

На правах рукописи

БЯЗРОВА

Светлана Вячеславовна

**ИССЛЕДОВАНИЕ НОВЫХ БИОМАРКЕРОВ ВОЗНИКНОВЕНИЯ
РЕСТЕНОЗА ПОСЛЕ ИМПЛАНТАЦИИ СТЕНТОВ С
ЛЕКАРСТВЕННЫМ ПОКРЫТИЕМ БОЛЬНЫМ ИШЕМИЧЕСКОЙ
БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА**

14.01.05 – кардиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2016

Работа выполнена в отделе проблем атеросклероза Научно-исследовательского института клинической кардиологии им. А.Л.Мясникова ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Козлов Сергей Геннадьевич

Научный консультант:

доктор биологических наук

Габбасов Зуфар Ахнафович

Официальные оппоненты:

профессор кафедры госпитальной терапии №2 ФГБОУ ВО

«Московский государственный медико-стоматологический

университет им. А.И. Евдокимова» Министерства

здравоохранения Российской Федерации (Москва)

доктор медицинских наук, доцент

Арабидзе Григорий Гурамович

заведующий первичным сосудистым отделением ГБУЗ

«Городская клиническая больница №51 Департамента

здравоохранения города Москвы» (Москва)

доктор медицинских наук,

профессор

Затейщиков Дмитрий Александрович

Ведущая организация:

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский

университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения

Российской Федерации (г. Москва)

Защита состоится «___» _____ 2017 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.016.01 на базе ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 101990, Москва, Петроверигский пер., дом 10 стр. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале ФГБУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации (101990, Москва, Петроверигский пер., дом 10 стр. 3) и на сайте: www.gnicpm.ru.

Автореферат разослан «_____» _____ 2017 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

кандидат медицинских наук, с.н.с.

Киселева Наталия Васильевна

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГЛП – гиперлипидемия

ДИ – доверительный интервал

ИБС - ишемическая болезнь сердца

КАГ - коронароангиография

КПГ - конечные продукты гликирования

МКА - магистральная коронарная артерия

ОА - огибающая артерия

ОШ – отношение шансов

ПКА - правая коронарная артерия

ПНА - передняя нисходящая артерия

СД – сахарный диабет

СД-2 – сахарный диабет 2 типа

СД-1 – сахарный диабет 1 типа

ФК - функциональный класс

sRAGE – изоформа рецептора к КПГ

esRAGE – изоформа рецептора к КПГ

ELISA – иммуноферментный анализ

FACS-анализ – сортировка клеток, активированных флюоресцентом

sRAGE – растворимый рецептор к КПГ

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Наличие хронической гипергликемии при СД, приводит к повышенному образованию и накоплению в организме КПП (Negre-Salvayre A, et al 2009). Одна из изоформ рецептора к КПП (esRAGE), образуемая в результате альтернативного сплайсинга, а также другая изоформа этого рецептора (сRAGE), образуемая в результате протеолитического отщепления экстраклеточной части рецепторов к КПП, являются растворимыми изоформами (Sakaguchi T, et al 2003, Zhou Z, et al 2003, Tae HJ, et al 2013) и обозначаются термином растворимый рецептор к КПП (sRAGE). sRAGE может выступать в качестве рецептора-ловушки для лигандов к рецептору к КПП, тем самым блокируя взаимодействие лигандов с рецепторами к КПП и предотвращая нежелательные последствия данного взаимодействия лигандов с рецепторами к КПП, в т.ч., возникновения рестеноза. Результаты исследований позволили предложить определение уровня sRAGE для оценки риска возникновения рестеноза после стентирования коронарных артерий (McNair ED, et al 2010). Однако прогностическая значимость уровня sRAGE в отношении развития рестеноза после коронарной ангиопластики у больных ИБС и сопутствующим СД 2 типа не определена.

Микрочастицы – лишенные ядра и состоящие из фосфолипидов везикулы диаметром от 0,1 до 1 мкм, образующиеся из цитоплазматических мембран различных клеток (Burger D, et al 2013). Каждый тип клеток способен синтезировать специфические белки, набор которых ограничен. Обнаружение этих белков в составе микрочастиц позволяет определить источник их происхождения. Одной из причин гиперпродукции лейкоцитарных микрочастиц является наличие воспалительной реакции в организме. Гиперпродукцию лейкоцитарных микрочастиц обнаруживают при СД (Feng B, et al 2010). Взаимодействие тромбоцитов с микрочастицами лейкоцитарного происхождения во внеклеточном пространстве может приводить к образованию

тромбоцитов, несущих на своей поверхности лейкоцитарный антиген - CD45⁺ тромбоцитов. Исследований по оценке связи между уровнем в крови CD45⁺ тромбоцитов и возникновением рестеноза у больных, подвергшихся стентированию коронарных артерий, ранее не проводилось.

Галектин-3 – один из пятнадцати белков семейства галектинов. Галектины обнаруживают внутри клеток, где они секретируются во внеклеточное пространство, связываются с гликанами клеточной поверхности и внеклеточного матрикса, тем самым, оказывая влияние на разнообразные клеточные процессы, включая воспаление, миграцию и пролиферацию клеток. Более высокий уровень галектина-3 в крови выявляют у больных СД (Jin QH, et al 2013). В эксперименте на животных была выявлена экспрессия галектина-3 в аорте после ее повреждения посредством баллонной дилатации, в то время как экспрессия галектина-3 отсутствовала в здоровой аорте (Arar C, et al 1998). Подобные факты позволяют предположить участие галектина-3 в формировании рестеноза у пациентов после коронарной ангиопластики, однако, исследований по изучению связи между уровнем галектина-3 и возникновением рестеноза не проводилось.

Цель исследования. Исследование новых биомаркеров возникновения рестеноза у больных ИБС и СД-2 после имплантации стентов с лекарственным покрытием.

Задачи исследования.

1. Изучить связь между уровнем в крови sRAGE и возникновением рестеноза после стентирования коронарных артерий с помощью стентов с лекарственным покрытием у больных ИБС и СД-2.
2. Оценить влияние уровня в крови тромбоцитов, несущих на своей поверхности общий лейкоцитарный антиген (CD45⁺ тромбоцитов), на возникновение рестеноза после внутрикоронарной имплантации стентов с лекарственным покрытием больным ИБС и СД-2.

3. Исследовать связь между уровнем в крови галектина-3 и возникновением рестеноза после стентирования коронарных артерий с помощью стентов с лекарственным покрытием у больных ИБС и СД-2.

4. Провести сравнительный анализ предикторов возникновения рестеноза после имплантации стентов с лекарственным покрытием в коронарные артерии больным ИБС и сопутствующим СД-2, а также пациентам без СД.

