]. Asang N. і співавт. [157] виявили збільшення рівня ФГ в середньому на 100 мг/дл у пацієнтів з ЦД в порівнянні з КГ, при цьому спостерігався прямий зв'язок рівня ФГ з терміном давності захворювання, схожі результати були опубліковані в роботі вітчизняних вчених [151]. У шестирічному дослідженні ARIC було підтверджено, що ЦД є протромботичним станом, і підвищення ризику розвитку серцево-судинних ускладнень пов'язано з підвищенням рівня ФГ [158]. Однак, у Rotterdam Study різниці в рівні ФГ в групі хворих ЦД і в групі контролю виявлено не було [159].

Фібринолітична активність зазнала пригнічення як в I, так і в II групі, при цьому XIIa-ЗФ виявився найбільш подовженим в групі пацієнтів з поєднанням ГКС та ЦД, а саме в 1,6 рази у порівнянні з аналогічним показником при ГКС ($p < 0,001$) та в 2,6 рази відрізнявся від контролю ($p < 0,001$). Окрім порушень в системі коагуляції, при ЦД розвиваються порушення системи фібринолізу, що проявляються зниженням цього процесу та сприяють розвитку прокоагулянтного стану. Отримані нами результати узгоджуються з думкою інших авторів про те, що зниження фібринолітичної активності може призводити до більш тривалого контакту стінок судин з мікротромбами та мітогенами, що утворюються при формуванні згустку, що сприяють розвитку та прогресуванню атеросклерозу [160].

Зменшення протизгортуючої активності крові у хворих на ГКС з ЦД характеризувалось гальмуванням систем АТІІІ, ПрС та фібринолізу, що поглиблювало прокоагулянтні зміни, виявлені в ході нашого дослідження. В даних літератури знайдено підтвердження значущих порушень антикоагулянтної системи при ЦД, що залучають ПрС і АТІІІ. У проспективному дослідженні G. Scherthaner і співавт. [161] доведений прямий кореляційний зв'язок між рівнем ПрС та холестерином і трігліцидами та зворотна кореляція ПрС з рівнем глікемії. Єфімов Е. В. у

своїй роботі також стверджував про знижену активність природних антикоагулянтів – АТШ та ПрС – у когорті хворих з поєднаним перебігом ГКС та ЦД [162].

При оцінці коагуляційної ланки гемостазу серед груп хворих на ХКС було визначено вкорочення АЧТЧ в обох групах: на 14% - у групі III, та на 22% - у групі IV, відповідно ($p < 0,05$) в порівнянні з КГ. Оцінка ТЧ виявила суттєві відмінності у результатах обох груп. Так, у пацієнтів з поєднаним перебігом ХКС та ЦД згусток у цьому тесті утворювався на 20,4% швидше в порівнянні з групою пацієнтів з ізольованим перебігом ХКС ($p < 0,001$).

Вміст ФГ був більшим у групі IV (на 13,04% та 34,5%) у порівнянні із групою III та КГ ($p < 0,05$ та $p < 0,001$ відповідно). Концентрація РФМК виходила за межі референтних значень в групах III та IV. В групі ізольованого перебігу ГКС показник був достовірно вищим у 1,58 разів, ніж у КГ, та зростав при приєднанні ЦД на 64,3% ($p < 0,001$), що свідчило про високу активність заключних ланок формування фібринового згустку.

Активність АТШ не відрізнялася в порівнянні із КГ. Показник активності у групі IV достовірно відрізнявся та був на 19,4% нижчим від групи ізольованого перебігу ХКС та на 22,6% меншим від КГ ($p < 0,001$).

В ході проведеного аналізу достовірно зниження активності антикоагулянтної системи ПрС було виявлено лише в групі IV у порівнянні з КГ ($p < 0,05$) без достовірної різниці при міжгруповому аналізі. Натомість, у роботі Тойинбокової Р.Ж. та співаторів продемонстрована відсутність змін протизгортуючих показників, які не відрізнялися від КГ, навіть при коморбідному перебігу [163].

Характер змін фібринолітичної системи гемостазу, оцінений за часом ХПа-3Ф, був вірогідно подовженим у групі IV на 39,7% ($p < 0,001$). Аналізуючи показники обох груп у порівнянні з КГ, виявлені достовірні зміни: збільшення часу фібринолізу у групі III – у 1,4 рази, а у групі IV – у 2 рази ($p < 0,001$ для обох випадків). При вивченні інших наукових

публікацій, саме у роботі Галяутдинова, Г. С. та Чудакової, Е. А. [164] знайдено підтвердження отриманих нами результатів у групі поєднаного перебігу ІХС та ЦД, про що свідчило збільшення споживання фізіологічних антикоагулянтів, яке вказує на можливість розвитку хронічного внутрішньосудинного згортання крові.

П'ятий розділ дисертаційної роботи присвячений вивченню генетичних аспектів тромбозу серед досліджуваних пацієнтів з метою оцінки стану тромбоцитарного та плазмового гемостазу за наявності певного поліморфізму.

Першочергово нами розглядалися Т1565С поліморфізм гена ITGB3, що кодує інтегрин бета-3 та є компонентом тромбоцитарного рецептора ФГ. Аналіз розповсюдження генотипів за Т1565С поліморфізмом гена ITGB3 в досліджуваній популяції хворих дозволив виявити, що наявність ЦД не асоціювалася з генотипами, проте мала наступний розподіл серед обстежених груп: у когорті хворих на ГКС нативний, нормальний Т/Т генотип був присутній у 71,7% пацієнтів (n=43), генотипи з наявністю С-алелі розподілились наступним чином (відбулася заміна тиміну (Т) на цитозин (С)): Т/С – 16,6% (n=10), С/С – 11,7% (n=7). У когорті хворих на ХКС вказані генотипи зустрічалися з такою частотою: Т/Т – 88,3% (n=53), Т/С – 8,3% (n=5), С/С – 3,3% (n=2). Таким чином, у 28% хворих з гострим порушенням коронарного кровообігу спостерігалася мутація С-алелі за Т1565С поліморфізмом гена ITGB3, натомість при стабільному перебігу ІХС вона була присутня лише у 12% пацієнтів. Отже, хворі із мутованим С-алелем були більше схильні до виникнення гострих форм ІХС, основу яких, як відомо, становить активація тромбоутворення у коронарному руслі. Однак, у роботі Цепокіної А.В. та співавторів продемонстровані суперечливі результати. Автори вважають, що мінорний С-алель пов'язаний зі зниженим ризиком розвитку ІМ [65]. Натомість інші автори стверджують, що носійство поліморфізму як в гетеро-, так і в гомозиготному варіанті збільшує

небезпеку рестенозу після коронарного стентування [165], а також може бути причиною розвитку резистентності до терапії аспірином [166]. У той же час ряд дослідників [167] заперечують наявність зв'язку між носійством цієї мутації і розвитком тромбозу артеріальних судин або вважають ризик розвитку тромбозу, зумовлений цим чинником, мінімальним [168].

Таким чином, єдиної думки щодо ефекту T1565C поліморфізму гена ITGB3 на зміни активності гемокоагуляції та їх наслідки на сьогоднішній день не існує, отже дослідження саме цього гена являє науковий інтерес з точки зору впливу на систему згортання крові.

Для початку нами було проведено вивчення показників тромбоцитарного гемостазу у об'єднаній когорті пацієнтів, що страждають на ГКС, незалежно від наявності ЦД (n=60). Показники ступеня СпАТ достовірно відрізнялися від КГ в усіх підгрупах обстежених хворих, при цьому найвищий показник був зафіксований у підгрупі С/С – 4,81 [4,2; 6,1], який в 5,46 разів перевищував контрольне значення ($p < 0,001$). Слід відмітити, що наявність алелі С була пов'язана зі зростанням ступеню СпАТ відносно Т/Т генотипу на 76,92% у підгрупі Т/С ($p < 0,01$), та на 94,74% у підгрупі С/С ($p < 0,001$). Подібні зміни було відмічено також і щодо швидкості СпАТ.

Аналізуючи показники АК-індукованої агрегації тромбоцитів, встановлено, що її ступінь у підгрупі хворих з С/С генотипом був більший на 22% у порівнянні з підгрупою Т/Т та на 16,6% - у порівнянні з підгрупою Т/С, при цьому різниця між підгрупами не набувала статистичної значущості ($p > 0,05$). Достовірно нижчі значення щодо КГ в усіх підгрупах пацієнтів можна, очевидно, пояснити лікуванням АСК, яка має вплив саме на метаболізм АК, що призводить до зниження реакції тромбоцитів на цей індуктор. Таким чином, виразність зниження ступеню та швидкості АК-індукованої агрегації тромбоцитів може розглядатись як критерій ефективності терапії. Слід зазначити, що при відсутності достовірної різниці у вказаних показниках між підгрупами хворих із різними генотипами за

T1565C поліморфізмом гена ITGB3, простежувалась чітка тенденція до нижчих значень АК-агрегації у хворих із нативним T/T генотипом, натомість тромбоцити хворих із мутованим гомозиготним C/C генотипом демонстрували менш адекватну відповідь на лікування, підтвердженням чого була відсутність статистично значущої різниці АК-агрегації тромбоцитів від контролю.

Щодо ступеню АДФ-індукованої агрегації встановлено, що найбільший показник зафіксований у підгрупі C/C, він виявився в 1,7 разів вищим за КГ ($p < 0,01$). Необхідно відмітити, що всі хворі отримували лікування клопідогрелем, який має безпосередній вплив саме на АДФ-агрегацію тромбоцитів. Отже, зростання відповіді тромбоцитів на цей індуктор можна розцінювати як парадоксальну реакцію і свідчення неефективності препарату. Виявлено, що носійство C-алелі спричиняє зростання АДФ-агрегації відносно T/T генотипу на 15,9% у групі T/C ($p > 0,05$) та достовірне збільшення у підгрупі C/C, як відносно групи T/C (69%, $p < 0,05$), так і відносно групи T/T (95,7%, $p < 0,001$).

У роботі Каражанової Л.К. та співавторів підтверджуються отримані нами результати, а саме асоціація носійства C-генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 з набуттям тромбоцитами підвищеної схильності до агрегації, тому носії цього варіанту мають підвищений ризик тромбоутворення з такими наслідками, як ІМ, розвиток ГКС [169]. У той же час у пацієнтів з цим варіантом поліморфізму відзначається низька ефективність застосування в якості антиагрегантів таких препаратів, як АСК та клопідогрель [170, 171].

Для аналізу особливостей показників тромбоцитарного гемостазу при кожному генотипі за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 в залежності від наявності ЦД було вивчено показники I та II групи. Привернув увагу ступінь SpAT у I групі незалежно від генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 достовірно відрізнявся від КГ та між підгрупами. Серед пацієнтів II групи

відмічено аналогічне, проте більш інтенсивне зростання показника ступеня СпАТ при появі С-алелі.

Отже, для кожної когорти хворих, як з ЦД, так і без нього характерні загальні тенденції змін: зростання показників при появі С-алелі. Достовірний вплив ЦД в основному мав на показник ступеня СпАТ, та, певним чином, на ступінь АК- та АДФ-індукованої агрегації, проте тільки у підгрупах з Т/Т генотипом за Т1565С поліморфізмом гена ITGB3. У роботі Муслімової Е.Ф. та співавторів отримані дані про те, що С-алель за Т1565С поліморфізмом гена ITGB3 частіше зустрічалася у групі ГКС без ЦД, що підтверджується отриманими нами результатами. Автори наголошують на спряженості С-алелі з низьким порогом активації тромбоцитів та їх підвищеною агрегацією, що може обумовлювати більш високий ризик несприятливих серцево-судинних подій [172].

Дослідження функціональної активності тромбоцитів у хворих з ХКС дозволило виявити, що показники ступеня СпАТ достовірно відрізнялися від КГ у всіх підгрупах обстежених хворих, а найвищий показник був зафіксований у підгрупі С/С та у 2,5 рази перевищував контрольне значення ($p < 0,05$). І хоча міжгрупове порівняння не виявило значущої різниці, схильність до посилення СпАТ чітко простежувалась у хворих із наявним С-алелем. В свою чергу показник ступеня АК-індукованої агрегації не продемонстрував жодної достовірної залежності. Аналізуючи показники ступеню АДФ-індукованої агрегації у підгрупах, відмічено, що найбільший показник зафіксований у підгрупі С/С – в 1,7 разів вище за групу контролю ($p < 0,05$). Виявлено, що носійство С-алелі спричиняє зростання АДФ-агрегації відносно Т/Т генотипу на 63,1% у підгрупі Т/С ($p < 0,01$) та значне збільшення у 2,4 рази підгрупі С/С ($p < 0,05$). Показник швидкості у підгрупах з мутованим С-алелем перевищував значення підгрупи Т/Т, відповідно в 2,8 разів у підгрупі Т/С ($p < 0,001$) та в 3,4 рази – у підгрупі С/С ($p < 0,05$).

Загальна тенденція змін показників агрегації тромбоцитів у групі III та IV повторювала зміни, характерні для груп I та II, а саме: зростання показника ступеню та швидкості СпАТ, АК- та АДФ-індукованої агрегації з появою С-алелі, проте при міжгруповому аналізі достовірної різниці зазнали лише показники ступеню агрегації. Отримані дані узгоджуються з даними закордонних авторів [170, 171].

Наступним етапом розділу став аналіз показників плазмового гемостазу у когорті пацієнтів з ГКС в залежності від генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, яка відрізнялась у різних ланках гемокоагуляції. Так, показник ПТЧ був достовірно вкорочений у всіх підгрупах хворих відносно КГ, що свідчило про посилення активності згортання крові за зовнішнім шляхом при будь-якому генотипі за T1565C поліморфізмом гена ITGB3. Однак найвиразнішими ці зміни були у підгрупі з С/С генотипом, що супроводжувалось прискоренням згортання на 19,8% у порівнянні із підгрупою Т/Т ($p < 0,01$).

