

**МЕХАНИЗМЫ АНТИТРОМБОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ АСПИРИНА:
ГЕНДЕРНЫЕ ОТЛИЧИЯ И СВЯЗЬ С ПАТОГЕНЕЗОМ JAK-2 ПОЗИТИВНЫХ
МИЕЛОПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Столяр М.А.,

**Научные руководители: канд. мед. наук Ольховский И.А., канд. биол. наук
Титова Н.М.**

Сибирский федеральный университет

Красноярский филиал Гематологического научного центра Минздрава России

В течение последних десятилетий основная стратегия дезагрегационной терапии нацелена на торможение циклооксигеназы тромбоцитов ЦОГ-1 и тромбоксанового механизма их активации. Многочисленные клинические данные, подтверждающие высокую эффективность ацетилсалициловой кислоты (АСК), определили широкое использование препарата в стандартных режимах профилактики и лечения атеротромботических событий, в том числе при хронических миелопролиферативных заболеваниях (ХМПЗ). Вместе с тем обсуждается «аспиринный парадокс», демонстрирующий повышенную резистентность женщин к антитромботическому действию АСК.

Мутация янускиназы JAK2 у больных с Ph-негативным ХМПЗ определяет патогенез заболевания путем модуляции тромбопоэтин-индуцированного сигнального каскада. Такие пациенты часто страдают от развития тромбозов и могут госпитализироваться в стационар с неатерогенными инфарктами и ишемическими инсультами. С другой стороны, у пациентов с тромбоцитозом при ХМПЗ часто возникает приобретенная форма болезни Виллебранда, опосредующая серьезные геморрагические проявления. В связи с этим, крайне важен индивидуальный подход и адекватный подбор дозы АСК. Оптимальным решением, повышающим эффективность и безопасности терапии могло бы стать проведение предварительного тестирования чувствительности пациентов к антитромбоцитарному действию АСК. Однако до сих пор потребность в надежных стандартизованных тестах определения индивидуальной чувствительности к препарату остается неудовлетворенной.

Ранее в наших исследованиях было показано, что показатель лаг-фазы импедансометрической агрегатограммы при индукции арахидоновой кислотой может служить основным параметром для выбора индивидуальной минимальной ингибирующей ЦОГ-1 концентрации АСК [1]. Было выявлено, что при сохраненной чувствительности ЦОГ-1 к АСК и ингибировании функционального ответа тромбоцитов на арахидоновую кислоту, АДФ-индуцированная агрегация изменялась в широком диапазоне значений, демонстрируя связь с ЦОГ-1-независимыми сигнальными путями [2]. В последние годы накапливаются данные об участии в эффектах АСК реакций, опосредованных NO и фактором транскрипции NF-κB, а также непосредственного ацетилирования отдельных факторов свертывания крови, однако сведения об их вкладе в механизм действия малых доз АСК и возможном клиническом значении малочисленны [3].

Цель настоящей работы: исследование механизмов влияния АСК на параметры тромбоцитарного и плазменного гемостаза у больных ХМПЗ.

Материалы и методы. Обследовано 25 пациентов с ХМПЗ, имеющих мутацию в гене JAK2 (rs77375493). Контрольную группу составили клинически здоровые добровольцы (57 чел) подписавшие информированное согласие и включенные в межцентровое исследование [4]. Тесты индуцированной агрегации тромбоцитов проводили на агрегометре Хронолог 700 методом импеданса в цельной крови, индукция осуществлялась АДФ в конечной концентрации 5 мкМ. Оценка агрегации

проводилась в пробах до и после предварительной 15 мин инкубации цельной крови с АСК в конечной концентрации 0,1 мМ. Также в работе использовался «Регистратор тромбодинамики Т-2» - уникальный прибор комплексной оценки системы гемостаза максимально приближенной *in vivo*. [5]. В измерительной кювете имитируется инициация и процесс роста сгустка при повреждении сосудистой стенки. Образцы цельной крови инкубировались с раствором АСК, затем получали свободную от тромбоцитов плазму и определяли параметры пространственного роста сгустка в опытном и контрольном образцах.