Научная новизна. Впервые изучена связь между уровнем sRAGE и возникновением рестеноза после стентирования коронарных артерий с помощью стентов с лекарственным покрытием у больных ИБС и сопутствующим СД-2. Впервые изучено влияние уровня в крови тромбоцитов, несущих на своей поверхности общий лейкоцитарный антиген (CD45⁺ тромбоцитов), на возникновение рестеноза после имплантации в коронарные артерии стентов с лекарственным покрытием больным ИБС и сопутствующим СД-2. Впервые исследована связь между уровнем в крови галектина-3 и возникновением рестеноза после имплантации в коронарные артерии стентов с лекарственным покрытием больным ИБС и сопутствующим СД-2. Сопоставлено влияние на развитие рестеноза различных факторов риска его возникновения у больных ИБС с сопутствующим СД-2 и у пациентов с ИБС без СД.

Практическая значимость. Полученные данные свидетельствуют об участии sRAGE в формировании рестеноза после стентирования коронарных артерий с помощью стентов с лекарственным покрытием у больных СД-2. Обнаружено более частое развитие рестеноза у пациентов с более высоким содержанием CD45⁺ тромбоцитов. Влияния уровня в крови галектина-3 на возникновение рестеноза у этой категории пациентов не было обнаружено. Полученные результаты могут быть приняты во внимание при определении способа реваскуляризации миокарда у больных со стенозирующим поражением коронарных артерий.

Внедрение в практику. Результаты исследования внедрены в

научную и практическую работу отдела проблем атеросклероза НИИ клинической кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГБУ «РКНПК» МЗ РФ.

Апробация диссертации. Материалы доложены на межотделенческой конференции НИИ кардиологии им. А.Л. Мясникова ФГБУ «РКНПК» МЗ РФ по апробации кандидатских диссертаций 30.12.2015 г. Протокол №27.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ, т.ч. 4 статьи и 1 патент на изобретение. Основные положения и результаты исследования доложены и обсуждены на российских и международных конференциях: на XXI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2014), Российском национальном конгрессе кардиологов «Инновации и прогресс в кардиологии» (Казань, 2014), 82rd European Atherosclerosis Society (Madrid, 2014), 83rd European Atherosclerosis Society (Glasgow, 2015), , 84rd European Atherosclerosis Society (Innsbruck, 2016).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 113 страницах компьютерной верстки и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 140 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 7 таблицами и 23 рисунками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под наблюдением находилось 146 больных хроническими формами ИБС, в возрасте 40 - 75 лет, в т.ч. 126 пациентов, которым в течение первого года после имплантации стентов с лекарственным покрытием была выполнена КАГ, а также 20 больных, подвергшихся коронарному стентированию с использованием стентов с лекарственным покрытием, которым в течение первого года после эндоваскулярного вмешательства была проведена КАГ.

В исследование не включали пациентов с нестабильной стенокардией, в первые 2 мес после перенесенного инфаркта миокарда, с острым нарушением мозгового кровообращения, операцией коронарного шунтирования в анамнезе, ангиопластикой по поводу рестеноза в анамнезе, снижением фракции выброса левого желудочка $< 40\%$, застойной сердечной недостаточностью, с СД-1 типа, декомпенсированным СД-2, повышением уровня креатинина в крови ≥ 150 мкмоль/л, системными заболеваниями, тяжелыми хроническими заболеваниями (онкологические, гематологические и др.).

На 1 этапе была изучена связь между уровнем в крови sRAGE, CD45⁺ тромбоцитов, а также галектина-3 и возникновением рестеноза после имплантации стентов с лекарственным покрытием. В исследование были включены 126 пациентов, отвечающим критериям включения и исключения, которым в течение первого года после эндоваскулярной реваскуляризации миокарда с помощью стентов с лекарственным покрытием была выполнена КАГ. У всех больных перед КАГ была взята кровь для определения уровня sRAGE, уровня экспрессии общего лейкоцитарного антигена CD45 на поверхности тромбоцитов методом проточной цитофлуориметрии, измерения галектина-3. На основании результатов КАГ пациенты были разбиты на 2 группы. В I группу вошли 53 пациента, у которых было отмечено возникновение рестеноза, по крайней мере, в месте имплантации одного из стентов, во II группу – 73 пациента без рестеноза. У пациентов обеих групп было проведено сравнение клинической и ангиографической характеристики, сопоставлены уровни циркулирующих в крови sRAGE, CD45⁺ тромбоцитов и галектина-3. Были так же сопоставлены уровни этих показателей среди пациентов с СД-2 и у больных, не имевших этого заболевания, оценено влияние уровня этих показателей на возникновение рестеноза после имплантации стентов с лекарственным покрытием при СД-2.

На 2 этапе была изучена динамика уровня sRAGE в течение первого года после коронарного стентирования. Под наблюдением находились

больные с хроническими формами ИБС, отвечающие критериям включения и исключения из исследования, подвергшиеся в плановом порядке эндоваскулярной реваскуляризации миокарда с помощью стентов с лекарственным покрытием. У всех пациентов перед стентированием осуществляли забор крови, из которой получали плазму. Ее замораживали и хранили в холодильнике при температуре -70°C . Впоследствии были отобраны 20 больных, которым в течение первого года после эндоваскулярного вмешательства была проведена КАГ, в т.ч. 10 больных, у которых было отмечено возникновение рестеноза, по крайней мере, в месте имплантации одного из стентов, а также 10 пациентов без рестеноза. У больных непосредственно перед КАГ осуществляли повторный забор крови для определения уровня sRAGE. Среди пациентов, у которых было отмечено возникновение рестеноза, и у больных без рестеноза были сопоставлены уровни sRAGE в динамике.

Для анализа уровня CD45^+ тромбоцитов в крови ее брали из локтевой вены пациентов утром натощак после двенадцатичасового голодания в пробирку (S-Monovette[®], SARSTEDT), содержащую 3,8% цитрат натрия в соотношении 1 часть антикоагулянта к 9 частям крови. Обогащенную тромбоцитами плазму получали центрифугированием крови при $200 \times g$ в течение 4-х мин при комнатной температуре. Супернатант отбирали в отдельные пробирки и хранили при комнатной температуре не более 4 ч. В 100 мкл обогащенной тромбоцитами плазмы добавляли 100 мкл PBS-EDTA (фосфатный буфер с ЭДТА), тщательно, на Вортексе, перемешивали. Затем образец фиксировали, добавляя в него 200 мкл 2% параформальдегида. Материал хранили в холодильнике при 4°C до 4 сут максимально. Образцы окрашивали непосредственно при подготовке к проведению измерения на проточном цитофлуориметре. В микропробирку с 5 мкл обогащенной тромбоцитами плазмы добавляли 5 мкл CD42-PE и 5 мкл CD45-Cy5PE. После чего клеточные суспензии тщательно перемешивали и инкубировали в темноте в течение 40 мин. По окончании реакции в пробы добавляли 500 мкл фосфатного буфера (PBS, 0.1 М, pH=7.4) и анализировали на проточном цитофлуориметре FACS

Calibur (BectonDickinson). Сбор и обработку информации производили с помощью программы CELLQuest (BectonDickinson). В каждом образце накапливали от 50 тыс до 100 тыс событий в гейте CD42-положительных клеток (тромбоцитов).