Утворення згустку у тестах АЧТЧ та ТЧ відбувалось достовірно швидше, ніж у групі контролю, без суттєвої різниці у підгрупах з T1565C поліморфізмом гена ITGB3. Найвищий рівень ФГ був знайдений в підгрупі з гомозиготним мутованим С/С генотипом, при цьому він перевищував рівень аналогічного показника в підгрупі пацієнтів з Т/Т генотипом на 8,5% ($p < 0,01$) та мав тенденцію до збільшення відносно підгрупи Т/С на 6,4% ($p > 0,05$). Вміст РФМК не залежав від типу поліморфізму гену ITGB3, але в усіх підгрупах хворих суттєво перевищував контрольні значення. При загальному зниженні активності АТ III у всіх підгрупах хворих із ГКС, найбільше виснаження антитромбінової системи спостерігалось при С/С генотипі, що на 9,1% було більш виразним за Т/Т генотип ($p < 0,05$). Натомість, показник вмісту ПрС у цій підгрупі практично не відрізнявся від КГ, у той час як при Т/Т генотипі виявився нижчим на 31,3% ($p < 0,001$), а при Т/С генотипі – 29,6% ($p < 0,05$). Звертало на себе увагу, що фібринолітичний

потенціал крові пацієнтів з ГКС був значно зниженим у всіх обстежуваних, причому виразність цих змін не залежала від генотипів за T1565C поліморфізмом гена ITGB3.

Таким чином, нами було підтверджено пригнічення протизгортуючої активності крові при розвитку ГКС, в тому числі на тлі ЦД. При цьому ступінь змін її фібринолітичної ланки не залежав від мутацій за T1565C поліморфізмом гена ITGB3, натомість антитромбінова активність виявилась найнижчою у підгрупі з С/С генотипом, що певною мірою компенсувалося збереженням потенціалу ПрС. Слід зазначити, що на різний ступінь пригнічення фібринолізу та антикоагулянтної активності при ГКС вказувалось у раніше проведених дослідженнях [173], що розглядалось як один із механізмів його розвитку. Зв'язок вказаних змін із поліморфізмом гену тромбоцитарних рецепторів до ФГ описаний нами вперше.

Проведення подібних досліджень плазмового гемостазу серед пацієнтів з ХКС дозволило виявити гемостазіологічні зрушення в залежності від генотипів за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 лише за певними показниками. Так, показник АЧТЧ практично не відрізнявся між підгрупами ($p > 0,05$), але був вкороченим у порівнянні з КГ. Показник ПТЧ не мав достовірної різниці та був майже однаково вкорочений у підгрупах з гетеро- та гомозиготною мутацією С-алеля ($p > 0,05$). Показник ТЧ також не продемонстрував достовірних змін між підгрупами, проте при порівнянні з КГ встановлено вкорочення показника на 27,7% у підгрупі Т/Т ($p < 0,001$), на 30,5% у підгрупі Т/С ($p < 0,01$) та на 30,8% у підгрупі С/С ($p < 0,05$).

Зміни, які торкнулися показника РФМК у підгрупах хворих на ХКС були віддзеркаленням змін у пацієнтів з ГКС, при цьому найвищий показник був також виявлений у підгрупі з Т/С генотипом та становив 9,8 [8,6; 10,0]. При порівнянні з даними обстежених КГ, показник РФМК був збільшений в 2,3, в 2,5 та в 2,2 рази, відповідно, у пацієнтів з Т/Т, Т/С та С/С генотипом ($p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,05$, відповідно). У той же час вміст ФГ був достовірно

вищим за контрольні значення в усіх генотипах ($p < 0,001$, $p < 0,01$, $p < 0,05$ відповідно). Можливим поясненням підвищеного вмісту ФГ у всіх підгрупах пацієнтів з ХКС з або без ЦД слід розглядати наявність хронічного запального процесу, що призводить до гіперкоагуляції.

Виявлено, що показники антикоагулянтної системи достовірно не відрізняються між собою, хоча в підгрупі пацієнтів з С/С генотипом рівень АТШ виявився найнижчим, що все ж таки достовірно відрізнялось від підгрупи з Т/Т генотипом ($p < 0,05$). Окрім того, при аналізі виявлено зниження рівня ПрС на 54,3% у пацієнтів з гомозиготною мутацією С-алеля у порівнянні з КГ ($p < 0,05$).

Для аналізу впливу супутнього ЦД на стан плазмового гемостазу при генотипах за Т1565С поліморфізмом гена ITGB3 було оцінено результати групи III та IV.

При оцінці коагуляційної ланки гемостазу було визначено вкорочення показників ПТЧ, ТЧ та АЧТЧ. Дані зміни вказують на більш значиму активацію системи прокоагуляції при наявності супутнього ЦД. Рівень ФГ також неухильно зростав при появі С-алелі, проте достовірний вплив ЦД був відмічений лише у підгрупі Т/Т ($p < 0,001$). Відповідних змін зазнав і рівень РФМК при поліморфізмі Т/Т, який був підвищеним на 69,4% в підгрупі з ЦД у порівнянні з підгрупою без ЦД ($p < 0,001$) та достовірно відрізнявся від КГ ($p < 0,001$).

Поєднання ХКС та ЦД призводило до більш суттєвого зниження активності як фібринолітичної, так і антикоагулянтної ланок гемостазу, проте з достовірною різницею лише у Т/Т генотипі. Отримані дані відповідають літературним ствердженням про наявність гіперфібриногенемії та пригнічення фібринолізу при ЦД та підтверджують вплив кров'яних пластинок на параметри згортуючої та плазмінової системи крові шляхом активації впливу на ранні стадії коагуляції та пригнічення пізніх стадій і фібринолізу [174].

Оцінка взаємозалежності між показниками плазмового гемостазу та T1565C поліморфізмом гена ITGB3, у когорті хворих на ГКС виявила достовірний позитивний кореляційний зв'язок між рівнем ФГ, показником РФМК та мутацією алелі, а достовірний негативний зв'язок – між показником ПТЧ та мутацією. В той же час при аналізі кореляційних зв'язків між показниками у когорті хворих на ХКС виявлено, що аналогічні до попередньої когорти зв'язки наявні між показниками ПТЧ, ФГ та T1565C поліморфізмом гена ITGB3. Оцінка подібних зв'язків серед досліджуваної популяції пацієнтів описана в дисертаційній роботі вперше.

Наступним етапом нашої роботи стало вивчення особливостей гемостазу в залежності від G455A поліморфізму гена FGB. При цьому поліморфізмі відбувається заміна гуаніну (G) на аденін (A). У пацієнтів з ГКС нативний, нормальний G/G генотип був присутній у 76,67% пацієнтів (n=46), генотип з гетерозиготною мутацією G/A – 18,33% (n=11), а з гомозиготною мутацією – A/A – 5% (n=3). У когорті хворих на ХКС виявлена особливість розподілу генотипів, а саме – не виявлено жодного пацієнта з гомозиготною мутацією A-алелі. Інші генотипи пацієнтів цієї когорти розподілилися наступним чином: G/G – 70% (n=47), G/A – 30% (n=13). Статистично значимої різниці між частотами алелей для G455A поліморфізму гена FGB виявлено не було. Аналогічні результати знайдень в роботі Цимбалюка В.І. та співавторів [175]. Наразі існують суперечливі дані попередніх мета-аналізів щодо зв'язку G455A поліморфізму гена FGB з ризиком ІХС у різних популяцій. Сміт та співавтори [176] вивчали зв'язок G455A поліморфізму гена FGB з ризиком ІХС серед населення світу та виявили значну асоціацію (ВШ = 0,976; 95% ДІ: 0,916–1,040). Гу та співавтори [177] вивчали аналогічний зв'язок серед населення Китаю та також стверджували про наявність асоціації з розвитком ІХС (ВШ=1,802; 95% ДІ: 1,445–2,246). Sabater-Lleal та співавтори [178] вивчали зв'язок 23 генів фібриногену, включаючи FGB (G455A) з ризиком ІХС серед населення

Європи, Африки та Америки. Вони виявили, що всі 23 ФГ-асоційовані ОНП не мають значення для розвитку ІХС.

Для підтвердження ролі генотипів за G455A поліморфізмом гена FGB в активації процесів гемокоагуляції було вивчено агрегаційну здатність тромбоцитів у когорті хворих на ГКС. Ступінь СпАТ достовірно відрізнявся від КГ в обох підгрупах ($p < 0,001$) з найвищим показником у G/A-A/A підгрупі, який в 3,4 рази перевищував контрольне значення ($p < 0,001$). Достовірна різниця швидкості СпАТ була відмічена лише у підгрупі з мутованим алелем, що на 79,8% перевищувала показник КГ ($p < 0,05$). У пацієнтів I та II груп знайдено значне статистично значуще збільшення СпАТ в порівнянні до КГ. Вплив ЦД на показник ступеня СпАТ був наявний в обох генотипах. Так, при генотипі G/G цей показник на 53,5% був вищим у групі II ($p < 0,001$), а при генотипі G/A-A/A – у 3,2 рази вищим ($p < 0,05$).

Ступінь та швидкість АК-індукованої агрегації тромбоцитів не набували статистичної значущості між підгрупами з різними генотипами. Ступінь АК-індукованої агрегації зазнав локальних, проте достовірних змін лише у підгрупі G/A-A/A при наявності ЦД ($p < 0,05$). При аналізі АДФ-індукованої агрегації було відмічено, що реакція тромбоцитів досліджуваних підгруп хворих на цей індуктор була майже однаковою за ступенем з КГ. Слід відмітити, що менш пригнічений показник ступеня АДФ-агрегації був саме при наявності супутнього ЦД – на 34,5% вищий за аналогічний показник у групі I, що наводить на думку про гіршу реакцію пацієнтів з коморбідною патологією на антитромбоцитарне лікування клопідогрелем. В ряді досліджень було показано, що у хворих на ІХС та ЦД при прийомі ПАТТ все ж таки спостерігається висока залишкова реактивність тромбоцитів [179, 180].

Вивчення активності тромбоцитів у хворих з ХКС дозволило виявити статистично значущі зміни лише у показника ступеня СпАТ у підгрупі G/G, який на 37,5% був вищим за КГ ($p < 0,01$). Оцінюючи результати АК- та АДФ-

індукованої агрегації тромбоцитів було відмічено, що реакція тромбоцитів досліджуваних підгруп пацієнтів на вказані індуктори була майже однаковою за ступенем та швидкістю з КГ. Показник ступеня АК-індукованої агрегації зазнав вірогідних змін в обох поліморфізмах при наявності ЦД ($p < 0,001$ та $p < 0,01$, відповідно), і був більшим на 33,8% у підгрупі з G/A генотипом у порівнянні з КГ ($p < 0,05$), що може свідчити про недостатню відповідь на використання АСК у групі IV. Показник ступеня АДФ-індукованої агрегації продемонстрував достовірну різницю, навпаки, у підгрупі з G/G генотипом ($p < 0,05$). Отримані нами результати співставні з роботами останніх років, в яких велика увага приділяється пошуку можливих причин порушення тромбоцитарного гемостазу і боротьбі з резистентністю до антитромбоцитарних препаратів у хворих на ЦД [181, 182].

Аналізуючи отримані дані було встановлено, що немає жодних достовірних зв'язків між показниками тромбоцитарного гемостазу та G455A поліморфізмом гена FGB як у групі хворих на ГКС, так і ХКС, що знайшло підтвердження у вище згаданих роботах серед популяції Європи, Африки та Америки [178].

Досліджуючи ланки плазмового гемостазу у когорті хворих на ГКС спостерігається достовірне вкорочення показника ПТЧ відносно контролю ($p < 0,01$) з найбільш пригніченим рівнем у підгрупі з генотипом G/A-A/A, що підтверджувалося прискоренням згортання на 16,8% у порівнянні із підгрупою G/G ($p < 0,01$). Також, статистично значущого вкорочення на 10,1% набув показник АЧТЧ у підгрупі з мутованим А-алелем у порівнянні з G/G генотипом ($p < 0,05$). Для показника ТЧ не виявлено залежності від генотипу за G455A поліморфізмом гена FGB ($p > 0,05$). При аналізі I та II групи пацієнтів виявлено, що супутній ЦД мав достовірний вплив на всі ланки плазмового гемостазу. Показник ПТЧ хоч і не зазнав статистичної різниці при міжгруповому аналізі, однак був вкороченим у порівнянні з КГ. ТЧ також був вкорочений по відношенню до контрольних значень, але мав

і особливу залежність при наявності ЦД. Так, при генотипі G/G ТЧ у підгрупі хворих з ЦД був вкорочений на 22,6%, ніж у підгрупі без ЦД ($p < 0,001$), а при генотипі G/A-A/A - на 40% ($p < 0,01$). Показник АЧТЧ при генотипі G/G також продемонстрував достовірне вкорочення на 19,5% у порівнянні з підгрупою хворих з ізольованим перебігом ГКС ($p < 0,001$).

При міжгруповому порівнянні показника вмісту ФГ статистичної різниці не виявлено, однак він був достовірно вищий при обох генотипах у порівнянні з контролем ($p < 0,01$). Серед літературних даних виявлена думка про асоціацію підвищеного вмісту ФГ з рівнем С-реактивного білка та інтерлейкіну-6 у плазмі крові [183]. Це може свідчити про те, що порушення кровообігу через збільшення рівня ФГ відбувається не лише через ризик тромбозу, а й через постійну циркуляцію молекул запалення та реактивність ендотелію судин [175]. Слід зазначити, що найвищий рівень ФГ був знайдений нами саме в підгрупах поєданого перебігу ГКС та ЦД. При генотипі G/G рівень ФГ був на 31,1% вищим у групі II ($p < 0,001$), а при генотипі G/A-A/A – на 33,7% ($p < 0,05$). Вміст РФМК не залежав від генотипу за G455A поліморфізмом гена FGB, однак суттєво перевищував контрольні значення ($p < 0,01$ для обох випадків). Але у підгрупі хворих на ГКС та ЦД спостерігалось зростання РФМК на 60,2% при G/G генотипі ($p < 0,001$) та на 79,8% при мутації А-алелі ($p < 0,01$). Таким чином, нами було відмічено збільшення активності фібриноутворення у хворих на ГКС при наявності супутнього ЦД. В деяких літературних даних висловлена думка про те, що окрім ЦД, наявність супутньої АГ підвищує вміст ФГ та РФМК в крові та впливає на агрегаційну здатність тромбоцитів, що може бути співставно з отриманими нами результатами, враховуючи клінічну характеристику досліджуваних хворих [184].