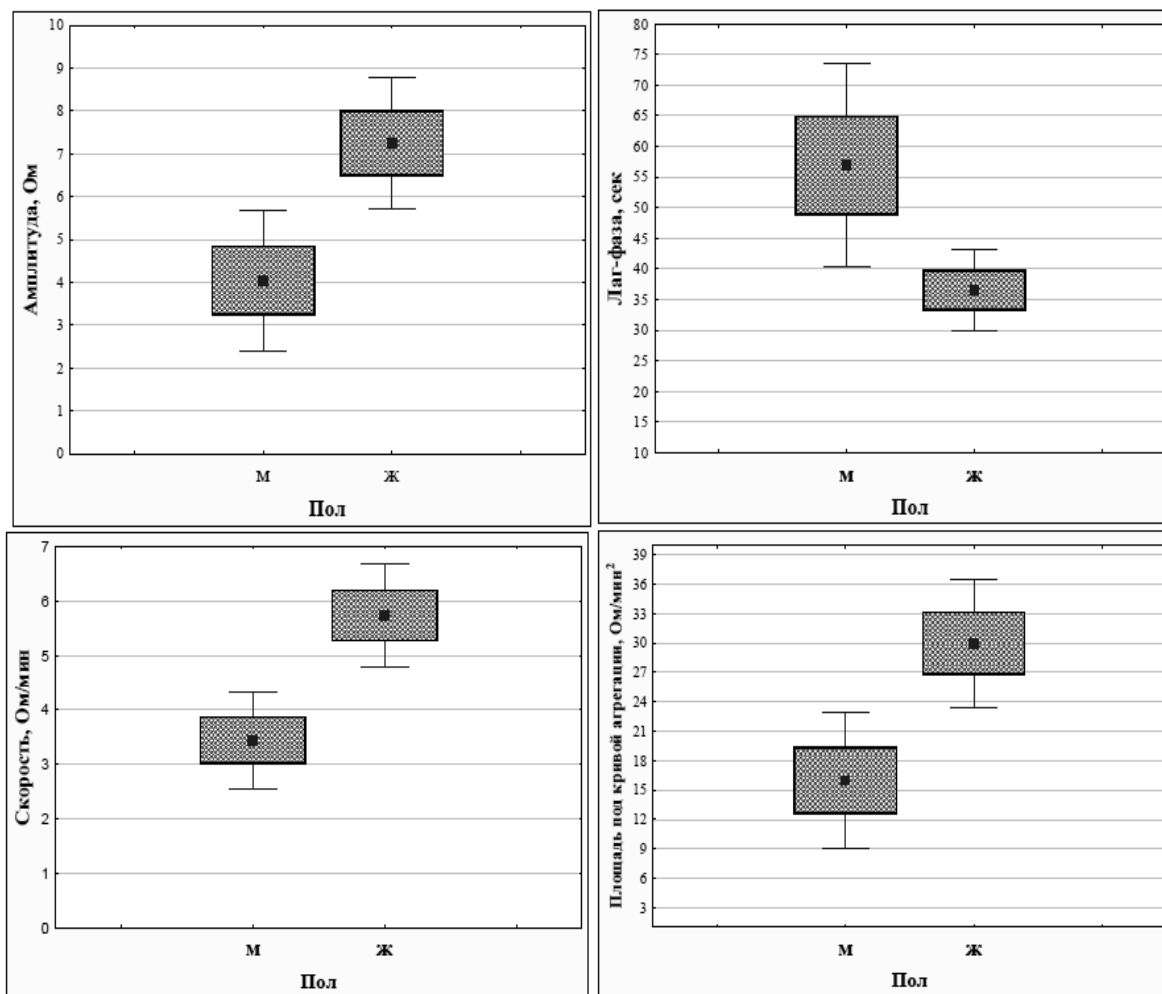
Результаты. У женщин по сравнению с мужчинами в контрольной группе впервые установлено статистически значимое увеличение всех параметров импедансометрической АДФ-индуцированной агрегометрии как до, так и после инкубации проб с АСК (рис. 1). Различия сохраняются и в случае предварительного приема 125 мг АСК *per os*. При этом, лаг-фаза при индукции агрегации тромбоцитов арахидоновой кислотой на фоне АСК свидетельствовала о полном ингибировании ЦОГ-1 как у мужчин, так и у женщин, демонстрируя различный вклад ЦОГ-1 независимых механизмов в АДФ-индуцированную агрегацию. Вместе с тем, среди обследованных пациентов выраженного полового детерминизма выявлено не было. Развитие патологии нивелирует эти различия. Вероятно, существуют гормональные или иные, обусловленные половой принадлежностью, механизмы функциональной активации кровяных пластинок и их ответа на АСК. В организме как женщины, так и мужчины кровяным пластинкам принадлежит чрезвычайно важная гемостатическая роль, однако для нормальной реализации биологической функции женскому организму требуются более активный агрегационный потенциал тромбоцитов. Вероятно, регуляция соотношения путей активации – это первичный механизм, делающий кровяные пластинки женщин более чувствительными к активационным сигналам аденилатов за счет независимого от активности ЦОГ-1 компонента. Очевидно, именно данный механизм может определять феномен ЦОГ-1 независимой аспиринорезистентности.