Количество CD45⁺ тромбоцитов определяли с использованием комбинации двух антител: (i) конъюгированных с фикоэритрином антител к CD42 (CD42-PE) и (ii) конъюгированных с комплексом фикоэритрин-цианин-5 антител к CD45 (CD45-Cy5PE). Логика гейтирования включала следующие последовательные шаги: на диаграмме зависимости интенсивности флуоресценции CD42-PE от бокового светорассеяния выделяли гейт тромбоцитов (Гейт R1, CD42-положительные клетки, рисунок 1А). Далее, на диаграмме зависимости интенсивности флуоресценции клеток, окрашенных неиммуногенными антителами к CD45 (IgG1-Cy5PE), от бокового светорассеяния выделяли гейт клеток, интенсивность флуоресценции которых превосходит по интенсивности флуоресценцию клеток, окрашенных IgG1-Cy5PE (Гейт R2, рисунок 1Б). Порог определения положительных событий по уровню флуоресценции конъюгата комплекса CD45-Cy5PE определяли по максимальному уровню флуоресценции клеток, окрашенных IgG1-Cy5PE. Гейт R2 проецировали на график зависимости интенсивности флуоресценции клеток, окрашенных антителами к CD45 (CD45-Cy5PE), от бокового светорассеяния и в этом гейте определяли количество клеток, интенсивность флуоресценции которых превосходит по интенсивности флуоресценцию клеток, окрашенных IgG1-Cy5PE (рисунок 1В). CD45-положительные тромбоциты представляли на диаграмме зависимости бокового (SSC-Height) от интенсивности прямого рассеяния света (FSC-Height) – рисунок 1Г. Количество CD45⁺ тромбоцитов составляло в среднем несколько сотен событий и было представлено в процентах к общему количеству CD42-положительных клеток. Для сравнения на рисунке 2 приведены результаты FACS-анализа (Fluorescence Activated Cell Sorting, BD eBioscience) других типов клеток в периферической крови больного ИБС. На рисунке 2 клетки меченные

антителами, специфически взаимодействующими с эритроцитами (CD235a), лейкоцитами (CD45) и тромбоцитами (CD42), представлены на одной диаграмме зависимости интенсивности бокового (SSC-Height) от интенсивности прямого светорассеяния (FSC-Height).

Определение уровня sRAGE и галектина-3 в плазме крови осуществляли методом иммуноферментного анализа ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) с использованием наборов для sRAGE (R&D Systems, США) и галектина-3 (eBioscience, США), соответственно. Измерение осуществляли на микропланшетном фотометре Sunrise (Tecan, Австрия). Чувствительность и стандартный разброс метода для галектина-3: 0.12 нг/мл и 4,67-10,30 нг/мл, соответственно; для растворимого рецептора к КПП: 16.14 пг/мл и 78-5,000 пг/мл, соответственно.

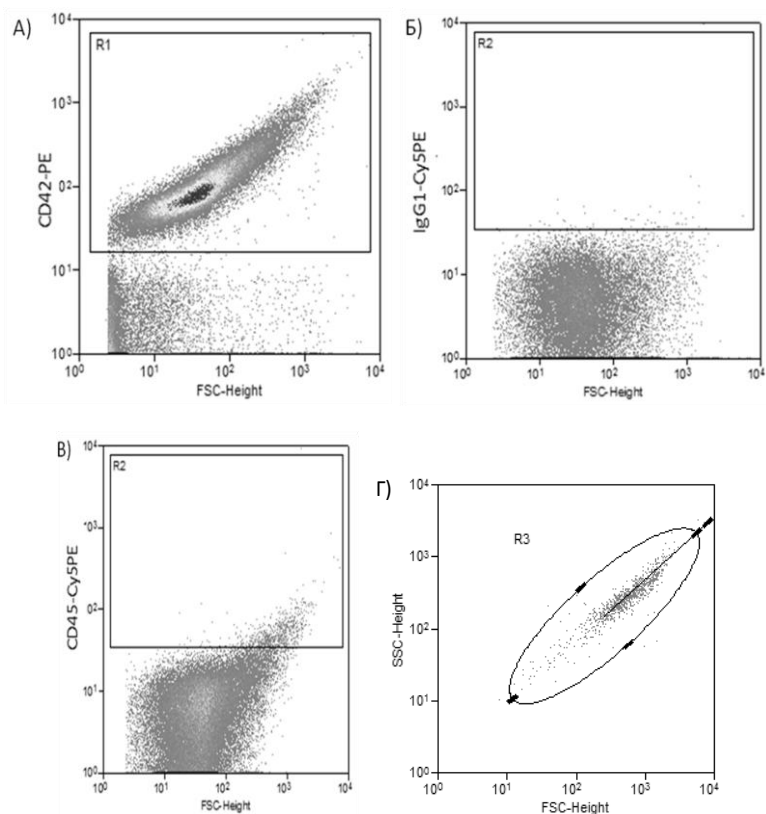


Рис. 1 FACS-анализ CD45⁺ тромбоцитов в периферической крови больного ИБС после имплантации стентов с лекарственным покрытием.

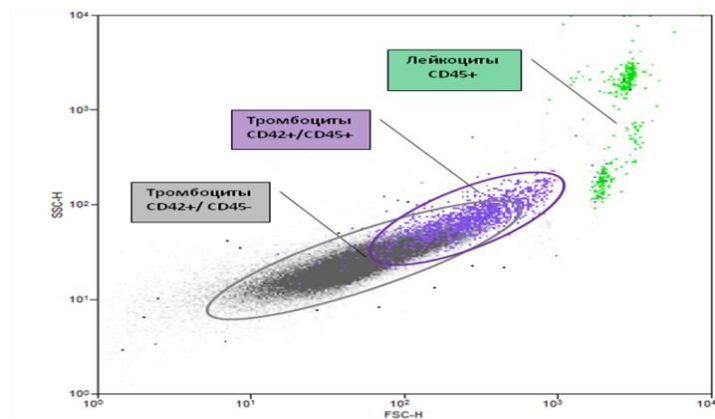


Рис. 2 Результат FACS-анализа различных типов клеток в периферической крови больного ИБС. Клетки меченные антителами, специфически взаимодействующими с лейкоцитами (CD45) и тромбоцитами (CD42), представлены на диаграмме зависимости интенсивности бокового (SSC-H) и прямого светорассеяния (FSC-H).