Досліджуючи показники власної антикоагулянтної та фібринолітичної системи організму виявлена відсутність вірогідної різниці між генотипами за G455A поліморфізмом гена FGB. Проте показники АТІІІ,

PrC та XIIa-3F продемонстрували суттєву залежність як від наявності ЦД та від мутації А-алелі. Кожен показник достовірно відрізнявся від КГ в усіх генотипах, особливо при наявності ЦД.

У когорті хворих на ХКС показник ПТЧ був на 15,3% більш пригніченим у підгрупі з G/A генотипом ($p < 0,001$). У той же час вміст ФГ був достовірно вищим за контрольні значення в обох генотипах ($p < 0,001$ відповідно) і також мав вірогідну різницю між підгрупами – наявність А-алелі на 20% підвищувала рівень ФГ у пацієнтів з G/A генотипом ($p < 0,001$). Також статистично значущим виявилось подовження XIIa-3F у підгрупі G/A генотипу – на 5,4% ($p < 0,05$).

Наявність ЦД суттєво вплинула на вкорочення показників ПТЧ та ТЧ при обох варіантах генотипів за G455A поліморфізмом гена FGB. Так, при генотипі G/G показник ПТЧ у підгрупі з ЦД був на 24,7% більш пригніченим, ніж у підгрупі без ЦД ($p < 0,001$), а при генотипі G/A – на 10,9% ($p < 0,05$). Показник ТЧ продемонстрував аналогічні зміни: при генотипі G/G наявність ЦД на 19% зменшувала його ($p < 0,001$), а при генотипі G/A – на 24,4% ($p < 0,01$). Показник АЧТЧ зазнав суттєвої різниці лише у підгрупі з G/G генотипом і був на 12,5% більш вкороченим при коморбідному перебігу ХКС ($p < 0,01$), що підтверджує більш значиму активацію системи прокоагуляції при наявності супутнього ЦД.

Рівень ФГ достовірно відрізнявся як від КГ, так і при міжгруповому аналізі, а саме, зростання рівня ФГ відмічено при наявності ЦД в обох генотипах за G455A поліморфізмом гена FGB: при G/G – на 16,9% ($p < 0,001$), а при G/A – на 19,5% ($p < 0,05$). Відповідних змін зазнав і рівень РФМК при обох генотипах, який був підвищеним на 66,7% в підгрупі з ЦД у порівнянні з підгрупою без ЦД при G/G генотипі ($p < 0,001$) та достовірно відрізнявся на 50,6% при G/A генотипі ($p < 0,01$). Такі зміни знайшли підтвердження у науковій публікації Лисютенко Н.С. та співавторів, яка стверджувала, що супутній ЦД сприяє активації коагуляційної ланки гемостазу і, як наслідок,

збільшення вмісту в крові РФМК [185]. Той факт, що ця закономірність не реалізується у пацієнтів без ЦД, може свідчити про більш високу активність протизгортуючої системи крові в цій групі пацієнтів.

Що стосується показника ХПа-ЗФ, то він продемонстрував достовірний вплив коморбідної патології при обох генотипах та був подовженим на 41,4% у G/G генотипі ($p < 0,001$) та на 39,9% - при G/A ($p < 0,01$).

У когортах хворих як з ГКС, та і з ХКС нативний G/G генотип FII був присутній у 95% пацієнтів ($n=57$ в обох групах). Генотип G/A у когорті хворих на ГКС зустрічався у 2 пацієнтів – 3,3%, а з гомозиготною мутацією у цій же групі був лише 1 пацієнт – 1,7%. У когорті хворих з хронічним перебігом ІХС не виявлено жодного пацієнта з гомозиготною мутацією А-алелі, а ось з G/A мутацією – троє – 5%. Відсутність різниці частоти мутованих генотипів може бути пояснена низьким відсотком його зустрічальності в популяції. Так, за даними деяких авторів мутація G20210A гена FII присутня приблизно у 2% населення, призводить до підвищення рівня протромбіну у плазмі та збільшує ризик венозного тромбозу приблизно втричі [186].

При оцінці залежності G20210A поліморфізму гена FII та агрегаційної здатності тромбоцитів у групі хворих на ГКС нашу увагу привернув лише показник ступеня СпАТ, який достовірно відрізнявся від КГ в обох підгрупах обстежених хворих ($p < 0,01$), а найвищий показник зафіксований у підгрупі з А-алелем, що в 4,5 рази перевищував контрольне значення ($p < 0,01$). Показник ступеня АК-індукованої агрегації тромбоцитів достовірно відрізнявся від КГ також лише при генотипі G/A-A/A та був більш пригніченим на 40,1% ($p < 0,05$). Інші показники тромбоцитарного гемостазу не зазнали достовірних змін.

Аналіз активності тромбоцитарної ланки хворих на ХКС при обох генотипах за G20210A поліморфізмом гена FII продемонстрував відсутність достовірної різниці між показниками та при порівнянні з КГ ($p > 0,05$). Серед

показників СпАТ простежується тенденція до зростання як ступеню, так і швидкості при появі А-алелі. Оцінюючи результати індукованої агрегації тромбоцитів у хворих на ХКС було відмічено, що у пацієнтів з генотипом G/A-A/A спостерігалася тенденція до зростання ступеня індукованої агрегації, однак без статистичної вірогідності. У роботі Сибіревої О.Ф. [187] знайдено підтвердження наших даних про те, що мутація G20210A гена FII пов'язана з гіперактивацією тромбоцитів. Однак при проведенні кореляційного аналізу ми встановили, що немає жодних достовірних зв'язків між показниками тромбоцитарного гемостазу та G20210A поліморфізмом гена FII як у групі хворих на ГКС, так і ХКС, підтвердженням чого слугують суперечливі результати, пов'язані з внеском гена протромбіну за поліморфізмом G20210A у розвиток ІХС та їх асоціації з ЦД [188].

Серед показників плазмового гемостазу у когорті хворих на ГКС ПТЧ мав тенденцію до вкорочення в обох підгрупах, однак достовірно лише в підгрупі мутованого генотипу – на 40,7% відносно КГ ($p < 0,01$). ТЧ також був вкорочений у підгрупі з генотипом G/A-A/A, що продемонстровано прискоренням згортання на 31,6% у порівнянні із КГ ($p < 0,05$). У цій же підгрупі статистично значущих змін набув показник АЧТЧ, що був на 21,5% меншим по відношенню до КГ ($p < 0,05$). При міжгруповому аналізі когорти хворих на ХКС показник ПТЧ не зазнав статистичної різниці, однак у підгрупі з G/A-A/A генотипом був достовірно більш вкороченим на 31,9% у порівнянні з КГ ($p < 0,05$). ТЧ також був вкорочений на 41,8% по відношенню до контрольних значень у мутованому генотипі ($p < 0,05$). При цьому ж генотипі показник АЧТЧ продемонстрував достовірне вкорочення на 28,2% у порівнянні з КГ ($p < 0,05$). Отримані зміни нашої думки про активацію коагуляційної ланки гемостазу у пацієнтів з мутованим генотипом за G20210A поліморфізмом гена FII, що не знайшло відображення у літературі попередніх років та озвучене нами вперше.

В той же час рівень ФГ у когорті хворих на ГКС не продемонстрував залежності від G20210A поліморфізму гена FII, проте відмічена достовірна різниця на 48,3% між G/A-A/A генотипом та КГ ($p < 0,05$). Аналогічні дані отримані в роботі G.Lavigne-Lissalde et al, автор вказував на те, що у пацієнтів з тромбозами рівень ФГ у плазмі крові був значно вищим при обох генотипах за G20210A поліморфізмом гена FII порівняно з КГ ($P = 0,0018$) [189]. При міжгруповому порівнянні показник вмісту РФМК серед хворих на ГКС не залежав від генотипу, однак суттєво перевищував контрольні значення ($p < 0,01$ для обох випадків). Вміст ФГ у когорті хворих на ХКС був вищим за КГ в обох генотипах, але мав вірогідну різницю лише при наявності А-алелі, що на 55,2% перевищував рівень ФГ у КГ ($p < 0,05$). Спостерігалось зростання РФМК в 2,2 рази при G/G генотипі та в 2,3 рази при появі А-алелі у порівнянні з КГ ($p < 0,01$) для обох випадків, що підтверджується вищенаведеними даними літератури.

Показник ПрС у підгрупі з гомозиготним G-генотипом когорти хворих на ГКС був на 46,7% меншим за КГ ($p < 0,05$), а ось АТШ був більш пригнічений у підгрупі з мутованим генотипом – на 22,2% ($p < 0,05$). Отриманий нами показник АТШ узгоджується з даними літератури у дослідженні O.M.Hendy et al, натомість автори вказують на пригнічення ПрС при наявності А-алелі за G20210A поліморфізмом гена FII, що йде всупереч нашій роботі [186]. Показник фібринолітичного потенціалу також не мав достовірних змін при міжгруповому аналізі, однак у підгрупі з генотипом G/G виявився майже в 2 рази ($p < 0,01$) довшим, а при G/A-A/A генотипі – в 1,8 разів довшим за КГ ($p < 0,01$). Статистично значимих відмінностей між показниками плазмового гемостазу у підгрупах хворих з різними поліморфізмами виявлено не було.

Показники АТШ, ПрС та ХІа-3Ф у когорті з хронічним перебігом ІХС продемонстрували суттєву залежність від наявності мутації А-алелі у порівнянні з КГ. В результаті міжгрупового аналізу виявлено достовірне

пригнічення ПрС при G/A-A/A генотипі на 27,2% ($p < 0,05$). Також статистично значущим по відношенню до контрольних значень виявилось подовження XIIa-3Ф у підгрупі G/G генотипу – на 63,8% ($p < 0,01$).

Оцінка кореляційних зв'язків в групі хворих на ГКС не виявила жодного достовірних залежностей між показниками згортуючої, протизгортуючої системи крові та G20210A поліморфізмом гена FII, однак у групі хворих на ХКС виявлений достовірний слабкий негативний зв'язок між показником ПрС та мутацією за G20210A поліморфізмом гена FII. Такі результати можуть свідчити про низьку вірогідність впливу G20210A поліморфізму гена FII на розвиток ІХС з або без супутнього ЦД. Про подібні знахідки повідомляли інші дослідники: A.Inbal et al [190] та Y.Yamada et al [191] встановили, що генотипи за G20210A поліморфізмом гена FII не були пов'язані з підвищеним ризиком виникнення тромботичних подій. Частота G20210A поліморфізму гена протромбіну не відрізнялася між пацієнтами та контрольними групами у дослідженні Almawi et al. [192]. Проте всупереч цим даним йде дослідження Rosendaal et al [193], який продемонстрував зв'язок між G20210A поліморфізмом гена FII та підвищеним ризиком розвитку тромботичних подій у молодих жінок. Отже, враховуючи суперечливі дані, потрібні подальші дослідження за участю більшої кількості пацієнтів для підтвердження їх асоціації.

Останній розділ власних досліджень присвячений оцінці ефективності антитромбоцитарного лікування хворих на різні форми ІХС у поєднанні з ЦД. Для оцінки тромбоцитарної реакції на застосування клопідогрелю та її співставлення з особливостями генотипу пацієнта нами проводилось вивчення G681A поліморфізму гена CYP2C19, який відповідає за метаболізм клопідогрелю. Генотипування хворих дозволило виявити, що у 73,3% пацієнтів когорти хворих на ГКС та у 86,4% когорти хворих на ХКС переважав генотип G/G. Знайдені особливості узгоджуються із даними літератури відносно розповсюдження G681A поліморфізму гена CYP2C19 у

популяції [194]. Також в дослідженнях попередніх років відмічена широка варіабельність нефункціональної А-алелі в різних популяціях, від 13% - в європеоїдній та до 40% - в монголоїдній [195], що підтверджує знайдені нами частоти для українського населення.

Ступінь СпАТ серед пацієнтів з G/A-A/A генотипом перевищував контрольні значення в 4,6 рази ($p < 0,001$). При порівнянні з відповідним показником у пацієнтів з G/G генотипом було виявлено, що наявність А-алелі не мала достовірного впливу на збільшення СпАТ. Слід зазначити, що у підгрупі хворих з G/G генотипом цей показник був у 3 рази вищий за КГ ($p < 0,001$). Оскільки, саме СпАТ найбільш точно відображає стан початкових ланок активації кров'яних пластинок, можна зробити висновок, що незважаючи на лікування антитромбоцитарними препаратами у пацієнтів спостерігається недостатній ефект клопідогрелю.

Ступінь та швидкість АК-індукованої агрегації тромбоцитів була суттєво нижчою за контрольні значення в усіх підгрупах, однак не відрізнялася між підгрупами пацієнтів з різними генотипами. Вивчаючи ступінь та швидкість АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів не виявлено статистично значущих змін ні у порівнянні з КГ, ні при міжгруповому аналізі. Нещодавні дослідження виявили зниження інгібування тромбоцитів та підвищення серцево-судинного ризику у пацієнтів, що отримували клопідогрель та були носіями хоча б однієї алелі гена за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 зі зниженою функцією [196].

