

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
дополнительного профессионального образования
«Российская медицинская академия непрерывного профессионального
образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

Чертовских Яна Валерьевна

**Персонализация терапии пациентов с сердечно-сосудистыми
заболеваниями в Республике Саха (Якутия): фармакогенетические аспекты**

3.1.18. «Внутренние болезни»
3.3.6. «Фармакология, клиническая фармакология»

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
академик РАН, доктор
медицинских наук, профессор,
профессор РАН
Сычев Д.А.

Научный руководитель:
доктор медицинских наук
Мирзаев К.Б.

Москва, 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	22
1.1. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и смертности в Российской Федерации и Якутии.....	22
1.2. Наиболее часто применяемые лекарственные препараты у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями	25
1.3. Проблемы, связанные с применением данных лекарственных препаратов	43
1.4. Фармакогенетические исследования	52
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	61
2.1. Характеристика пациентов, включенных для исследования этнической чувствительности к терапии (на примере терапии антагонистами витамина К и бета-адреноблокаторами)	61
2.1.1. Характеристика пациентов, планирующих или принимающих варфарин	64
2.1.2. Характеристика пациентов, планирующих или принимающих бисопролол или метопролол.....	66
2.2. Характеристика пациентов, включенных для изучения частоты аллелей и генотипов, ассоциированных с чувствительностью к терапии препаратами, применяемыми у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями в этнических группах, проживающих в Республике Саха (Якутия);	67
2.2.1. Характеристика пациентов, планирующих или принимающих статины	67
2.2.2. Характеристика пациентов, планирующих или принимающих клопидогрель	68

2.2.3. Характеристика пациентов, планирующих или принимающих дабигатран	69
2.2.4. Анкетирование врачей и пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.....	70
2.3. Методика определения полиморфизмов.....	71
2.3.1. Определение полиморфизма rs1799853 гена CYP2C9*2, rs1057910 гена CYP2C9*3 и rs9923231 гена VKORC1*2.....	71
2.3.2. Методика определения определение полиморфизма rs4244285*2, rs4986893, *3 гена CYP2C19.....	75
2.3.3. Определение полиморфизма rs4149056 гена SLCO1B1.....	81
2.3.4. Определение полиморфизма rs2244613 гена CES1	84
2.3.5. Определение полиморфизма гена CYP2D6 (G1846A, rs3892097 и C100T, rs1065852)	87
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	89
3.1. Этническая чувствительность к терапии (на примере терапии антагонистами витамина К и бета-адреноблокаторами) путем сопоставления подобранных доз варфарина, метопролола, бисопролола у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями из этнических групп якутов (саха) и этнических русских.....	89
3.2. Вклад фармакогенетических факторов в этническую чувствительность к терапии (на примере терапии антагонистами витамина К и бета-адреноблокаторами)	95
3.3. Оценка возможности использования фармакогенетического тестирования CYP2C9, VKORC1 и CYP2D6 для прогнозирования индивидуального режима дозирования антагонистов витамина К и бета-адреноблокаторов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями	103
3.4. Изучение частоты аллелей и генотипов, ассоциированных с чувствительностью к терапии препаратами, применяемыми у пациентов с	

сердечно-сосудистыми заболеваниями в этнических группах, проживающих в Республике Саха (Якутия)	107
3.4.1. Оценка носительства полиморфизмов генов CYP2C9, VKORC1	107
3.4.2. Анализ этнической частоты носительства полиморфизмов генов CYP2D6.....	109
3.4.3. Изучение частот аллелей SLCO1B1 у якутов и этнических русских	110
3.5. Анализ генотипирования по полиморфизму CES1 (rs2244613).....	112
3.6. Особенности внедрения фармакогенетического тестирования для персонализации терапии пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями: отношения врачей и пациентов	116
3.7. Перспективы использования генотипирования изоферментов цитохрома P-450 для прогнозирования.....	117
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	120
ВЫВОДЫ	123
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	126
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	127
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	129

Актуальность темы диссертации.