Статистический анализ выполнен с помощью программных пакетов «STATISTICA version 6.0, StatSoft Inc.» и «SPSS Statistics version 17.0, SPSS Inc.». Собранные в ходе исследования данные представлены в виде медианы, 25 и 75 перцентилей. Для проверки статистических гипотез о виде распределения использовали W-тест Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk W test). Для сравнительного анализа данных, полученных в двух группах, использовали точный критерий Фишера (Fisher's exact test) и U-критерий Манна-Уитни (Mann-Whitney U test), в нескольких группах – критерий χ^2 (Chi-Square test) и критерий ANOVA по Краскелу-Уоллису (Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks). Для анализа множества повторных измерений в одной и той же группе применяли критерий Фридмана (Friedman ANOVA by Ranks), для парного сравнения повторных измерений – тест Уилкоксона (Wilcoxon Rank test). Для многофакторного логистического регрессионного анализа и выявления независимых факторов риска рестеноза после эндоваскулярной реваскуляризации миокарда использовали существенные переменные, полученные с помощью однофакторного логистического регрессионного анализа всего массива данных. ROC-анализ использовался для оценки качества

предсказательной ценности проведенного логистического анализа. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень sRAGE в крови больных СД-2 с рестенозом после имплантации в коронарные артерии стентов с лекарственным покрытием

Клиническая характеристика больных представлена в таблице 1. Больные с рестенозом в сравнении с пациентами без рестеноза чаще страдали СД-2, в 57% и 34% случаев, соответственно ($p=0,01$). Ангиографическая характеристика пациентов представлена в таблице 2. У пациентов с рестенозом в сравнении с больными без рестеноза чаще осуществлялось стентирование артерий малого ($\leq 2,75$ мм) диаметра, в 55% и 29% случаев, соответственно ($p=0,003$). Количество стентов, которое в среднем было имплантировано одному пациенту с рестенозом, равнялось $2,0 \pm 0,8$, что было больше, чем у больных без рестеноза, у которых в среднем было имплантировано $1,5 \pm 0,8$ стентов одному пациенту ($p=0,001$).

Таблица 1

Клиническая характеристика больных.

Показатель	С рестенозом (n=53)	Без рестеноза (n=73)	p
Возраст, лет	62±10	63±11	0,75
Мужчины/женщины	43 (81%)/10(19%)	52(71%)/21(29%)	1,00
Стенокардия I ФК	6 (11%)	7 (10%)	1,00
Стенокардия II ФК	21 (40%)	38 (52%)	0,21
Стенокардия III ФК	22 (41%)	24 (33%)	0,35
Стенокардия IV ФК	4 (8%)	4 (5%)	0,72
ИМ в анамнезе	30 (57%)	48 (66%)	0,35
АГ	49 (92%)	70 (96%)	0,45
Курение	28 (53%)	34 (47%)	0,59
СД	30 (57%)*	25 (34%)	0,01
Гиперлипидемия	53 (100%)	70 (96%)	0,26
Поражение 1 МКА	9 (17%)	18 (25%)	0,38
Поражение 2 МКА	19 (36%)	30 (41%)	0,58
Поражение 3 МКА	25 (47%)	25 (34%)	0,20

Примечание. АГ – артериальная гипертония; ИМ – инфаркт миокарда; *- $p=0,01$ по сравнению с больными без рестеноза

Таблица 2

Ангиографическая характеристика больных.

Показатель	С рестенозом (n=53)	Без рестеноза (n=73)	p
Количество стентов	107**	110	0,001
ПНА	36 (68%)	41 (56%)	0,20
ОА	13 (25%)	23 (32%)	0,43
ПКА	25 (47%)	31 (42%)	0,72
Бифуркационный стеноз	0 (0%)	0 (0%)	1,00
Окклюзии	12 (23%)	16 (22%)	1,00
Протяженность стеноза >20	29 (55%)	44 (60%)	0,59
Диаметр артерии $\leq 2,75$ мм	29 (55%)*	21 (29%)	0,003

Примечание. * - p=0,003; ** - p=0,001 по сравнению с больными без рестеноза.

Уровень sRAGE в крови больных, у которых развился рестеноз после имплантации стентов покрытых лекарственным препаратом, оказался значительно ниже, чем в крови пациентов без рестеноза. У больных с рестенозом медиана (25; 75 перцентиль) уровня sRAGE в плазме крови составила 1,14 (0,92; 1,44) нг/мл, в то время как в крови пациентов без рестеноза – 1,46 (1,12; 1,72) нг/мл (p<0,001).

Различие в уровне sRAGE в крови больных с рестенозом и у пациентов без рестеноза было обусловлено различием значений уровня sRAGE у больных СД с рестенозом и у пациентов с СД без рестеноза (рисунок 3). У больных СД с рестенозом медиана (25; 75 перцентиль) уровня sRAGE в плазме крови составила 1,08 (0,91; 1,19) нг/мл, в крови пациентов с СД без рестеноза – 1,27 (0,99; 1,58) нг/мл (p=0,04).

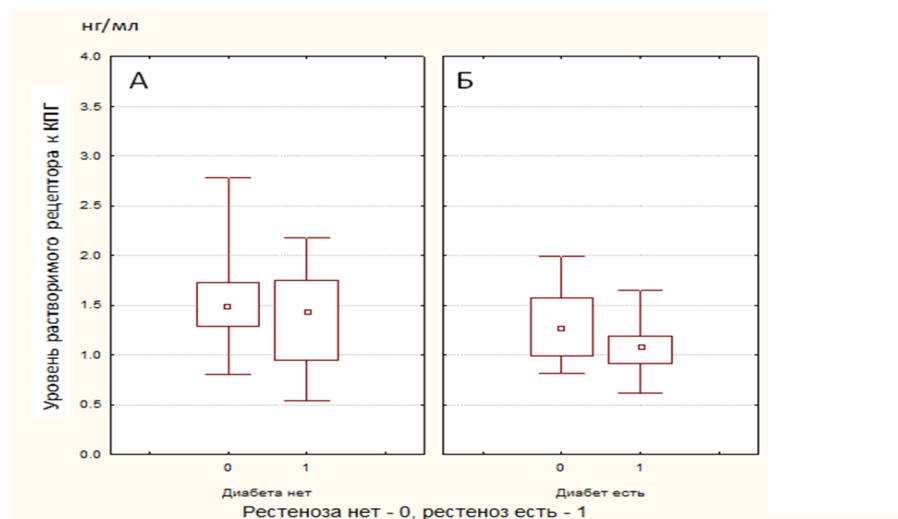


Рис. 3 Уровень sRAGE в крови после имплантации стентов с лекарственным покрытием. А – больные без СД (n=71); Б – пациенты с СД (n=55). Mann-Whitney U-test среди больных с СД, $p=0,04$; среди пациентов без СД, $p>0,05$.

Различия в уровне sRAGE в крови больных с рестенозом и у пациентов без рестеноза, не имевших СД, не было выявлено. Медиана (25; 75 процентиль) уровня sRAGE в крови больных без СД с рестенозом и у пациентов без СД и без рестеноза составила 1,43 (0,95;1,75) нг/мл и 1,48 (1,29; 1,73) нг/мл, соответственно ($p>0,05$).