Для оцінки впливу ЦД на ефективність пригнічення функціональної активності тромбоцитів клопідогрелем у носіїв різних алельних варіантів за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 порівняли когорти хворих з ЦД та без нього між собою, та виявили, що у групі з комбінованою патологією та при носійстві G/A-A/A генотипу аналогічна різниця ступеня АДФ-агрегації становила 72,6% ($p < 0,01$). Шанс зустріти високий ступінь АДФ-індукованої агрегації серед носіїв А-алелі за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 з ЦД

майже у 17 разів достовірно перевищував групу пацієнтів з ізольованим перебігом ІХС (ВШ=16,667 (2,273 – 122,218), $p=0,009$), продемонструвавши високу чутливість ($Se=76,9\%$) та специфічність ($Sp=83,3\%$) методу. Отже, у пацієнтів з порушенням вуглеводного обміну вищий ризик тромботичних ускладнень на фоні прийому клопідогрелю у порівнянні з групою без коморбідної патології.

В сучасній клінічній практиці, не дивлячись на ефективність ПАТТ в попередженні тромботичних ускладнень, не втрачає актуальності проблема резистентності до клопідогрелю та АСК, в тому числі обумовлене генетичними факторами. Проте в нашій роботі ми визначили, що носійство А-алелі за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 не є визначальною у формуванні стійкої клопідогрелерезистентності. Однак, підвищена ступінь АДФ-агрегації у серед пацієнтів з ХКС, що приймали клопідогрель, є фактором ризику віддалених тромботичних ускладнень. Очевидно, що вказаний препарат має й інші механізми впливу на кров'яні пластинки. Цікавим також був той факт, що АК-індукована агрегація була практично однаковою в обох підгрупах пацієнтів з ХКС, що може свідчити про відсутність впливу G681A поліморфізму CYP2C19 на тромбоцитарну відповідь на АСК у цій когорті пацієнтів.

Отримані в нашому дослідженні дані показали, що вибірка хворих на ІХС та супутній ЦД, що мали мутований А-алель були менш чутливі до дії клопідогреля, що проявлялося у більш високому ступені АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів. В той же час припускаємо, що не тільки генетичний поліморфізм є предиктором тромботичних ускладнень [197, 198]. Відомо, що при ЦД виникають гемокоагулятивні порушення, що характеризуються підвищенням агрегаційної активності тромбоцитів. Не дивлячись на доведений вплив мутованого генотипу за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 залишається відкритим питання корекції антиагрегантної терапії у носіїв певних алелей цього гену.

Результати аналізу тромбоцитарного гемостазу у хворих на ІХС та його зв'язки з геном глікопротеїнових рецепторів до ФГ дозволило дійти висновків, що Т1565С поліморфізм гена ІТGB3 у хворих на гостру та хронічну ІХС не асоціюється із наявністю супутнього ЦД. Ступінь спонтанної агрегації тромбоцитів має чітку залежність із генотипом за Т1565С поліморфізмом гена ІТGB3, при цьому наявність С-алелі супроводжується збільшенням агрегаційної здатності, максимальні значення якої спостерігаються у випадку гомозиготної С/С мутації. Наявність у когорті хворих на ІХС С-алелі за Т1565С поліморфізмом гена ІТGB3, особливо гомозиготної форми, супроводжувалась прискоренням згортання крові у порівнянні з нативним генотипом, що підтверджувалось підвищеним рівнем ФГ. Проте ступінь змін фібринолітичної ланки не залежав від мутацій за Т1565С поліморфізмом гена ІТGB3. Загальна спрямованість гемостазіологічних зрушень у когорті хворих на ІХС та її асоціації з Т1565С поліморфізмом гена ІТGB3 практично не відрізнялась від групи з ІКС, що підвищує значимість виявлених зв'язків.

Результати аналізу тромбоцитарного гемостазу у хворих на ІХС та його зв'язки з G455A поліморфізмом гена FGB дозволило дійти висновків, що генотипи у хворих на гостру та хронічну ІХС не асоціюється із наявністю супутнього ЦД. Проте супутній ЦД мав неоднорідний вплив на показники тромбоцитарного гемостазу обох груп хворих. Нами не було виявлено впливу наявності А-алелі за G455A поліморфізмом гена FGB на показники тромбоцитарного гемостазу, в зв'язку з відсутністю статистично значимих змін між досліджуваними підгрупами.

Наступні висновки торкнулися показників плазмового гемостазу при вивченні генотипів за G455A поліморфізмом гена FGB. У групі хворих на ІКС спостерігалось посилення активності згортання крові за зовнішнім шляхом при будь-якому генотипі, свідченням чого було вкорочення показника ПТЧ, а наявність супутнього ЦД суттєво вплинула на

пригнічення показників антикоагулянтної та фібринолітичної системи крові. У когорті хворих на ХКС була підтверджена більш значима активація системи прокоагуляції при наявності супутнього ЦД та звернула на себе увагу динаміка змін рівня ФГ при обох варіантах поліморфізму, особливо з мутованим А-алелем, що і підкреслює значення вивчення G455A поліморфізму гена FGB у цій популяції хворих.

Вивчення G20210A поліморфізму гена FII та аналіз їх впливу на тромбоцитарно-плазмовий гемостаз у пацієнтів з ГКС та ХКС дозволило дійти наступних висновків. Враховуючи специфічний розподіл генотипів серед обстеженої когорти хворих дослідження впливу супутнього ЦД виявилось статистично недоцільним. При міжгрупових аналізах показників тромбоцитарно-плазмового гемостазу не виявлено жодних статистично значущих залежностей. Лише при наявності А-алелі показники плазмового гемостазу достовірно відрізнялися від КГ. Саме в цій підгрупі хворих була продемонстрована активація коагулятивних процесів та подовження фібринолітичних як у групі хворих на ГКС, так і на ХКС, а особливістю для групи ХКС стало пригнічення системи ПрС.

Отже, в дисертаційній роботі було досліджено особливості змін тромбоцитарного та плазмового гемостазу у хворих на різні форми ІХС із супутнім ЦД, вивчено генотипи G20210A поліморфізму гена FII, G455A поліморфізму гена FGB, T1565C поліморфізму гена ITGB3, G681A поліморфізму гена CYP2C19 та проаналізовано їх превалювання при різних формах ІХС, а також досліджено гемокоагуляційні зміни для виявлення впливу вказаних генотипів на тромбоцитарну та плазмову ланки гемостазу. В роботі встановлено ефективність застосування антитромбоцитарної терапії клопідогрелем на підставі носійства різних генотипів за G681A поліморфізмом гена CYP2C19.

ВИСНОВКИ

Серед дорослого населення України, що хворіє на ІХС, спостерігається неухильне зростанням числа хворих на супутній ЦД. Коморбідний перебіг гострих та хронічних форм ІХС та ЦД у зв'язку із взаємообтяжуючими факторами впливу на активацію тромбоутворення обумовлює діагностичну цінність дослідження генетичної складової стану тромбоцитарної та плазмової ланок гемостазу, як підґрунтя персоналізованого підходу до призначення антитромботичного лікування, що становить одне з найактуальніших завдань сучасної кардіології.

1. Отримані результати продемонстрували активацію тромбоцитарної ланки гемостазу у хворих на ГКС, що підтверджувалося ступенем СпАТ, що був у 2,5 рази вище за КГ ($p < 0,001$). Однак, відмітимо, що і у групі хворих на ХКС цей показник перевищує контрольні дані в 1,3 рази ($p < 0,001$), в той час як при супутньому ЦД на фоні значно збільшеної у 4,6 разів СпАТ зберігається пригнічена відповідь на АК-індуктор та високі значення АДФ-агрегації.

2. Активація згортуючої ланки супроводжується вкороченням ПТЧ, ТЧ, АТЧТ серед усіх обстежених хворих з найбільш значимими змінами у пацієнтів з коморбідним перебігом ГКС. Зменшення протизгортуючої активності крові у хворих на ГКС та ЦД характеризується гальмуванням системи АТШ на 27,5%, ПрС на 16% та фібринолізу на 56,3% ($p < 0,001$), що поглиблює прокоагулянтні зміни у вигляді збільшення рівня фібриногену на 22,4% відносно групи ізольованого перебігу ГКС ($p < 0,001$), при цьому у хворих на ХКС та ЦД спостерігаються подібні зміни, підтверджує наявність тромбофілії як при гострому, так і при хронічному перебігу коронарного синдрому на тлі ЦД.

3. У хворих на ГКС та ХКС А-алель за G455A поліморфізмом гена FGB та G20210A поліморфізмом гена FII зустрічаються з однаковою

частотою, натомість при ГКС вірогідність С-генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 – 28% проти 12% при ХКС ($p<0,01$), а також частіше зустрічається А-алель за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 – 27% проти 14% ($p<0,01$), при цьому жоден генотип не асоціюється із наявністю супутнього ЦД.

4. Наявність С/С генотипу за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 супроводжується вираженою активацією СпАТ у 5,5 разів ($p<0,001$) у когорті хворих на ГКС та у 2,5 разів ($p<0,05$) серед хворих на ХКС, а ось зростання показника ступеню та швидкості АК- та АДФ-індукованої агрегації з появою С-алелі не має достовірної міжгрупової різниці. Генотипи за G455A поліморфізмом гена FGB та G20210A поліморфізмом гена FII не мають суттєвого впливу на показники тромбоцитарного гемостазу, незалежно від супутнього ЦД, проте, у пацієнтів з гострим порушенням коронарного кровообігу спостерігається тенденція до активації СпАТ при появі А-алелі.

5. Виявлення С-алелі за T1565C поліморфізмом гена ITGB3 асоціюється із прискоренням згортання крові у порівнянні з нативним генотипом, незалежно від змін фібринолітичної ланки. Активація гемокоагуляції при появі А-алелі за G455A поліморфізмом гена FGB у групі хворих на ГКС проявляється вкороченням ПТЧ на 16,8% та АЧТЧ на 10,1% ($p<0,05$), а наявність супутнього ЦД має більший вплив на антикоагулянтну та фібринолітичну ланки, що супроводжується зростанням на 20% ($p<0,05$) рівня ФГ при наявності А-алелі при стабільних формах ІХС. Особливістю для групи ХКС є пригнічення системи ПрС на 27,2% при наявності А-алелі за G20210A поліморфізмом гена FII ($p<0,05$).

6. Носії А-алелі за G681A поліморфізмом гена CYP2C19 з коморбідним перебігом ІХС та ЦД, незважаючи на прийом клопідогрелю, мали високий ступінь АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів значно частіше, ніж у пацієнтів з ізольованим перебігом ІХС ($ВШ=16,667$; 95% ДІ: 2,273 – 122,218; $p=0,009$) при високій Se (76,9%) та Sp (83,3%) показника, що

може свідчити про меншу ефективність лікування клопідогрелем у цій когорті хворих.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. У хворих на ішемічну хворобу серця та цукровий діабет 2-го типу з метою оцінки функціональної активності тромбоцитів на тлі прийому антитромбоцитарної терапії необхідно розглянути питання використання результатів оцінки ступеня спонтанної агрегації, як маркера тромбофілії та АК- та АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів, вибір яких залежить від особливостей дії антиагрегантних препаратів.
2. З метою підвищення ефективності антитромбоцитарної терапії інгібітором P2Y₁₂ у хворих на гострий та хронічний коронарний синдром у поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу може мати практичне значення генотипування для визначення G681A поліморфізму гена CYP2C19, при оцінці якого слід враховувати, що наявність А-алелі призводить до зниженої чутливості до дії клопідогрелю, що підтверджується високим ступенем АДФ-індукованої агрегації тромбоцитів.
3. Молекулярно-генетичне тестування генів-кандидатів може мати суттєве значення для персоналізації лікування, а потенційно інформативним є визначення T1565C поліморфізму гена ITGB3, оскільки наявність С-алелі супроводжується збільшенням агрегаційної здатності тромбоцитів, максимальні значення якої спостерігаються у випадку гомозиготного С/С генотипу, що необхідно для контролю розвитку тромботичних ускладнень у коморбідних хворих.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ:

1. Зупанець, І. А., Герасименко, О. В., & Стрельнікова, Д. С. (2016). Сучасні стратегії лікування ішемічної хвороби серця при супровідному цукровому діабеті 2 типу: від теоретичних рекомендацій до практичного втілення. *Acta medica Leopoliensia*, (22, № 1), 50-55.
2. Михайловская, Н. С., Шевченко, И. О., & Никитюк, О. В. (2015). Клинические особенности ишемической болезни сердца у женщин в постменопаузальном периоде в зависимости от степени нарушения минеральной плотности костной ткани. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*, (2), 62-67.
3. Коваленко, В. М., & Корнацький, В. М. (2016). Проблеми здоров'я і медичної допомоги та модель покращення в сучасних умовах: Посібник. *Київ: Гордон*.
4. Karuranga, S., da Rocha Fernandes, H. Y., & Malanda, B. (2018). IDF Diabetes Atlas 8th Edition. International Diabetes Federation.
5. American Diabetes Association (2019) Cardiovascular Disease and Risk Management: Standards of Medical Care in Diabetes – Diabetes Care, 42 (Suppl. 1): S103–S123.
6. Lloyd-Jones D.M., Braun L.T., Ndumele C.E. et al. (2019) Use of Risk Assessment Tools to Guide Decision-Making in the Primary Prevention of Atherosclerotic Cardiovascular Disease: A Special Report From the American Heart Association and American College of Cardiology. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 73(24): 3153–3167.
7. Inzucchi V.E., Khunti K., Fitchett D. et al. (2019) 19-LB: Consistent Cardiovascular (CV) Benefits from Empagliflozin across the Spectrum of CV Risk Factor Control: Post Hoc Analysis from EMPA-REG OUTCOME Diabetes, 68(Suppl. 1). doi.org/10.2337/db19-19-LB.