По данным Всемирной Организации Здравоохранения на протяжении многих лет сердечно-сосудистые заболевания остаются главной причиной смертности населения во всём мире, среди которых ведущее место занимает ишемическая болезнь сердца, составляющая 16% от общего числа смертей в мире. Наибольший рост смертности в период с 2000 г. пришелся именно на это заболевание: к 2019 г. смертность от него возросла более чем на 2 млн. и достигла 8,9 млн. случаев. Инсульт является второй причиной смертности населения, на него приходится 11% [2]. Наиболее высокий риск наступления летального исхода при сердечно-сосудистых заболеваниях отмечается при фибрилляции предсердий (ФП) вследствие развития тромботических осложнений. Именно поэтому профилактика тромботических осложнений при фибрилляции предсердий остается первичной целью лечения для специалистов терапевтического профиля. Известно, что терапия антагонистами витамина К (АВК) обеспечивает стабильную профилактику тромботических осложнений у пациентов с ФП: скорректированная доза варфарина способствует снижению риска ишемического инсульта примерно на 60% [87]. Доказано, что такие факторы, как возраст пациента, вес, рост, раса, сопутствующие заболевания и прием иных медикаментов, объясняют некоторые особенности вариабельности дозировки варфарина, однако, генетические факторы объясняют значительно большее влияние на вариабельность дозировок антикоагулянтов [111]. Большое значение при этом имеют полиморфизмы генов, которые могут определяться также в генах транспортеров лекарственных препаратов (ЛП) - гликопротеина-Р или ОАТР1В1-белки. Полиморфизм генов ферментов-метаболизаторов, ферментов-переносчиков может играть «ключевую» роль в фармакокинетике ряда ЛП, широко применяемых для терапии сердечно-сосудистых заболеваний, таких как непрямые антикоагулянты, бета-адреноблокаторы, статины и другие [44]. Подобранный антикоагулянтная терапия существенно снижает риск инсульта, связанного с предсердной аритмией. Генетические особенности человека определяют чувствительность пациента к

оральным антикоагулянтам, обуславливают также величину поддерживающей дозы орального антикоагулянта. Эти генетические факторы представляют собой полиморфные участки генов белков, участвующих в фармакокинетике или фармакодинамике оральных антикоагулянтов [133]. При профилактике и лечении тромбоемболических нарушений большую эффективность показали антагонисты витамина К [10]. Варфарин, например, является наиболее широко применяемым антагонистом витамина К в мире [64]. Несмотря на внедрение в повседневную практику технологии подбора дозы варфарина под контролем величины МНО, кровотечения остаются основной опасностью при применении варфарина: частота кровотечений составляет до 26,5%. Интерес представляют этнические различия в чувствительности пациентов к оральным антикоагулянтам. Так установлено, что полиморфизмы VKORC1 отвечают за относительно высокую устойчивость к варфарину афроамериканцев (высокая доля группы гаплотипов В) и более высокую чувствительность азиатов (высокая доля гаплотипов группы А). Наличие у пациента гаплотипа группы А VKORC1 сопровождается быстрым достижением терапевтического эффекта и превышением целевого уровня международного нормализованного отношения (МНО), а также риском кровотечений [49]. Полиморфизмы двух генов, цитохрома P450 (CYP2C9) и гена, отвечающего за кодировку субъединицы-1 витамина К – эпоксид-редуктазного комплекса (VKORC1), вызывают изменения в активности ферментов и, таким образом, влияют на метаболизм и гамма-карбоксилирование факторов свертывания крови II, VII, IX, и X, а также протеинов С и S. Полиморфизмы VKORC1 и CYP2C9 в 30-50% случаев влияют на вариабельность дозировки варфарина, что значительно отражается на эффективности и безопасности антикоагулянтной терапии [126].