Согласно результатам ROC-анализа, при отрезном значении уровня sRAGE (1,2 нг/мл) у больных СД достигается оптимальное сочетание чувствительности и специфичности равное 56 и 77%, соответственно, (рисунок 4). ROC-анализ не подтвердил диагностическую ценность уровня sRAGE, как фактора риска возникновения рестеноза, у больных без СД. Площадь под ROC-кривой $0,59\pm 0,08$ (95% ДИ 0,44-0,75; $p=0,21$).

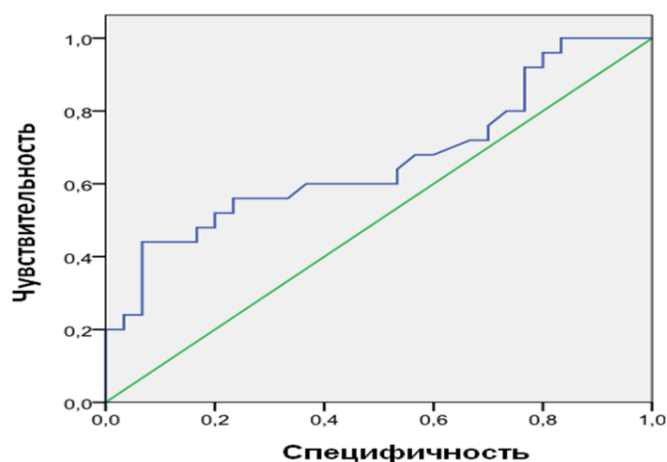


Рис. 4. ROC-кривая для уровня sRAGE в прогнозировании возникновения рестеноза у больных СД. Площадь под ROC-кривой $0,67 \pm 0,08$ (95% ДИ 0,52-0,81; $p=0,04$). При уровне sRAGE 1,2 нг/мл чувствительность = 56%, специфичность = 77%.

Клиническая характеристика больных, участвующих в исследовании в динамике уровня в крови sRAGE после имплантации стентов с лекарственным покрытием, представлена в таблице 3. Пациенты с рестенозом и больные без рестеноза на момент осуществления коронарного стентирования не отличались по возрасту, соотношению мужчин и женщин, курящих и некурящих, а также наличию ГЛП. Количество больных со стенокардией II–III ФК было сопоставимым в обеих группах. Равное количество пациентов имели постинфарктный кардиосклероз и артериальную гипертонию. Больные в группах не отличались по наличию СД-2. Ангиографическая характеристика представлена в таблице 4. У больных обеих групп одинаково часто осуществлялось стентирование ПНА, ОА и ПКА, а также стентирование окклюзий, протяженных (>20 мм) стенозов и артерий малого ($\leq 2,75$ мм) диаметра. Количество стентов, которое в среднем было имплантировано одному пациенту с рестенозом, не отличалось от количества стентов, которое было имплантировано в среднем одному больному без рестеноза.

Таблица 3

Клиническая характеристика больных, у которых оценена динамика sRAGE.

Показатель	С рестенозом (n=10)	Без рестеноза (n=10)	p
Возраст, лет	66±9	62±9	0,33
Мужчины/женщин	7 (70%)/3(30%)	8 (80%)/2(20%)	1,00
Стенокардия I ФК	0 (0%)	0 (0%)	1,00
Стенокардия II ФК	1 (10%)	4 (40%)	0,30
Стенокардия III ФК	9 (90%)	6 (60%)	0,30
Стенокардия IV ФК	0 (0%)	0 (0%)	1,00
ИМ в анамнезе	3 (30%)	2 (20%)	1,00
АГ	10 (100%)	10 (100%)	1,00
Курение	3 (30%)	5 (50%)	0,65
СД	3 (30%)	2 (20%)	1,00
Гиперлипидемия	10 (100%)	10 (100%)	1,00
Поражение 1 МКА	2 (20%)	3 (30%)	1,00
Поражение 2 МКА	6 (60%)	4 (40%)	0,66
Поражение 3 МКА	2 (20%)	3 (30%)	1,00

Примечание. АГ – артериальная гипертония; ИМ – инфаркт миокарда.

Таблица 4

Ангиографическая характеристика больных, у которых оценена динамика sRAGE.

Показатель	С рестенозом (n=10)	Без рестеноза (n=10)	P
Количество стентов	17	18	1,00
ПНА	8 (80%)	5 (50%)	0,35
ОА	6 (60%)	4 (40%)	0,66
ПКА	2 (20%)	4 (40%)	0,63
Бифуркационный стеноз	0 (0%)	0 (0%)	1,00
Окклюзии	0 (0%)	1 (10%)	1,00
Протяженность стеноза >20	6 (60%)	5 (50%)	1,00
Диаметр артерии ≤2,75 мм	7 (70%)	4 (40%)	0,37

Медиана (25; 75 перцентиль) sRAGE перед имплантацией стентов с лекарственным покрытием среди больных, у которых впоследствии возник рестеноз, составила 1,19 (0,9; 1,34) нг/мл. Повторное исследование уровня sRAGE осуществляли в среднем через 9±2 мес. Медиана (25; 75 перцентиль) уровня sRAGE при повторном определении

достоверно не отличалась и равнялась 1,15 (1,03; 1,32) нг/мл. Медиана (25; 75 процентиль) уровня sRAGE перед имплантацией стентов с лекарственным покрытием у больных без рестеноза составила 1,26 (0,92; 1,49) нг/мл, что достоверно не отличалась от медианы исходного уровня sRAGE пациентов с рестенозом. Повторное исследование уровня sRAGE осуществляли в среднем через 9 ± 2 мес. Медиана (25; 75 процентиль) уровня sRAGE при повторном определении достоверно не отличалась от исходного уровня и равнялась 1,18 (1,07; 1,27) нг/мл.

Уровень циркулирующих CD45⁺ тромбоцитов и возникновение рестеноза после имплантации в коронарные артерии больным СД-2 стентов с лекарственным покрытием

Клиническая и ангиографическая характеристики больных представлены в таблицах 1 и 2, соответственно. Уровень CD45⁺ тромбоцитов в крови больных, у которых развился рестеноз, оказался значительно выше, чем в крови пациентов без рестеноза. У больных с рестенозом медиана (25; 75 процентиль) уровня CD45⁺ тромбоцитов в крови составила 0,82 (0,58; 1,12)%, в то время как, в крови пациентов без рестеноза – 0,37 (0,20; 0,67)% ($p < 0,001$). Возникновение рестеноза обнаруживали с большей частотой с увеличением уровня CD45⁺ тромбоцитов в крови больных так, что частота возникновения рестеноза была выше с переходом на следующую квартиль с более высоким уровнем CD45⁺ тромбоцитов (рисунок 5).