8. King, R. J., & Grant, P. J. (2016). Diabetes and cardiovascular disease: pathophysiology of a life-threatening epidemic. *Herz*, 41(3), 184-192
9. Sowers, J. R. (2013). Diabetes mellitus and vascular disease. *Hypertension*, 61(5), 943-947.
10. Дедов, И. И., Шестакова, М. В., Викулова, О. К., Железнякова, А. В., & Исаков, М. А. (2018). Сахарный диабет в Российской Федерации: распространенность, заболеваемость, смертность, параметры углеводного обмена и структура сахароснижающей терапии по данным Федерального регистра сахарного диабета, статус 2017 г. *Сахарный диабет*, 21(3).
11. BirhanYilmaz, M., Guray, U., Guray, Y., Altay, H., Demirkan, B., Caldir, V., ... & Korkmaz, S. (2005). Metabolic syndrome is associated with extension of coronary artery disease in patients with non-ST segment elevation acute coronary syndromes. *Coronary artery disease*, 16(5), 287-292.
12. Maschirow, L., Khalaf, K., Al-Aubaidy, H. A., & Jelinek, H. F. (2015). Inflammation, coagulation, endothelial dysfunction and oxidative stress in prediabetes—Biomarkers as a possible tool for early disease detection for rural screening. *Clinical biochemistry*, 48(9), 581-585.
13. Дедов, И. И., Шестакова, М. В., & Викулова, О. К. (2015). Государственный регистр сахарного диабета в Российской Федерации: статус 2014 г. и перспективы развития. *Сахарный диабет*, 18(3).
14. Чернявська, І. В. (2016). Профіль чинників ризику кардіоваскулярних ускладнень при ішемічній хворобі серця в осіб із нормальним і порушеним вуглеводним обміном. *Міжнародний ендокринологічний журнал*, (3 (75)), 27-31.
15. Buse, J. B., Ginsberg, H. N., Bakris, G. L., Clark, N. G., Costa, F., Eckel, R., ... & Pignone, M. P. (2007). American Heart Association; American

- Diabetes Association. Primary prevention of cardiovascular diseases in people with diabetes mellitus: a scientific statement from the American Heart Association and the American Diabetes Association. *Diabetes Care*, 30(1), 162-172.
16. Попруга, А. О. (2015). Гендерні та вікові особливості клінічного перебігу цукрового діабету 2 типу у поєднанні з ішемічною хворобою серця. *Актуальні проблеми сучасної медицини*, (15, Вип. 2), 116-121.
 17. Попруга, А. О., Стародубцев, С. Г., & Бобирьова, Л. Є. (2016). Особливості клінічного перебігу ішемічної хвороби серця у хворих на цукровий діабет 2-го типу залежно від віку і статі. *Сімейна медицина*, (3), 89-93.
 18. Шестакова, М. В., Чазова, И. Е., & Шестакова, Е. А. (2016). Российское многоцентровое скрининговое исследование по выявлению недиагностированного сахарного диабета 2 типа у пациентов с сердечно-сосудистой патологией. *Сахарный диабет*, 19(1), 24-29.
 19. Кондратьева, Е. И., Суханова, Г. А., Литвинова, Л. С., Кириенкова, Е. В., Кретьова, Е. И., & Затолокин, П. А. (2011). Влияние возраста и пола на показатели коагуляционного и сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у больных сахарным диабетом 2-го типа. *Клиническая лабораторная диагностика*, (8), 41-43.
 20. Кузник, Б., Витковский, Ю. А., Захарова, М. Ю., Ключерева, Н. Н., Роднина, О. С., & Солпов, А. В. (2012). Агрегационная активность форменных элементов крови у больных сахарным диабетом 1 и 2 типа. *Сахарный диабет*, (2), 49-53.
 21. Vazzana, N., Ranalli, P., Cuccurullo, C., & Davì, G. (2012). Diabetes mellitus and thrombosis. *Thrombosis research*, 129(3), 371-377.
 22. American Diabetes Association. (2018). 2. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes—2018. *Diabetes care*, 41(Supplement 1), S13-S27.

23. Фадєєнко, Г. Д., Несен, А. О., & Бабенко, О. В. (2016). Можливості прогнозування і профілактики розвитку коморбідності серцево-судинних захворювань і цукрового діабету 2 типу в популяції осіб підвищеного кардіоваскулярного ризику. *Український терапевтичний журнал*, (2), 14-21.
24. Чернявська, І. В. (2016). Профіль чинників ризику кардіоваскулярних ускладнень при ішемічній хворобі серця в осіб із нормальним і порушеним вуглеводним обміном. *Міжнародний ендокринологічний журнал*, (3), 27-31.
25. Cosentino, F., Grant, P. J., Aboyans, V., Bailey, C. J., Ceriello, A., Delgado, V., ... & Huikuri, H. V. (2020). 2019 ESC guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: the task force for diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of cardiology (ESC) and the European association for the study of diabetes (EASD). *European heart journal*, 41(2), 255-323.
26. Sarwar, N., Gao, P., Seshasai, S. R., Gobin, R., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., ... & Stehouwer, C. D. (2010). Emerging Risk Factors Collaboration Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies. *Lancet*, 375(9733), 2215-2222.
27. Farkouh, M. E. (2018). Moving Beyond the Stent: Identifying the Percutaneous Coronary Intervention Patient With Silent Diabetes and Pre-Diabetes. *JACC. Cardiovascular interventions*, 11(5), 460.
28. von Birgelen, C., Kok, M. M., Sattar, N., Zocca, P., Doelman, C., Kant, G. D., ... & Stoel, M. G. (2018). "Silent" diabetes and clinical outcome after treatment with contemporary drug-eluting stents: the BIO-RESORT Silent Diabetes study. *JACC: cardiovascular interventions*, 11(5), 448-459.

29. Roffi, M., & Iglesias, J. F. (2017). CTO PCI in Patients With Diabetes Mellitus: Sweet Perspectives. *JACC. Cardiovascular interventions*, *10*(21), 2182-2184.
30. Лопина, Н. А. (2016). Влияние модифицируемых и немодифицируемых факторов риска на выраженность атеросклеротического поражения коронарных артерий у больных ишемической болезнью сердца в зависимости от наличия сахарного диабета 2 типа. *Український терапевтичний журнал*, (2), 86-96.
31. Маньковский, Г. Б. (2018). Диагностика нарушений углеводного обмена у больных с ишемической болезнью сердца. *Медичні перспективи*, *23*(2).
32. Ritsinger, V., Hero, C., Svensson, A. M., Saleh, N., Lagerqvist, B., Eeg-Olofsson, K., & Norhammar, A. (2018). Characteristics and prognosis in women and men with type 1 diabetes undergoing coronary angiography: a nationwide registry report. *Diabetes care*, *41*(4), 876-883.
33. Gnaniuc, L., Herrington, W. G., Halsey, J., Tuomilehto, J., Fang, X., Kim, H. C., ... & Leon, D. A. (2018). Sex-specific relevance of diabetes to occlusive vascular and other mortality: a collaborative meta-analysis of individual data from 980 793 adults from 68 prospective studies. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, *6*(7), 538-546.
34. Павлюкович, Н. Д., Шкробанець, І. Д., Буряк, О. Г., & Павлюкович, О. В. (2013). Особливості клінічного перебігу деяких форм ішемічної хвороби серця залежно від супутньої патології. *Клінічна та експериментальна патологія*, (12, № 3), 127-132.
35. Медведев, И. Н., & Завалишина, С. Ю. (2016). Выраженность тромбоцитарной активности у больных артериальной гипертонией 3-й степени при метаболическом синдроме. *Кардиология*, *56*(1), 48-48.

36. Naito, R., & Kasai, T. (2015). Coronary artery disease in type 2 diabetes mellitus: Recent treatment strategies and future perspectives. *World Journal of Cardiology*, 7(3), 119-124.
37. Азизов, В. А., Султанова, М. Д., & Гамишаев, Д. З. (2013). Особенности поражения коронарных сосудов у больных с ишемической болезнью сердца на фоне сахарного диабета. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*, (8, № 2), 109-112.
38. Authors/Task Force Members, Rydén, L., Grant, P. J., Anker, S. D., Berne, C., Cosentino, F., ... & Huikuri, H. (2013). ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: the Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *European heart journal*, 34(39), 3035-3087.
39. Ni, H. (2012). The platelet “sugar high” in diabetes. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 119(25), 5949-5951.
40. Журавлёва, Л. В., Лопина, Н. А., Кузнецов, И. В., Коноз, В. П., & Бондаренко, Д. А. (2016). Нарушения липидного обмена у пациентов с ишемической болезнью сердца в зависимости от наличия сахарного диабета 2 типа и характера поражения коронарных артерий. *Серце і судини*, (2), 63-71.
41. Фадєєнко, Г. Д., & Запровальна, О. Є. (2014). Роль ожиріння та цукрового діабету 2 типу у виникненні атеротромботичного ризику при ішемічній хворобі серця. *Український терапевтичний журнал*, (3-4), 28-36.
42. Proscia, C., Nusca, A., Simona, M., Rosetta, M., & Di Sciascio, G. (2015). Platelet reactivity and antiplatelet management in diabetic patients with coronary artery disease. *Interventional Cardiology*, 7(3), 283.

43. Золотухина, Ю. А. (2019). Особенности изменений антикоагулянтного и свертывающего звеньев системы гемостаза у пациентов с ишемической болезнью сердца в сочетании с сахарным диабетом 2-го типа. *Международный эндокринологический журнал*, 15(2).
44. Аметов, А. С., Петрик, Г. Г., Космачева, Е. Д., Картавенков, С. А., & Братчик, А. В. (2017). Предиабет и впервые выявленный сахарный диабет типа 2: метаболические аспекты и гемостаз. *Эндокринология: Новости. Мнения. Обучение*, (3 (20)).
45. Kaur, R., Kaur, M., & Singh, J. (2018). Endothelial dysfunction and platelet hyperactivity in type 2 diabetes mellitus: molecular insights and therapeutic strategies. *Cardiovascular diabetology*, 17(1), 1-17.
46. Ferroni, P., Basili, S., Falco, A., & Davì, G. (2004). Platelet activation in type 2 diabetes mellitus. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2(8), 1282-1291.
47. Павлова, Т. В., & Дуплякова, П. Д. (2019). Новые возможности улучшения прогноза у пациентов с хронической ишемической болезнью сердца и сахарным диабетом. *Кардиология: Новости. Мнения. Обучение*, (3 (22)).
48. Снігир, Н.В., Громович, А.В., Мацюк, Р.М., Аліфер, О.О. (2016). Корекція ендотеліальної дисфункції при ішемічній хворобі серця у поєднанні з цукровим діабетом. *Ліки України*, (3), 53-56.
49. Мальчевська, Т. (2007). Коагуляційні фактори ризику і лабораторні методи їх оцінки. *Журнал «Внутренняя медицина*, 6, 6.
50. Chen, X., Fang, L., Lin, H., Shen, P., Zhang, T., Li, H., ... & Lu, F. (2017). The relationship between type 2 diabetes and platelet indicators. *Iranian Journal of Public Health*, 46(9), 1211-1216.
51. Santilli, F., Simeone, P., Liani, R., & Davi, G. (2015). Platelets and diabetes mellitus. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 120, 28-39.

52. Kearney, K., Tomlinson, D., Smith, K., & Ajjan, R. (2017). Hypofibrinolysis in diabetes: a therapeutic target for the reduction of cardiovascular risk. *Cardiovascular Diabetology*, 1(16), 1-17.
53. Николаев, В. А. (2019). Инновационные технологии персонализированной медицины. *Forcipe*, 2(S3).
54. Passarino, G., De Rango, F., & Montesanto, A. (2016). Human longevity: Genetics or Lifestyle? It takes two to tango. *Immunity & Ageing*, 13(1), 1-6.
55. Silva-Sena, G. G., Camporez, D., Santos, L. R. D., Silva, A. S. D., Sagrillo Pimassoni, L. H., Tieppo, A., ... & Paula, F. D. (2018). An association study of FOXO3 variant and longevity. *Genetics and molecular biology*, 41(2), 386-396.
56. Карнишкина, О. Ю., Лещанкина, Н. Ю., & Трофимов, В. А. (2018). К вопросу распространения полиморфизмов некоторых генов гемостаза у пациентов с коронарным стентированием. *Врач-аспирант*, 87(2), 19-24.
57. Нетяженко, В. З., Пленова, О. М., Гаврилюк, О. П., & Таранчук, В. В. (2013). Тромбоемболія легеневої артерії: сучасні погляди на визначення ризику, етіопатогенез та клінічні прояви. *Медицина неотложных состояний*, (2 (49)).
58. Ляхоцька, А. В. (2019). Оптимізація діагностики, лікування та прогнозування перебігу гіпертонічної хвороби на тлі ішемічної хвороби серця з урахуванням чутливості до антитромбоцитарної терапії.
59. Гончар, А. Л., Моссэ, И. Б., Иванов, А. А., Моссэ, Н. И., & Моссэ, К. А. (2009). Полиморфные варианты генов системы тромбообразования и их роль в развитии инфаркта миокарда. *Артериальная гипертензия*, 15(4).
60. Маржа, О. М. (2016). Генетика ишемической болезни сердца: путь к этиологическим механизмам, новым мишеням терапии и более

персонализированной профилактике. *Кардиология: Новости. Мнения. Обучение*, (3 (10)).