Полиморфизм генов изофермента CYP2C19 может определять клинический профиль эффективности антиагрегантной терапии у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС), перенесших чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ). Недавнее исследование Gosling et al., 2017 показало, что разница частоты тромбоза стента при применении данных антиагрегантов у

пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST статистически не значима (тикагрелор = 1.0%, клопидогрел = 1.5%, прасугрел = 1.6%; $p = 0.29$) [65].

Основываясь на современных экономических оценках, внедрение генотипориентированной терапии CYP2C19 является экономически эффективным подходом при выборе медикаментозного лечения у пациентов с ОКС, перенесших ЧКВ [51].

Кроме того, следует использовать клопидогрел в случае непереносимости пациентом аспирина [81]. Однако, при терапии данным препаратом нередко наблюдается вариабельность фармакологического ответа как следствие индивидуальных различий в скорости биотрансформации на уровне изоферментов цитохрома P-450, в частности CYP2C19. Двухступенчатая трансформация клопидогрела на уровне печени обеспечивается изоферментами CYP3A4 и CYP2C19 [100]. Аллельные варианты CYP2C19*2 и CYP2C19*3 кодируют изоформы энзима с низкой ферментативной активностью, что в свою очередь приведёт к замедлению образования активной формы клопидогрела. При назначении препарата в стандартной дозе эффективность фармакотерапии будет недостаточна, что является прямой предпосылкой для тромботических осложнений [116].

Аллели с медленным метаболизмом гена CYP2C19 имеют выраженную этническую изменчивость, составляя 3% у европеоидов и почти 16% у всех монголоидов, имеющих медленный метаболизм. Изучение межэтнических особенностей распространенности клинически значимых полиморфизмов гена CYP2C19 особенно актуально для такой многонациональной страны, как Российская Федерация. Результатом обнаружения таких различий может стать разработка рекомендаций и предупреждений в применении лекарственных препаратов для пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, для практикующих врачей в отдельно взятом регионе РФ [20].

Еще одним изоферментом системы цитохрома P450 является CYP2D6, который участвует в метаболизме широкого ряда препаратов, в том числе бета-блокаторов. Наличие аллельного варианта CYP2D6*4 приводит к снижению

активности фермента, что замедляет метаболизм препаратов и может привести к появлению побочных реакций [96]. Например, FDA отмечает, что носительство "медленных" аллелей по CYP2D6 приводит к снижению кардиоселективности метопролола в связи с повышением его концентрации в крови [95]. В работе Сычева Д.А. и соавторов приводятся сведения о том, что у гомозигот CYP2D6*4 наблюдалась выраженная брадикардия (менее 56 ударов в 1 мин.), что не отмечалось у гомозигот по аллелю «дикого типа» и гетерозигот. Сравнительно с ривороксабаном, дабигатран проявил себя эффективнее во всех группах пациентов с легочной эмболией, тромбозом глубоких вен. В ценовом отношении дабигатран также намного дешевле, в результате чего дабигатран занимает доминирующую позицию по частоте применения [72]. Исследования последних лет показывают, что полиморфизм гена гидролазы CES1 может определять межиндивидуальные различия безопасности дабигатрана – прямого орального антикоагулянта группы ингибиторов тромбина, связанных со снижением концентрации препарата у носителей полиморфизма *rs2244613*. Однозначных данных пока нет, но предполагается, что маркер может использоваться для персонализации антикоагулянтной терапии дабигатраном, в том числе, с учетом этнического фактора [9].