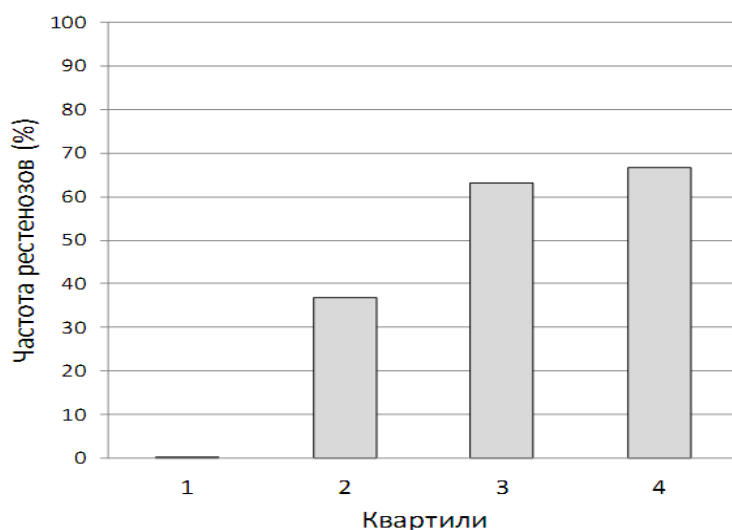


Рис. 5 Частота возникновения рестеноза в зависимости от содержания CD45⁺ тромбоцитов в крови пациентов с ИБС (n=126).

1 - первая квартиль - уровень CD45⁺ тромбоцитов < 0,28%, (n=31),

2 - вторая квартиль - 0,28% ≤ уровень CD45⁺ тромбоцитов < 0,56%, (n=32),

3 - третья квартиль - 0,56% ≤ уровень CD45⁺ тромбоцитов < 0,91%, (n=32),

4 - четвертая квартиль - 0,91% ≤ уровень CD45⁺ тромбоцитов, (n=31),

Kruskal-Wallis ANOVA by Ranks, (p=0,001).

Различие в уровне CD45⁺ тромбоцитов в крови больных с рестенозом и у пациентов без рестеноза было выявлено, как у больных СД, так и у пациентов без этого заболевания (рис. 6). У больных СД с рестенозом медиана (25; 75 процентиль) уровня CD45⁺ тромбоцитов в крови составила 0,85 (0,58; 1,12)%, в крови пациентов с СД без рестеноза – 0,41 (0,24; 0,61)% (p=0,003). Медиана (25; 75 процентиль) уровня CD45⁺ тромбоцитов в крови больных без СД с рестенозом и у пациентов без СД и без рестеноза составила 0,71 (0,60; 1,06)% и 0,34 (0,19; 0,71)%, соответственно, (p=0,005).

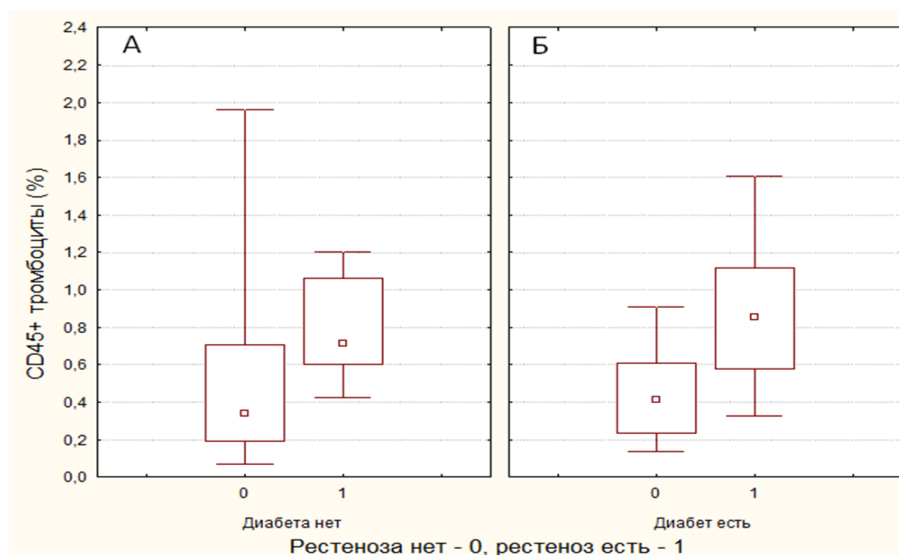


Рис. 6 Уровень CD45⁺ тромбоцитов в крови после имплантации стентов с лекарственным покрытием. А – больные без СД-2 (n=71); Б – пациенты с СД-2 (n=55). Mann-Whitney U-test среди пациентов без СД, p=0,005; среди больных с СД-2, p=0,003.

Согласно результатам ROC-анализа, при отрезном значении уровня CD45⁺ тромбоцитов (0,61%) достигается оптимальное сочетание чувствительности и специфичности: 71% и 72%, соответственно (рис. 7). Площадь под ROC-кривой 0,79±0,05 (95% ДИ 0,69-0,89; p<0,001).

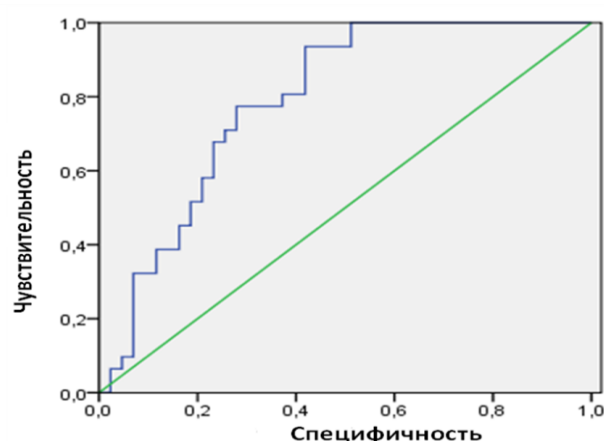


Рис. 7 ROC-кривая для уровня CD45⁺ тромбоцитов в прогнозировании возникновения рестеноза у больных с ИБС. Площадь под ROC - кривой 0,79±0,05 (95% ДИ 0,69-0,89; p<0,001). При уровне CD45⁺ тромбоцитов 0,61% чувствительность = 71%, специфичность = 72%.