У пациентов с мутацией в гене JAK2 увеличены амплитуда, лаг-фаза и площадь агрегационной кривой по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), что свидетельствует о качественном изменении тромбоцитов и перестройке путей внутриклеточной сигнализации. Выявленное отличие лаг-фазы сохраняется и после инкубации образцов с АСК, что, возможно, ассоциировано со структурными изменениями фермента ЦОГ-1 пролиферирующих клеточных клонов.

На базе ФГБУ ГНЦ Минздрава России, при поддержке ООО «ГемаКор» в сравнительном исследовании был выявлен эффект аспирина, заключающийся в повышении некоторых параметров Тромбодинамики при тестировании образцов свободной от тромбоцитов плазмы после инкубации с АСК (таб.1).

Объясняется это вероятным ацелированием тромбина, вследствие чего изменяется активность тромбин-антитромбинового комплекса и снижается активация протеина.

Полученные данные свидетельствуют о комплексном механизме действия АСК, не ограничивающимся только ЦОГ-зависимым ингибированием продукции тромбоксанов. Нарушение регуляции взаимосвязи тромбоцитарного и плазменного гемостаза *in vivo*, очевидно служит одной из причин как аспиринорезистентности, так и повышенной чувствительности к препарату.



■ - среднее; ▨ - среднее ± ст.ош.; ⊥ - среднее ± 0,95 дов. интервал

Рисунок 1 - Параметры агрегации после инкубации проб цельной крови с АСК у обследованных мужчин и женщин ($p < 0,05$)

Таблица 1. Разница параметров тромбодинамики до и после инкубации пробы с АСК (n=7)

Тлаг, мин	0,03	$p > 0,05$
Скорость начальная, мкм/мин	7,84	$p < 0,05$
Скорость стационарная, мкм/мин	3,47	$p < 0,05$
Размер, мкм	71,34	$p < 0,05$
Плотность, усл. ед	23,82	$p > 0,05$

Выводы:

1. Выявлено значимое повышение параметров агрегатограммы у здоровых женщин по сравнению с мужчинами, что следует учитывать в формировании референсных интервалов агрегации, а также учитывать при назначении АСК.
2. У пациентов с мутацией JAK2 выявлено увеличение всех параметров агрегатограммы по сравнению со здоровыми лицами, свидетельствующее о

перестройке сигнальных внутритромбоцитарных путей и необходимости назначения дозы АСК, контролируемой предиктивным лабораторным тестом.

3. Выявлено активационное действие АСК на плазменный гемостаз, что свидетельствует о наличии реципрокной регуляции плазменного и тромбоцитарного гемостаза после употребления АСК. Развитие повышенной прокоагуляционной активности АСК может быть еще одной причиной ЦОГ-1 независимой аспиринорезистентности.

Список литературы

1. Ольховский И.А., Столяр М.А. О методе определения чувствительности к ацетилсалициловой кислоте в импедансном тесте агрегации тромбоцитов // Тромбоз, гемостаз и реология. – Принято в печ. – 2013г.
2. Столяр М.А., Ольховский И.А. Определение аспиринорезистентности тромбоцитов *in vitro* по данным оптического и импедансометрического методов // Вестник Новосибирского государственного университета, серия: биология, клиническая медицина. - 2012. - Т. 10, вып. 5. – С.36-42.
3. Stepień, E. Factors influencing thrombin generation measured as thrombin-antithrombin complex and calibrated automated thrombogram method in patients with advanced coronary artery disease / E. Stepień, D. Plicner, A. Branicka // *Polskie archiwum medycyny wewnętrznej*. - 2007. - Vol. 117. - P. 1-8.
4. Ройтман Е.В., Лобанов Ю.Ф., Момот А.П. и др. Протокол ведения всероссийского регистра «Генетические факторы риска тромбоза у жителей, проживающих на территории РФ, клиническое фенотипирование и тромбопрофилактика тромбоэмболических осложнений в онтогенезе» // Тромбоз, гемостаз и реология. 2010. №3. С.30-78.
5. Зыкова, У.В. Опыт использования технологии визуализации тромбообразования на приборе ThromboImager / У.В. Зыкова // Бюллетень лабораторной службы. – 2011. - №14. – С. 36-41.