Сердечно-сосудистые заболевания атеросклеротического генеза являются главной причиной смерти населения в мире; заболеваемость ими и смертность возрастают при урбанизации и индустриализации. В ходе 5-летних рандомизированных клинических исследований установлено, что статины снижали риск возникновения проявлений сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротического генеза на 25-45%; считается также, что длительное лечение может привести даже к большему снижению рисков [23]. Данные рандомизированных клинических исследований показывают, что снижение концентрации холестерина в сыворотке крови снижает риск развития ишемической болезни сердца и нарушений мозгового кровообращения [60, 89, 52, 55, 61, 58, 56, 59]. Существует ряд факторов, которые увеличивают системное воздействие статинов и предрасполагают к СРМ. К ним относятся: пожилой возраст,

сопутствующий прием других лекарств и несинонимичный вариант rs4149056 в SLCO1B1, который кодирует печеночный синусоидальный транспортер OATP1B1 [57]. В настоящее время определение генотипов по аллельному варианту SLCO1B1*5 рекомендовано для практического использования экспертами Европейского научного фонда, существуют также рекомендации CPIC по фармакогенетическому тестированию для персонализации режимов терапии симвастатином. Выбор правильной тактики фармакотерапии статинами особенно актуален для пациентов, нуждающихся в высоких дозах статинов, страдающих от гиперхолестеринемии и, связанных с ней, коронарных осложнений. Расширение знаний в области фармакогенетики позволило выявить расово-этнические особенности различий фармакологического ответа в зависимости от распространённости генетических биомаркёров в том или ином регионе. Данный аспект может играть важную роль при принятии клинических решений, особенно в такой многонациональной стране как Россия. В Республике Саха (Якутия), где большую часть населения составляет коренной народ республики, существует потребность в оптимизации применения ЛП сердечно-сосудистого профиля с учетом генетических особенностей местного населения. Существует необходимость дальнейшего расширения использования фармакогенетического тестирования для персонализации фармакотерапии и повышения качества обеспечения медицинской помощью населения.

Степень разработанности темы диссертации.

В настоящее время идет интенсивное изучение влияния генетических факторов на формирование ответа организма человека на лекарственные средства: эффективность или неэффективность, развитие неблагоприятных побочных реакций. Результаты таких исследований и установленные ими закономерности позволяют врачу индивидуально подходить к выбору, как самих препаратов, так и их доз у каждого конкретного пациента, обеспечивая максимально эффективную и безопасную фармакотерапию.

Нередко наблюдаемая вариабельность фармакологического ответа в следствие индивидуальных различий в скорости биотрансформации на уровне изоферментов цитохрома P-450 находит отражение, в том числе, и на популяционном уровне. В России вопрос этнической чувствительности к ЛП нашел отражение в ряде работ отечественных авторов (Кукес В.Г., 2004; Сычев Д.А., 2006; Сулейманов С.Ш., 2003; Макеева О.А, 2008; Мирзаев К.Б., 2015; Баирова Т.А., 2018г. и другие) [44]. Их работы содержат фундаментальные основы исследований в фармакогенетике.

Доказано, что носительство аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 и генотип AA по полиморфному маркеру G3673A ассоциируются с низкими подобранными дозами варфарина, нестабильностью антикоагулянтного эффекта, более частыми кровотечениями при его применении [45]. Ген SLCO1B1 кодирует полипептид, транспортирующий статины из крови портальной системы в гепатоциты. Определение генотипов по аллельным вариантам SLCO1B1*5, CYP2C9, VKORC1 и CYP2D6 уже рекомендовано для практического использования экспертами Европейского научного фонда (ESF). Актуальным представляется разработка новых подходов к повышению безопасности лечения этим препаратом. Lindh JD и Mizzi C. показали, что лица европейского происхождения, которые являются носителями одной или двух копий *2 или *3, более чувствительны к варфарину.

Кроме того, одним из способов изучения ассоциаций между нежелательными лекарственными реакциями и аллельными вариантами, является изучение их частот в группах пациентов, у которых были зарегистрированы нежелательные лекарственные реакции. Подобное исследование проводилось в Германии. Н. Wuttke и соавторы (2002) [139], опросив 1200 немецких врачей, изучив генотип CYP2D6 у 26 пациентов с серьезными нежелательными реакциями метопролола (коллапс, асистолия, выраженная брадикардия, АВ-блокада III степени) показали, что 38% из них были гомозиготами по функционально дефектным аллельным вариантам гена CYP2D6. Эта частота была в 5 раз выше по сравнению с

пациентами, у которых не наблюдалось серьезных нежелательных лекарственных реакции при применении метопролола.