Уровень галектина-3 в крови больных СД-2 с рестенозом после имплантации стентов с лекарственным покрытием

Клиническая и ангиографическая характеристики больных представлены в таблицах 1 и 2, соответственно. Медиана (25; 75 перцентиль) уровня галектина-3 в плазме крови пациентов, у которых возник рестеноз после имплантации стентов с лекарственным покрытием, составила 2 (1,76; 2,8) нг/мл, у больных без рестеноза – 1,99 (1,67; 2,66) нг/мл. Отличий в уровне галектина-3 у пациентов обеих групп не было выявлено. У больных СД с рестенозом медиана (25; 75 перцентиль) уровня галектина-3 в плазме крови составила 1,08 (0,91; 1,19) нг/мл, в крови пациентов с СД без рестеноза – 1,27 (0,99; 1,58) нг/мл ($p>0,05$). Медиана (25; 75 перцентиль) уровня галектина-3 в крови больных без СД с рестенозом и у пациентов без СД и без рестеноза составила 1,43 (0,95; 1,75) нг/мл и 1,48 (1,29; 1,73) нг/мл, соответственно, ($p>0,05$). Различий в уровне галектина-3 в крови больных с рестенозом и у пациентов без рестеноза, как имевших СД, так и не имевших этого заболевания, не было выявлено.

Логистический регрессионный анализ факторов риска возникновения рестеноза у больных СД-2 после стентирования коронарных артерий с помощью стентов с лекарственным покрытием

Факторами риска возникновения рестеноза, согласно результатам логистического регрессионного анализа, являлись в порядке убывания стентирование артерий малого ($\leq 2,75$ мм) диаметра - (ОШ 3; 95% ДИ 1,43-6,29; ($p=0,004$)), уровень CD45⁺ тромбоцитов - (ОШ 2,91; 95% ДИ 1,7-5; ($p=0,001$)), СД - (ОШ 2,54; 95% ДИ 1,21-5,18; ($p=0,013$)), количество одномоментно имплантированных одному больному стентов - (ОШ 1,63; 95% ДИ 1,19-2,23; ($p=0,002$)), стентирование протяженных (>20 мм) стенозов - (ОШ 1,58; 95% ДИ 1,05-3,08; ($p=0,038$)) и sRAGE в крови - (ОШ 0,2; 95% ДИ 0,07-0,54; ($p=0,002$)).

Было выявлено различие в степени влияния на возникновение рестеноза предикторов его развития у больных СД-2 и у пациентов без

этого заболевания. Факторами риска возникновения рестеноза у больных СД-2 являлись в порядке убывания уровень CD45⁺ тромбоцитов - (ОШ 4,5; 95% ДИ 1,5-13,5; (p=0,007), стентирование протяженных (>20 мм) стенозов - (ОШ 1,21; 95% ДИ 1,05-1,68; (p=0,045) количество одномоментно имплантированных одному больному стентов - (ОШ 1,19; 95% ДИ 1,08-1,79; (p=0,039) и уровень sRAGE в крови - (ОШ 0,1; 95% ДИ 0,02-0,65; (p=0,016). Факторами риска возникновения рестеноза у больных, не имевших СД, являлись в порядке убывания стентирование артерий малого ($\leq 2,75$ мм) диаметра - (ОШ 6,7; 95% ДИ 2,2-30,4; (p=0,001), стентирование протяженных (>20 мм) стенозов - (ОШ 2,61; 95% ДИ 1,89-7,75; (p=0,015), уровень CD45⁺ тромбоцитов - (ОШ 2,3; 95% ДИ 1,25-4,42; (p=0,008), количество одномоментно имплантированных одному больному стентов - (ОШ 2,26; 95% ДИ 1,36-3,76; (p=0,002).

Построение модели, позволяющей предсказать возникновение рестеноза, с использованием общепризнанных факторов риска развития рестеноза, таких как СД, малый диаметр артерии, протяженный стеноз и количество имплантированных стентов, а также модели с использованием этих факторов и уровня CD45⁺ тромбоцитов, показало более высокую прогностическую значимость второй модели (рисунок 8).

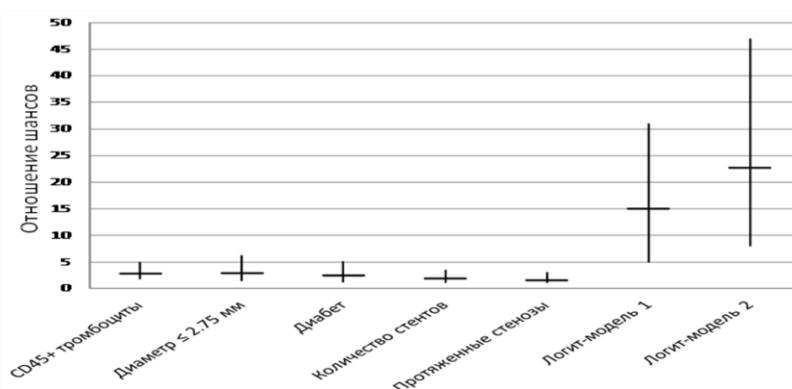


Рис. 8 ОШ возникновения рестеноза для основных факторов риска его развития и двух логит-моделей прогноза развития рестеноза без учета уровня CD45⁺ тромбоцитов (Логит-модель 1) и с учетом уровня CD45⁺ тромбоцитов (Логит-модель 2).

Логит-модель 1 включает 4 параметра: стентирование артерий малого диаметра, наличие СД, количество одномоментно установленных стентов, стентирование протяженных стенозов. ОШ=15,1; 95% ДИ 4,81-31; ($p<0,001$).

Логит-модель 2 включает 5 параметров: CD45⁺ тромбоциты, стентирование артерий малого диаметра, наличие СД, количество одномоментно установленных стентов, стентирование протяженных стенозов. ОШ=22,8; 95% ДИ 8,1-47; ($p<0,001$).

ВЫВОДЫ

- 1.** Уровень растворимого рецептора к конечным продуктам гликирования в крови пациентов со стенокардией и сахарным диабетом 2 типа, у которых развился рестеноз после имплантации в коронарные артерии стентов с лекарственным покрытием, достоверно ниже уровня этого показателя в крови больных без рестеноза, что может свидетельствовать об участии растворимого рецептора к конечным продуктам гликирования в возникновении рестеноза при сахарном диабете 2 типа.
- 2.** Эндоваскулярная реваскуляризация миокарда с помощью стентов с лекарственным покрытием не оказывает влияния на уровень растворимого рецептора к конечным продуктам гликирования через 6-12 месяцев после коронарной ангиопластики.
- 3.** Определение уровня растворимого рецептора к конечным продуктам гликирования в крови больных сахарным диабетом 2 типа для прогнозирования риска возникновения рестеноза не представляется целесообразным в связи с недостаточно высокой чувствительностью и специфичностью отрезного значения уровня этого рецептора.
- 4.** Пациенты, подвергшиеся коронарному стентированию с помощью стентов с лекарственным покрытием и имеющие более высокий уровень в крови тромбоцитов, несущих на своей поверхности лейкоцитарный антиген CD45⁺ (CD45⁺ тромбоцитов), имеют большую

частоту возникновения рестеноза в сравнении с пациентами с более низким уровнем CD45⁺ тромбоцитов.