61. Misra, A., Feng, Z., Chandran, R. R., Kabir, I., Rotllan, N., Aryal, B., ... & Tellides, G. (2018). Integrin beta3 regulates clonality and fate of smooth muscle-derived atherosclerotic plaque cells. *Nature communications*, 9(1), 1-13.
62. Verdoia, M., Casetti, E., Schaffer, A., Di Giovine, G., & De Luca, G. (2015). Platelet glycoprotein IIIa Leu33Pro gene polymorphism and coronary artery disease: A meta-analysis of cohort studies. *Platelets*, 26(6), 530-535.
63. Богатырева, К. Б., Азова, М. М., Агаджанян, А. В., Цховребова, Л. В., Аит, А. А., & Шугушев, З. Х. (2018). Ассоциация полиморфизма T1565C гена ITGB3 с развитием атеросклероза и ин-стент рестеноза коронарных артерий у пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца. *Научные результаты биомедицинских исследований*, 4(4), 3-9.
64. Knowles, J. W., Wang, H., Itakura, H., Southwick, A., Myers, R. M., Iribarren, C., ... & Hlatky, M. A. (2007). Association of polymorphisms in platelet and hemostasis system genes with acute myocardial infarction. *American heart journal*, 154(6), 1052-1058.
65. Цепокина, А. В., Понасенко, А. В., Хуторная, М. В., Жидкова, И. И., & Барбараш, О. Л. (2018). Особенности распределения аллелей и генотипов ITGB3 у пациентов с ИБС при наличии инфаркта миокарда. *Сибирское медицинское обозрение*, (2), 64-69.
66. Quinn, M. J., Plow, E. F., & Topol, E. J. (2002). Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors: recognition of a two-edged sword?. *Circulation*, 106(3), 379-385.
67. Jastrzebska, M., Lisman, D., Szelepajlo, A., Oledzki, S., Chelstowski, K., Clark, J. S., & Siennicka, A. (2019). Evaluation of platelet reactivity during combined antiplatelet therapy in patients with stable coronary artery disease

- in relation to diabetes type 2 and the GPIIB/IIIa receptor gene polymorphism. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 70(2), 175-185.
68. Kafian, S., Wallén, H., Samad, B. A., & Mobarrez, F. (2019). Microvesicles from patients with acute coronary syndrome enhance platelet aggregation. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 79(7), 507-512.
69. Grinshtein, Y. I., Kosinova, A. A., Grinshtein, I. Y., Subbotina, T. N., & Savchenko, A. A. (2018). The Prognostic Value of Combinations of Genetic Polymorphisms in the ITGB3, ITGA2, and CYP2C19* 2 Genes in Predicting Cardiovascular Outcomes After Coronary Bypass Grafting. *Genetic testing and molecular biomarkers*, 22(4), 259-265.
70. Tsantes, A. E., Taichert, M., Kyriakou, E., Katogiannis, K., Lytras, T., Gialeraki, A., ... & Poulis, A. (2019). The prognostic value of multiple electrode aggregometry and light transmittance aggregometry in stable cardiovascular patients with type 2 diabetes mellitus. *Thrombosis research*, 180, 47-54.
71. Floyd, C. N., Ellis, B. H., & Ferro, A. (2014). The PlA1/A2 polymorphism of glycoprotein IIIa as a risk factor for stroke: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 9(7), e100239.
72. Floyd, C. N., & Ferro, A. (2014). The PlA1/A 2 polymorphism of glycoprotein IIIa in relation to efficacy of antiplatelet drugs: a systematic review and meta-analysis. *British journal of clinical pharmacology*, 77(3), 446-457.
73. Salem, A. H. A., Hamed, A. E. S. A., Abdalla, E. M., & Almawi, W. (2014). Gene frequencies of human platelet alloantigens 1–5 in two Arab populations. *Blood Transfusion*, 12(Suppl 1), s281.
74. Komsa-Penkova, R., Golemanov, G., Tsankov, B., Ivanov, P., Beshev, L., & Tonchev, P. (2017). Rs5918ITGB3 polymorphism, smoking, and BMI as

- risk factors for early onset and recurrence of DVT in young women. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 23(6), 585-595.
75. Понамарева, П. О., Милилян, Н. С., & Золотавина, М. Л. (2018). Частота встречаемости полиморфизма генов системы свертывания крови и их зависимость от групповой и резусной принадлежности у женщин. *Вестник Адыгейского государственного университета. Серия 4: Естественно-математические и технические науки*, (2 (221)).
76. Castaman, G., Giacomelli, S. H., Biasoli, C., Contino, L., & Radossi, P. (2019). Risk of bleeding and thrombosis in inherited qualitative fibrinogen disorders. *European journal of haematology*, 103(4), 379-384.
77. Бардымова, Т. П., Протасов, К. В., Цыреторова, С. С., & Донирова, О. С. (2017). Сахарный диабет 2-го типа и ишемическая болезнь сердца. *Acta Biomedica Scientifica*, 2(1), 100-106.
78. Мальцева, Н. В., Лапутенко, Т. А., Смирнова, А. Ш., Горбатовский, Я. А., Никифоров, В. В., & Дадыка, И. В. (2018). -455А аллель гена FGB в дифференциальной диагностике острого инфекционного эндокардита и сепсиса. *Клиническая медицина*, 96(4).
79. Гараева, Л. А., & Маянская, С. Д. (2017). Ассоциация полиморфизма генов FGB, LPL, GrIIIa и TGFB с вариантами тяжести течения атеросклероза. *Казанский медицинский журнал*, 98(5), 669-674.
80. Wang, X., Tang, N., Shen, N., Lu, Y., & Li, D. (2020). Congenital fibrinogen disorder caused by digenic mutations of the FGA and FGB genes. *Hematology*, 25(1), 145-148.
81. Jiang, L., Zhang, Q., , W., & Zhang, Y. (2018). Mutation analysis of a FGG gene causing hereditary abnormal fibrinogen. *Zhonghua yi xue yi chuan xue za zhi= Zhonghua yixue yichuanxue zazhi= Chinese journal of medical genetics*, 35(6), 812-814.

82. Marchi, R., Linares, M., Rojas, H., Ruiz-Sáez, A., Meyer, M., Casini, A., & Brennan, S. O. (2017). A novel fibrinogen mutation: FGA g. 3057 C> T (p. Arg104> Cys) impairs fibrinogen secretion. *BMC hematology*, 17(1), 22.
83. Hu, X., Wang, J., Li, Y., Wu, J., Qiao, S., Xu, S., ... & Chen, L. (2017). The β -fibrinogen gene 455G/A polymorphism associated with cardioembolic stroke in atrial fibrillation with low CHA₂DS₂-VaSc score. *Scientific reports*, 7(1), 1-7.
84. Shlebak, A. A., Katsarou, A. D., Adams, G., & Fernando, F. (2017). A novel mutation in exon 2 of FGB caused by c. 221G> T† substitution, predicting the replacement of the native Arginine at position 74 with a Leucine (p. Arg74Leu†) in a proband from a Kurdish family with dysfibrinogenemia and familial venous and arterial thrombosis. *Journal of thrombosis and thrombolysis*, 43(2), 263-270.
85. Цимбалюк, В. І., Васильєва, І. Г., Костюк, М. Р., Чопик, Н. Г., Галанта, О. С., Цюбко, О. І., ... & Сніцар, Н. Д. (2016). Исследование связи полиморфизмов генов ACE, AGT и FGB с риском раннего развития ишемического инсульта атеротромботического подтипа в популяции лиц, проживающих на территории Украины. *Международный неврологический журнал*, (8), 20-26.
86. Логинова, И. Ю., Каменская, О. В., Чернявский, А. М., Шилова, А. Н., & Ломиворотов, В. В. (2018). Роль полиморфизма генов системы гемостаза в оценке риска хирургического лечения хронической тромбоэмболической легочной гипертензии. *Российский кардиологический журнал*, (10), 106-111.
87. Медведєва, Н. Л. (2016). Оцінка поліморфних варіантів гена FGB та рівня фібриногену в жінок із репродуктивними розладами. *Акушерство. Гінекологія. Генетика*, (2, № 3), 56-60.
88. Киселева, А. Н., Бутина, Е. В., Зайцева, Г. А., Овчинников, В. В., Игнатъев, С. В., Ярыгин, Д. Н., & Парамонов, И. В. (2017). Ассоциация

полиморфизма генов F2, F5, F7, F13, FGB, ITGA2, ITGB3, PAI-1, MTHFR, MTR, MTRR с нарушениями репродуктивной функции у женщин. *Вятский медицинский вестник*, (2), 24-29.

89. Zivelin, A., Mor-Cohen, R., Kovalsky, V., Kornbrot, N., Conard, J., Peyvandi, F., ... & Seligsohn, U. (2006). Prothrombin 20210G> A is an ancestral prothrombotic mutation that occurred in whites approximately 24 000 years ago. *Blood*, 107(12), 4666-4668.
90. Poort, S., Rosendaal, F., Reitsma, P., & Bertina, R. (1996). A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood*, 88(10), 3698-3703.
91. Oros, M. M., Lutz, V. V., Pavlo, A. H., & Sitkar, A. D. (2020). Investigation of the influence of thrombophilic genes polymorphism, including SERPIN 1 (PAI-I), FII, prothrombin and ITGB3-integrin, on the frequency of stroke in association with controllable risk factors for its occurrence. *Wiadomosci Lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)*, 73(3), 471-477.
92. Hmimech, W., Idrissi, H. H., Diakite, B., Baghdadi, D., Korchi, F., Habbal, R., & Nadifi, S. (2016). Association of C677T MTHFR and G20210A FII prothrombin polymorphisms with susceptibility to myocardial infarction. *Biomedical reports*, 5(3), 361-366.
93. Mahmutbegović, E., Marjanović, D., Medjedović, E., Mahmutbegović, N., Dogan, S., Valjevac, A., ... & Adler, G. (2017). Prevalence of F5 1691G>A, F2 20210G>A, and MTHFR 677C>T polymorphisms in Bosnian women with pregnancy loss. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 17(4), 309-314.
94. Mulder, R., Lisman, T., Meijers, J., Huntington, J., Mulder, A. B., & Meijer, K. (2019). Linkage analysis combined with whole exome sequencing identifies a novel prothrombin (F2) gene mutation in a Dutch Caucasian family with unexplained thrombosis.

95. Wang, J. J., & Fang, M. Y. (2016). Effects of coagulation factors and inflammatory cytokines on development of acute myocardial infarction in patients younger than 60 years. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(4), 827-831.
96. Kaur, R., Das, R., Ahluwalia, J., Kumar, R. M., & Talwar, K. K. (2016). Genetic polymorphisms, biochemical factors, and conventional risk factors in young and elderly north indian patients with acute myocardial infarction. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 22(2), 178-183.
97. Jadaon, M. M. (2011). Epidemiology of prothrombin G20210A mutation in the Mediterranean region. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*, 3(1).
98. Lijfering, W. M., Middeldorp, S., & Veeger, N. J. (2010). Risk of Recurrent Venous Thrombosis in Homozygous Carriers and Double Heterozygous Carriers of Factor V Leiden and Prothrombin G20210A. *Journal of Vascular Surgery*, 52(6), 1727.
99. Колосков, А. В., Батурина, О. А., & Филиппова, О. И. (2015). Коагулогический статус носителей гетерозиготных мутаций в гене фактора V (A506G) и в гене протромбина (G20210A). *Актуальные вопросы трансфузиологии и клинической медицины*, (1).
100. Колосков, А. В., & Чернова, Е. В. (2019). Клиническое значение полиморфизма генов фактора V и протромбина. *Гематология и трансфузиология*, 63(3), 250-257.
101. Максимова, М. Ю., Дубовицкая, Ю. И., Кротенкова, М. В., & Шабалина, А. А. (2019). Протромбогенные полиморфные варианты генов системы гемостаза и фолатного обмена при асептическом тромбозе церебральных венозных синусов. *Вестник Российского государственного медицинского университета*, (5), 86-94.
102. L Miranda-Vilela, A. (2012). Role of polymorphisms in factor V (FV Leiden), prothrombin, plasminogen activator inhibitor type-1 (PAI-1),

methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and Cystathionine β -synthase (CBS) genes as risk factors for thrombophilias. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 12(10), 997-1006.

103. Колосков, А. В., Батурина, О. А., & Филиппова, О. И. (2015). Коагулологический статус носителей гетерозиготных мутаций в гене фактора V (A506G) и в гене протромбина (G20210A). *Актуальные вопросы трансфузиологии и клинической медицины*, (1).
104. Blobel, B. (2013). Translational medicine meets new technologies for enabling personalized care. *Stud Health Technol Inform*, 189, 8-23.
105. Сычев, Д. А., Шуев, Г. Н., Торбенков, Е. С., & Адриянова, М. А. (2017). Персонализированная медицина: взгляд клинического фармаколога. *Consilium medicum*, 19(1).
106. Кропачева, Е. С. (2018). Фармакогенетика антитромботических препаратов: современное состояние проблемы. *Атеротромбоз*, (2).
107. Braunwald, E., Angiolillo, D., Bates, E., Berger, P. B., Bhatt, D., Cannon, C. P., ... & Wiviott, S. (2008). Assessing the current role of platelet function testing. *Clinical Cardiology: An International Indexed and Peer-Reviewed Journal for Advances in the Treatment of Cardiovascular Disease*, 31(S1), I10-I16.
108. Kulickowski, W., Witkowski, A., Polonski, L., Watala, C., Filipiak, K., Budaj, A., ... & Zembala, M. (2009). Interindividual variability in the response to oral antiplatelet drugs: a position paper of the Working Group on antiplatelet drugs resistance appointed by the Section of Cardiovascular Interventions of the Polish Cardiac Society, endorsed by the Working Group on Thrombosis of the European Society of Cardiology. *European heart journal*, 30(4), 426-435.
109. Laine, M., Frere, C., Toesca, R., Berbis, J., Barnay, P., Pansieri, M., ... & Helal, O. (2014). Ticagrelor versus prasugrel in diabetic patients with an acute coronary syndrome. *Thrombosis and haemostasis*, 112(02), 273-278.