5. Повышение уровня CD45⁺ тромбоцитов в крови больных после стентирования коронарных артерий с помощью стентов с лекарственным покрытием имеет более тесную связь с возникновением рестеноза у пациентов с сахарным диабетом в сравнении с больными без этого заболевания.
6. Уровень галектина-3 в крови пациентов с рестенозом после имплантации в коронарные артерии стентов с лекарственным покрытием не отличается от этого показателя в крови больных без рестеноза.
7. Учет уровня CD45⁺ тромбоцитов в крови наряду с традиционными факторами риска возникновения рестеноза (стентирование артерий малого диаметра, наличие сахарного диабета, одномоментное количество установленных стентов, стентирование протяженных стенозов) позволяет повысить предсказующую ценность модели прогнозирования риска возникновения рестеноза после коронарного стентирования.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Определение в крови уровня тромбоцитов, несущих на своей поверхности лейкоцитарный антиген CD45 (CD45⁺ тромбоцитов) может быть рекомендовано в качестве предиктора развития рестеноза после эндоваскулярной реваскуляризации миокарда с помощью стентов с лекарственным покрытием в дополнение к общепринятым факторам риска возникновения рестеноза. Полученные результаты могут быть приняты во внимание практикующими врачами при определении способа реваскуляризации миокарда у больных со стенозирующим поражением коронарных артерий в ангиографических лабораториях, стационарах и лечебных учреждениях, оснащенных ангиографическими установками.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Козлов, С.Г. Избыточное образование конечных продуктов гликирования, как возможная причина повышенного риска возникновения рестеноза после стентирования коронарных артерий у больных сахарным диабетом / С.Г. Козлов, З.А. Габбасов, **С.В. Бязрова** // **Атеросклероз и дислипидемии.** – 2015. - Том 20, №3. – С. 5-13.
2. Козлов, С.Г. Уровень растворимого рецептора к конечным продуктам гликирования у пациентов с рестенозом после стентирования коронарных артерий / С.Г. Козлов, З.А. Габбасов, **С.В. Бязрова**, О.С. Сабурова, В.П. Масенко // **Кардиология.** – 2016. - №4. – С. 5-10.
3. **Бязрова, С.В.** Уровень растворимого рецептора к конечным продуктам гликирования в крови больных сахарным диабетом 2 типа с рестенозом после имплантации в коронарные артерии стентов с лекарственным покрытием / **С.В. Бязрова**, С.Г. Козлов, З.А. Габбасов, О.С. Сабурова, В.П. Масенко // **Атеросклероз и дислипидемии.** – 2016. - № 3.- С. 47-54.
4. **Бязрова, С.В.** Повышенный уровень циркулирующих CD45⁺ тромбоцитов ассоциируется с развитием рестеноза у пациентов с ИБС после установки стентов с лекарственным покрытием / **С.В. Бязрова**, З.А. Габбасов, С.Г. Козлов, О.С. Сабурова // **Материалы XXI Российского национального конгресса «Человек и лекарство» (Москва, 7-11 апреля 2014г.).** – М., 2014. - С.25.
5. Козлов, С.Г. Уровень растворимого рецептора к конечным продуктам гликирования и галектина-3 у пациентов с рестенозом после имплантации стентов с лекарственным покрытием / С.Г. Козлов, З.А. Габбасов, **С.В. Бязрова**, О.С. Сабурова, В.П. Масенко // **Материалы Российского национального конгресса кардиологов «Инновации и прогресс в кардиологии» (Казань, 24-26 сентября 2014г.)** – М., 2014. - С. 241.
6. Габбасов, З.А. Уровень циркулирующих CD45⁺ тромбоцитов у пациентов с рестенозом после имплантации стентов с лекарственным покрытием /. З.А. Габбасов, С.Г. Козлов, **С.В. Бязрова**, О.С. Сабурова // **Материалы Российского национального конгресса кардиологов «Инновации и прогресс в кардиологии» (Казань, 24-26 сентября 2014г.)** – М., 2014. - С. 112.
7. Gabbasov, Z. Coronary in-stent restenosis after drug-eluting stent implantation is accompanied by elevated level of CD45⁺ platelets in peripheral blood / Z. Gabbasov, S. Kozlov, **S. Byazrova**, O. Saburova, V. Masenko, V. Smirnov, V. Kukharchuk // **Abstract Book, 82rd European Atherosclerosis Society Congress.** - Madrid, 2014. – P. 71.

8. **Byazrova, S.** Serum levels of soluble receptor for advanced glycation end products are associated with restenosis after drug-eluting stent implantation for stable angina pectoris / **S. Byazrova, S. Kozlov, Z. Gabbasov, V. Kukharchuk, V. Masenko** // Abstract Book, 83rd European Atherosclerosis Society Congress. – Glasgow, 2015. - 241: e214.
9. Kozlov, S. Serum levels of soluble receptor for advanced end products are associated with restenosis occurrence in patients with diabetes mellitus after drug-eluting stent implantation / S. Kozlov, Z. Gabbasov, **S. Byazrova, O. Saburova, V. Masenko** // Abstract Book, 84rd European Atherosclerosis Society Congress. – 2016. - 252: e139.
10. Gabbasov, Z. Blood level of CD45⁺ platelets and development of restenosis after drug-eluting stent implantation in patients with coronary artery disease / Z. Gabbasov, S. Kozlov, I. Melnikov, **S. Byazrova, O. Saburova** // Abstract Book, 84rd European Atherosclerosis Society Congress. – 2016. - 252: e234.
11. Козлов, С. Растворимый рецептор к конечным продуктам гликирования и рестеноз / С. Козлов, З. Габбасов, **С. Бязрова**. – Саарбрюккен, Германия: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2016. – 52 С.
12. Габбасов, З.А. Связь уровня циркулирующих CD45⁺ тромбоцитов с развитием рестеноза после имплантации пациентам с ИБС стентов с лекарственным покрытием / З.А. Габбасов, С.Г. Козлов, **С.В. Бязрова, И.С. Мельников, О.С. Сабурова** // **Бюллетень экспериментальной биологии и медицины**. – 2016. - Том 162, №10.- С. 528-532.
13. Gabbasov, Z. Blood level of CD45⁺ platelets and development of restenosis after drug-eluting stent implantation in patients with stable coronary artery disease [Electronic resource] / Z. Gabbasov, S. Kozlov, **S. Byazrova, O. Saburova, I. Melnikov, M. Caprnda, E. Curilla, L. Gaspar, P. Kruzliak, V. Smirnov** // Wien Klin Wochenschr. - 2016. – P. 1-8.

ПАТЕНТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

14. Габбасов, З.А. Способ диагностики развития стенозирования стентов / З.А. Габбасов, С.Г. Козлов, **С.В. Бязрова, В.В. Кухарчук, В.Н. Смирнов, Л.В. Прокофьева, О.С. Сабурова** // Патент № 2566287. Дата подачи заявки: 20.03.2014. Опубликовано: 20.10.2015. Бюллетень №29.