110. Yakushkin V.V., Zyuryaev I.T., & Khaspekova S.G. (2011). Glycoprotein IIb-IIIa content and platelet aggregation in healthy volunteers and patients with acute coronary syndrome. *Platelets*, 22: 243-251.
111. Zhang, L., Ma, X., You, G., Zhang, X., & Fu, Q. (2017). A Novel multiplex HRM assay to detect clopidogrel resistance. *Scientific reports*, 7(1), 1-8.
112. Harari, R., & Baber, U. (2016). Optimal Antiplatelet Therapy in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *Interventional cardiology clinics*, 5(4), 481-495.
113. Dąbrowski, R. & Dobrowolski, M. (2017). Stable coronary artery disease-medical treatment. *Pol Merkur Lekarski*, 43(257), 228-231.
114. Китаева, Е. Ю., Шпрах, В. В., Мирзаев, К. Б., Рыжикова, К. А., Шуев, Г. Н., Созаева, Ж. А., ... & Сычев, Д. А. (2018). Частота полиморфизмов генов CYP2C19 и ABCB1, ассоциированных с изменением антиагрегантного действия клопидогрела, у русских и бурят. *Сибирское медицинское обозрение*, (3 (111)).
115. Larsen, P. D., Holley, A. S., Sasse, A., Al-Sinan, A., Fairley, S., & Harding, S. A. (2017). Comparison of Multiplate and VerifyNow platelet function tests in predicting clinical outcome in patients with acute coronary syndromes. *Thrombosis research*, 152, 14-19.
116. Reny, J. L., Fontana, P., Hochholzer, W., Neumann, F. J., Ten Berg, J., Janssen, P. W., ... & Cuisset, T. (2016). Vascular risk levels affect the predictive value of platelet reactivity for the occurrence of MACE in patients on clopidogrel. *Thrombosis and haemostasis*, 115(04), 823-825.
117. Мирзаев, К. Б., Сычев, Д. А., & Андреев, Д. А. (2014). Этнические особенности в Российской Федерации полиморфизма гена CYP2C19, ассоциированного с нарушением ответа на клопидогрел. *Молекулярная медицина*, 1, 13-21.
118. Akram, N., Mustafa, G., Hanif, A. A., Tawwab, S., Hussain, S., Kaul, H., & Mohsin, S. (2019). Cytochrome 2C19 and paraoxonase-1 polymorphisms

and clopidogrel resistance in ischemic heart disease patients. *Personalized medicine*, 16(5), 379-386.

119. Chi, N. F., & Wang, S. J. (2019). CYP2C19 loss-of-function alleles: A common but overlooked problem associated with clopidogrel resistance.
120. Menglu, F. U., Dong, R., Ling, T. U., & Xizhen, X. U. (2018). Research Progress in Clopidogrel Resistance. *Herald of Medicine*, 37(2), 139-145.
121. Roe, M. T., Ohman, E. M., Povsic, T. J., White, J., Rockhold, F., Montalescot, G., ... & Gibson, C. M. (2017). P2Y12 Inhibitor Switching in Response to Routine Notification of CYP2C19 Clopidogrel Metabolizer Status Following Acute Coronary Syndromes. *Circulation*, 136(24), e458-e459.
122. Мирзаев, К. Б., Сычев, Д. А., & Андреев, Д. А. (2015). Генетические основы резистентности к клопидогрелю: современное состояние проблемы. *Российский кардиологический журнал*, (10 (126)).
123. Кукес, В. Г., & Сычев, Д. А. (2015). Клиническая фармакология: учебник/под ред. ВГ Кукеса, ДА Сычева.
124. Шуев, Г. Н., Сычѐв, Д. А., Сулейманов, С. Ш., Рыжикова, К. А., Мирзаев, К. Б., Гришина, Е. А., ... & Мацнева, И. А. (2016). Сравнение частоты полиморфизмов генов CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, ABCB1, SLCO1B1 в этнических группах нанайцев и русских. *Фармакогенетика и фармакогеномика*, (2).
125. Karaźniewicz-Łada, M., Danielak, D., Rubiś, B., Burchardt, P., Komosa, A., Lesiak, M., & Głowska, F. (2015). Impact of common ABCB 1 polymorphism on pharmacokinetics and pharmacodynamics of clopidogrel and its metabolites. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 40(2), 226-231.
126. Рыжикова, К. А., Мирзаев, К. Б., Маммаев, С. Н., Гафуров, Д. М., Казаков, Р. Е., Шуев, Г. Н., ... & Сычев, Д. А. (2017). Распространенность полиморфизмов генов системы цитохрома P-450 и

генов белков-транспортеров среди популяции русских и трех этнических групп Республики Дагестан. *Кремлевская медицина. Клинический вестник*, 1, 32-38.

127. Hulot, J. S., Bura, A., Villard, E., Azizi, M., Remones, V., Goyenvalle, C., ... & Gaussem, P. (2006). Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects. *Blood*, 108(7), 2244-2247.
128. Desta, Z., Zhao, X., Shin, J. G., & Flockhart, D. A. (2002). Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clinical pharmacokinetics*, 41(12), 913-958.
129. Li-Wan-Po, A., Girard, T., Farndon, P., Cooley, C., & Lithgow, J. (2010). Pharmacogenetics of CYP2C19: functional and clinical implications of a new variant CYP2C19* 17. *British journal of clinical pharmacology*, 69(3), 222-230.
130. Beitelshes, A. L., Horenstein, R. B., Vesely, M. R., Mehra, M. R., & Shuldiner, A. R. (2011). Pharmacogenetics and clopidogrel response in patients undergoing percutaneous coronary interventions. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 89(3), 455-459.
131. Scott, S. A., Sangkuhl, K., Stein, C. M., Hulot, J. S., Mega, J. L., Roden, D. M., ... & Shuldiner, A. R. (2013). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2013 update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 94(3), 317-323.
132. Mega, J. L., Close, S. L., Wiviott, S. D., Shen, L., Hockett, R. D., Brandt, J. T., ... & Sabatine, M. S. (2009). Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *New England Journal of Medicine*, 360(4), 354-362.
133. Harmsze, A. M., van Werkum, J. W., Hackeng, C. M., Ruven, H. J., Kelder, J. C., Bouman, H. J., ... & Deneer, V. H. (2012). The influence of CYP2C19* 2 and* 17 on on-treatment platelet reactivity and bleeding events in patients

- undergoing elective coronary stenting. *Pharmacogenetics and genomics*, 22(3), 169-175.
134. Li, Y., Tang, H. L., Hu, Y. F., & Xie, H. G. (2012). The gain-of-function variant allele CYP2C19* 17: a double-edged sword between thrombosis and bleeding in clopidogrel-treated patients. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 10(2), 199-206.
135. Zabalza, M., Subirana, I., Sala, J., Lluís-Ganella, C., Lucas, G., Tomás, M., ... & Elosua, R. (2012). Meta-analyses of the association between cytochrome CYP2C19 loss-and gain-of-function polymorphisms and cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease treated with clopidogrel. *Heart*, 98(2), 100-108.
136. Lewis, J. P., Stephens, S. H., Horenstein, R. B., O'Connell, J. R., Ryan, K., Peer, C. J., ... & Shuldiner, A. R. (2013). The CYP2C19* 17 variant is not independently associated with clopidogrel response. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 11(9), 1640-1646.131.
137. Bhatt, D. L. (2017). My Approach to the patient with CAD and aspirin resistance. *Trends in cardiovascular medicine*, 27(7), 518-519.
138. Han, Y. L. (2016). Aspirin resistance in coronary heart disease: Current understandings and strategies. *Journal of translational internal medicine*, 4(1), 7-10.
139. Villanueva, T. (2017). Optimal Duration of Antiplatelet Therapy Following Acute Coronary Syndrome. *The Journal of family practice*, 66(12 Suppl).
140. Fu, H., Hu, P., Ma, C., Peng, F., & He, Z. (2020). Association of clopidogrel high on-treatment reactivity with clinical outcomes and gene polymorphism in acute ischemic stroke patients: An observational study. *Medicine*, 99(15), e19472-e19472.
141. Репин, А. Н., Сергиенко, Т. Н., Муслимова, Э. Ф., & Афанасьев, С. А. (2015). Влияние полиморфизма G681A гена CYP2C19 на эффективность клопидогреля при эндоваскулярном лечении

ишемической болезни сердца в сочетании с сахарным диабетом 2 типа. *Российский кардиологический журнал*, 20(10), 81-85.

142. Карпенко, О.О., Нетяженко, В.З. (2019). Особливості змін функціональної активності тромбоцитів у хворих із поєднанням ІХС та цукрового діабету 2-го типу в умовах проведення подвійної антитромбоцитарної терапії. *Український кардіологічний журнал*, 26(1), 46 – 47.
143. Карпенко, О.О. (2019). Вплив антитромбоцитарного лікування на агрегаційну здатність тромбоцитів у хворих на ішемічну хворобу серця та у поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, (1), 11-17.
144. Karpenko, O. (2019). Стан згортуючої, антикоагулянтної та фібринолітичної активності крові у хворих на гостру ішемічну хворобу серця та особливості змін при поєднанні з цукровим діабетом типу 2 (когортне проспективне дослідження). *ScienceRise. Medical Science*, (4 (31)), 4-8.
145. Карпенко, Е.А. (2019). Особенности изменений коагуляционного гемостаза у пациентов с острой ишемической болезнью сердца и при комбинации с сахарным диабетом 2 типа. *Сборник материалов VIII Международного молодежного медицинского конгресса «Санкт-Петербургские научные чтения-2019»*, 173.
146. Karpenko, O.O., Netiazhenko, V.Z. and Plenova, O.M. (2019). ITGB3 gene polymorphism and its relation to platelet phase of hemostasis activity in patients with coronary artery disease combined with type 2 diabetes. *East European Science Journal*, 11(51), 24 – 29.
147. Карпенко, О.О., Нетяженко, В.З. (2020). Вплив мутації гена інтегрин бета-3 та цукрового діабету 2 типу на активність тромбоцитарного гемостазу у хворих на гострі та хронічні коронарні синдроми. *Проблеми ендокринної патології*, 3(2020), 62 – 70.

148. Karpenko, O.O. and Netiazhenko, V.Z. (2020). Mutation of the fibrinogen gene G(-455)A and activity of platelet hemostasis in patients with acute and chronic coronary syndromes. *Norwegian Journal of development of the International Science*, 49(2020), 12 – 14.
149. Karpenko, O.O. (2016). Pharmacogenetic testing for CYP2C19 gene polymorphism for optimization of using antiplatelet therapy in patients with ischemic heart disease. *ScienceRise: Medical Science*, 8(4), 15-20.
150. Karpenko, O.O. (2016). Cyp2c19 genetic testing for personalisation using of anti platelet therapy in patients with history of myocardial infarction. *Науково-практичний журнал «Український кардіологічний журнал» - Матеріали XVII Національного конгресу кардіологів України*. (3), 155.
151. Петрик, Г. Г., & Павлищук, С. А. (2010). Показатели метаболизма и гемостаза у больных сахарным диабетом 2-го типа с различной выраженностью ангиопатий. *Проблемы эндокринологии*, 56(2).
152. Гальченко, О. Е., & Бабаева, А. Р. (2007). Диагностическое и прогностическое значение комплексной оценки нарушений тромбоцитарного гемостаза, микроциркуляции и липопероксидации при ишемической болезни сердца. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*, (4 (24)).
153. Чирков, Ю. Ю., Тыщук, И. А., Северина, И. С., & Старосельцева, Л. К. (1990). АДФ-индуцируемая агрегация тромбоцитов человека при сахарном диабете. *Вопросы медицинской химии*, 36(4), 20-22.
154. Калугина, О. Ю. (2014). Отдаленные результаты коронарного стентирования у больных ИБС в сочетании с сахарным диабетом 2-го типа: взгляд через призму эффективности двойной дезагрегантной терапии. *Пермский медицинский журнал*, 31(5).
155. Репин, А. Н., Сергиенко, Т. Н., Муслимова, Э. Ф., & Афанасьев, С. А. (2015). Влияние полиморфизма G681A гена CYP2C19 на эффективность клопидогреля при эндоваскулярном лечении

- ишемической болезни сердца в сочетании с сахарным диабетом 2 типа. *Российский кардиологический журнал*, (10 (126)).
156. Ganda, O. P., & Arkin, C. F. (1992). Hyperfibrinogenemia: an important risk factor for vascular complications in diabetes. *Diabetes care*, 15(10), 1245-1250.
157. Acang, N., & Jalil, F. D. (1993). Hypercoagulation in diabetes mellitus. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 24, 263-266.
158. Folsom, A. R., Wu, K. K., Rasmussen, M., Chambless, L. E., Aleksic, N., & Nieto, F. J. (2000). Determinants of population changes in fibrinogen and factor VII over 6 years: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 20(2), 601-606.
159. Полянцев, А. А., Фролов, Д. В., Линченко, Д. В., Скобельдина, Т. А., & Ованенко, В. С. (2017). Нарушения гемостаза у больных сахарным диабетом. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*, (3 (63)).
160. McGill, J. B., Schneider, D. J., Arfken, C. L., Lucore, C. L., & Sobel, B. E. (1994). Factors responsible for impaired fibrinolysis in obese subjects and NIDDM patients. *Diabetes*, 43(1), 104-109.
161. Schernthaner, G., Vukovich, T., Knöbl, P., Hay, U., & Müller, M. M. (1989). The effect of near-normoglycaemic control on plasma levels of coagulation factor VII and the anticoagulant proteins C and S in insulin-dependent diabetic patients. *British journal of haematology*, 73(3), 356-359.
162. Ефимов, Е. В. (2014). Мониторинг системы гемостаза у больных синдромом диабетической стопы на фоне хирургического лечения. *Медицинский совет*, (4).
163. Тойынбекова, Р. Ж., Толеуова, А. С., Бейсенбекова, Ж. А., & Бодаубай, Р. (2018). Состояние коагуляционного и тромбоцитарного гемостаза

при сахарном диабете, ассоциированном с ишемической болезнью сердца. *Медицина и экология*, (3 (88)).

164. Галяутдинов, Г. С., & Чудакова, Е. А. (2012). Особенности системы гемостаза у пациентов с ишемической болезнью сердца. *Казанский медицинский журнал*, 93(1).
165. Kastrati, A., Schömig, A., Seyfarth, M., Koch, W., Elezi, S., Böttiger, C., ... & von Beckerath, N. (1999). P1A polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risk of restenosis after coronary stent placement. *Circulation*, 99(8), 1005-1010.
166. Szczeklik, A., Musiał, J., & Undas, A. (2002). Reasons for resistance to aspirin in cardiovascular disease. *Circulation*, 106(22), e181-2.
167. Ridker, P. M., Hennekens, C. H., Schmitz, C., Stampfer, M. J., & Lindpaintner, K. (1997). P1A1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction, stroke, and venous thrombosis. *The lancet*, 349(9049), 385-388.
168. Feinbloom, D., & Bauer, K. A. (2005). Assessment of hemostatic risk factors in predicting arterial thrombotic events. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 25(10), 2043-2053.
169. Каражанова, Л. К., Жукушева, Ш. Т., Есимбекова, Э. И., & Миргул, А. (2018). Распространенность полиморфизмов некоторых генов, связанных с функцией плазменно-тромбоцитарного звена гемостаза, при аспиринорезистентности в казахской популяции. *Наука и здравоохранение*, (5).
170. Floyd, C. N., & Ferro, A. (2015). Antiplatelet drug resistance: Molecular insights and clinical implications. *Prostaglandins & other lipid mediators*, 120, 21-27.
171. Xu, Z. H., Jiao, J. R., Yang, R., Luo, B. Y., Wang, X. F., & Wu, F. (2012). Aspirin resistance: clinical significance and genetic polymorphism. *Journal of International Medical Research*, 40(1), 282-292.

172. Муслимова, Э. Ф., Реброва, Т. Ю., Афанасьев, С. А., Сергиенко, Т. Н., & Репин, А. Н. (2016). Ассоциация генов ITGB3 и NOS3 с тяжестью течения ишемической болезни сердца при наличии и отсутствии сахарного диабета 2-го типа. *Сахарный диабет*, 19(4).
173. Османова, С. С., Польская, Л. В., Шурыгина, О. Ю., & Зорин, В. Н. (2017). Коагуляционный гемостаз и фибринолиз у больных старческого возраста, страдающих ишемической болезнью сердца и артериальной гипертензией. *Таврический медико-биологический вестник*, 20(2-1).
174. Петрик, Г. Г., Павлищук, С. А., & Горбачева, Ю. В. (2009). Показатели метаболизма и гемостаза у пациентов с различной тяжестью сахарного диабета 2-го типа. *Кубанский научный медицинский вестник*, (4).
175. Цимбалюк, В. І., Васильєва, І. Г., Костюк, М. Р., Чопик, Н. Г., Галанта, О. С., Цюбко, О. І., ... & Сніцар, Н. Д. (2016). Дослідження зв'язку поліморфізмів генів ACE, AGT та FGB із ризиком раннього розвитку ішемічного інсульту атеротромботичного підтипу в популяції осіб, які проживають на території України. *Міжнародний неврологічний журнал*, (8), 20-26.
176. Smith, G. D., Harbord, R., Milton, J., Ebrahim, S., & Sterne, J. A. (2005). Does elevated plasma fibrinogen increase the risk of coronary heart disease? Evidence from a meta-analysis of genetic association studies. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 25(10), 2228-2233.
177. Gu, L., Liu, W., Yan, Y., Su, L., Wu, G., Liang, B., ... & Huang, G. (2014). Influence of the β -fibrinogen-455G/A polymorphism on development of ischemic stroke and coronary heart disease. *Thrombosis research*, 133(6), 993-1005.
178. Sabater-Lleal, M., Huang, J., Chasman, D., Naitza, S., Dehghan, A., Johnson, A. D., ... & Rudnicka, A. R. (2013). Multiethnic meta-analysis of genome-wide association studies in > 100 000 subjects identifies 23

- fibrinogen-associated Loci but no strong evidence of a causal association between circulating fibrinogen and cardiovascular disease. *Circulation*, 128(12), 1310-1324.
179. Tantry, U. S., Bonello, L., Aradi, D., Price, M. J., Jeong, Y. H., Angiolillo, D. J., ... & Kirtane, A. (2013). Consensus and update on the definition of on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate associated with ischemia and bleeding. *Journal of the American College of Cardiology*, 62(24), 2261-2273.
180. Mortensen, S. B., Larsen, S. B., Grove, E. L., Kristensen, S. D., & Hvas, A. M. (2010). Reduced platelet response to aspirin in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus. *Thrombosis research*, 126(4), e318-e322.
181. Vazzana, N., Ranalli, P., Cuccurullo, C., & Davì, G. (2012). Diabetes mellitus and thrombosis. *Thrombosis research*, 129(3), 371-377.
182. Balasubramaniam, K., Viswanathan, G. N., Marshall, S. M., & Zaman, A. G. (2012). Increased atherothrombotic burden in patients with diabetes mellitus and acute coronary syndrome: a review of antiplatelet therapy. *Cardiology research and practice*, 2012.
183. Wypasek, E., Stepień, E., Kot, M., Plicner, D., Kapelak, B., Sadowski, J., & Undas, A. (2012). Fibrinogen beta-chain-C148T polymorphism is associated with increased fibrinogen, C-reactive protein, and interleukin-6 in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Inflammation*, 35(2), 429-435.
184. Guedes, A. F., Carvalho, F. A., Moreira, C., Nogueira, J. B., & Santos, N. C. (2017). Essential arterial hypertension patients present higher cell adhesion forces, contributing to fibrinogen-dependent cardiovascular risk. *Nanoscale*, 9(39), 14897-14906.
185. Лисютенко, Н. С., Морова, Н. А., & Цеханович, В. Н. (2018). Лабораторные признаки активации системы гемостаза у больных

- ишемической болезнью сердца после операции коронарного шунтирования. *Клиническая лабораторная диагностика*, 63(8).
186. Hendy, O. M., AL Moneam, E. A., Allam, M., Soliman, S., Kamal, A., & EL Nasser, G. A. (2011). Frequency of thrombotic gene mutations in diabetic patients with and without coronary artery disease. *The Medical Journal of Cairo University*, 79(2).
187. Sibireva, O. F. (2011). Association of hemostatic disorders in diabetic patients with methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) and coagulation factors II (G20210A) and V (G1691A) gene polymorphism. *Klinicheskaia laboratornaia diagnostika*, (3), 36-39.
188. Rahimi, Z., Nomani, H., Mozafari, H., Vaisi-Raygani, A., Madani, H., Malek-Khosravi, S., & Parsian, A. (2009). Factor V G1691A, prothrombin G20210A and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism C677T are not associated with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus in western Iran. *Blood coagulation & fibrinolysis*, 20(4), 252-256.
189. Lavigne-Lissalde, G., Sanchez, C., Castelli, C., Alonso, S., Mazoyer, E., Bal Dit Sollier, C., ... & Morange, P. E. (2010). Prothrombin G20210A carriers the genetic mutation and a history of venous thrombosis contributes to thrombin generation independently of factor II plasma levels. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 8(5), 942-949.
190. Inbal, A., Freimark, D., Modan, B., Chetrit, A., Matetzky, S., Rosenberg, N., ... & Seligsohn, U. (1999). Synergistic effects of prothrombotic polymorphisms and atherogenic factors on the risk of myocardial infarction in young males. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 93(7), 2186-2190.
191. Yamada, Y., Ichihara, S., & Nishida, T. (2008). Molecular genetics of myocardial infarction. *Genomic medicine*, 2(1-2), 7-22.
192. Almawi, W. Y., Ameen, G., Tamim, H., Finan, R. R., & Irani-Hakime, N. (2004). Factor V G1691A, prothrombin G20210A, and

- methylenetetrahydrofolate reductase [MTHFR] C677T gene polymorphism in angiographically documented coronary artery disease. *Journal of thrombosis and thrombolysis*, 17(3), 199-205.
193. Rosendaal, F. R., Siscovick, D. S., Schwartz, S. M., Beverly, R. K., Psaty, B. M., Longstreth Jr, W. T., ... & Reitsma, P. H. (1997). Factor V Leiden (resistance to activated protein C) increases the risk of myocardial infarction in young women. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 89(8), 2817-2821.
194. Мирзаев, К. Б., Сычев, Д. А., Каркищенко, В. Н., Грачев, А. В., Князева, Г. П., Казаков, Р. Е., & Карасёв, А. В. (2013). Частота полиморфных маркеров CYP2C19* 2, CYP2C19* 3, CYP2C19* 17 среди русской популяции и сравнение распространенности CYP2C19* 2 у пациентов с ишемической болезнью сердца, получающих терапию клопидогрелем, и здоровых добровольцев. *Биомедицина*, (1).
195. Байрова, Т. А., Чурбанова, С. А., Колесников, С. И., & Калюжная, О. В. (2014). Распространенность полиморфного локуса 681G> А гена CYP2C19 в русской популяции. *Acta Biomedica Scientifica*, (6 (100)).
196. Кляритская, И. Л., & Работягова, Ю. С. (2013). Полиморфизм гена цитохрома CYP2C19 и клиническое значение его определения. *Крымский терапевтический журнал*, (1 (20)).
197. Солодун, М. В., Аксентьев, С. Б., & Никифоров, А. А. (2013). Первые результаты оценки прогностической значимости полиморфизма гена CYP2C19 у пациентов, перенесших инфаркт миокарда. *Наука молодых—Eruditio Juvenium*, (3).
198. Rahmatini, R., Aliska, G., Syafri, M., & Achyar, A. (2018). Clopidogrel response in acute coronary syndrome patients with cyp2y12* 2 and cyp2y12* 3 polymorphisms. *Российский кардиологический журнал*, (3).

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Karpenko, O.O. (2016). Pharmacogenetic testing for CYP2C19 gene polymorphism for optimization of using antiplatelet therapy in patients with ischemic heart disease. *ScienceRise: Medical Science*, 8(4), 15-20.
2. Karpenko, O. (2019). Стан згортуючої, антикоагулянтної та фібринолітичної активності крові у хворих на гостру ішемічну хворобу серця та особливості змін при поєднанні з цукровим діабетом типу 2 (когортне проспективне дослідження). *ScienceRise. Medical Science*, (4 (31)), 4-8.
3. Карпенко, О.О. (2019). Вплив антитромбоцитарного лікування на агрегаційну здатність тромбоцитів у хворих на ішемічну хворобу серця та у поєднанні з цукровим діабетом 2-го типу. *Український науково-медичний молодіжний журнал*, (1), 11-17.
4. Karpenko, O.O., Netiazhenko, V.Z. and Plenova, O.M. (2019). ITGB3 gene polymorphism and its relation to platelet phase of hemostasis activity in patients with coronary artery disease combined with type 2 diabetes. *East European Science Journal*, 11(51), 24 – 29. (Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку)
5. Karpenko, O.O. and Netiazhenko, V.Z. (2020). Mutation of the fibrinogen gene G(-455)A and activity of platelet hemostasis in patients with acute and chronic coronary syndromes. *Norwegian Journal of development of the International Science*, 49(2020), 12 – 14. (Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів,

- висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку).*
6. Карпенко, О.О., Нетяженко, В.З. (2020). Вплив мутації гена інтегрин бета-3 та цукрового діабету 2 типу на активність тромбоцитарного гемостазу у хворих на гострі та хронічні коронарні синдроми. *Проблеми ендокринної патології*, 3(2020), 62 – 70. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено статтю до друку).*
 7. Karpenko, O.O. (2016). Cyp2c19 genetic testing for personalisation using of anti platelet therapy in patients with history of myocardial infarction. *Науково-практичний журнал «Український кардіологічний журнал» - Матеріали XVII Національного конгресу кардіологів України*. (3), 155.
 8. Карпенко, О.О., Нетяженко, В.З. (2019). Особливості змін функціональної активності тромбоцитів у хворих із поєднанням ІХС та цукрового діабету 2-го типу в умовах проведення подвійної антитромбоцитарної терапії. *Український кардіологічний журнал*, 26(1), 46 – 47. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела з проблеми, виконано статистичне опрацювання даних з аналізом отриманих результатів, висновки сформульовані спільно з керівником, підготовлено тези до друку).*
 9. Карпенко, Е.А. (2019). Особенности изменений коагуляционного гемостаза у пациентов с острой ишемической болезнью сердца и при комбинации с сахарным диабетом 2 типа. *Сборник материалов VIII Международного молодежного медицинского конгресса «Санкт-Петербургские научные чтения-2019»*, 173.

*Додаток 2***Апробація матеріалів дисертації**

Основні положення дисертаційної роботи доповідалися автором на наукових форумах:

- XVII Національний конгрес кардіологів України (м.Київ, 20 - 22.09.2017 р.),
- Науково-практична конференція «Інноваційні аспекти впровадження європейських стандартів діагностики та лікування хворих з серцево-судинною патологією в практику лікаря внутрішньої медицини» (м.Київ, 23.05.2018 р.),
- Науково-практична конференція «Нові вітчизняні та закордонні клінічні настанови в практиці лікарів внутрішньої медицини в умовах пандемії COVID-19» (10.09.2020 р., 16.09.2020 р., 17.09.2020 р., 06.10.2020 р., 13.10.2020 р., 03.11.2020 р., 10.11.2020 р.), XXI Національний конгрес кардіологів України (22-25 вересня 2020 р.)

Також апробація результатів відбулася на науковому засіданні кафедри пропедевтики внутрішньої медицини №1 НМУ імені О.О. Богомольця 09 листопада 2020 року.