Различная частота носительства медленных аллелей CYP2C9*2 и CYP2C9*3 встречалась у чукчей, эвенков - 3% и 9%, 3 и 7% соответственно, показана в российских исследованиях [43]. Вариация CYP2C19*2, по данным проанализированных исследований, была выше среди представителей монголоидной расы. Изученная частота данного генотипа наблюдалась среди калмыков, а наименьшая – среди ингушей. Следует отметить, что носительство клинически значимого генотипа CYP2C19*3 изучалось не во всех исследованиях; наибольшая частота составила 21,2% среди татар [24].

Фармакогенетическое тестирование может использоваться также у российских пациентов с гиперлипидемиями для персонализации выбора начальной дозы аторвастатина, а максимальной, в таких клинических ситуациях, как острый коронарный синдром или неэффективность более низких доз препарата.

Считается, что в основе большинства расовых, этнических и территориальных различий в реакциях на лекарственные средства лежат генетические вариации – мутации, изменяющие свойства рецепторов, биохимические механизмы и метаболизирующие ферменты. Знание этого открывает перед специалистами огромное количество направлений работы в области персонализации медицины.

Не смотря на достигнутые успехи, до настоящего времени нет четких фармакогенетических критериев, позволяющих персонализировать терапию сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов Республики Саха (Якутия), что и явилось основанием для проведения настоящего диссертационного исследования.

Цель исследования – оптимизация медикаментозной терапии у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями с учетом этнической чувствительности, оцененной по результатам фармакогенетического тестирования в Республике Саха (Якутия)

В соответствии с целью исследования поставлены следующие задачи:

1. Проанализировать этническую чувствительность к терапии (на примере терапии антагонистами витамина К и бета-адреноблокаторами) путем сопоставления подобранных доз варфарина, метопролола, бисопролола у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями из этнических групп якутов (саха) и этнических русских;

2. Определить вклад фармакогенетических факторов в этническую чувствительность к терапии (на примере терапии антагонистами витамина К и бета-адреноблокаторами) путем оценки ассоциаций носительства полиморфизмов генов CYP2C9, VKORC1 и CYP2D6 и величинами подобранных доз варфарина, метопролола, бисопролола соответственно;

3. Оценить возможности использования фармакогенетического тестирования CYP2C9, VKORC1 и CYP2D6 для прогнозирования индивидуального режима дозирования антагонистов витамина К и бета-адреноблокаторов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями;

4. Изучить частоты аллелей и генотипов, ассоциированных с чувствительностью к терапии препаратами, применяемыми у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями в этнических группах, проживающих в Республике Саха (Якутия);

5. Оценить эффективность внедрения фармакогенетического тестирования для персонализации терапии пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями: востребованность, приверженность, отношения врачей и пациентов;

Научная новизна результатов диссертационной работы

Впервые проведен анализ этнической чувствительности к терапии антагонистами витамина К и бета-адреноблокаторами на основе сопоставления подобранных доз варфарина, метопролола, бисопролола у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями из групп этнических якутов (саха) и этнических русских, что определяет возможности персонализированного подхода к терапии антикоагулянтами.

Выявлена ассоциация подобранных доз варфарина, метопролола, бисопролола и полиморфизмов генов CYP2C9, VKORC1 и CYP2D6 среди

пациентов этнических якутов, что подтверждает целесообразность включения фармакогенетического тестирования в протоколы обследования данного контингента пациентов.

Фармакогенетическое тестирование позволяет построить прогноз эффективности используемого индивидуального режима дозирования антагонистов витамина К и бета-адреноблокаторов у пациентов этнических якутов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Установлены и сопоставлены частоты аллельных вариантов и генотипов CYP2C9, VKORC1, CYP2D6, CYP2C19, CES1 у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями среди этнических групп якутов и русских, позволяющие прогнозировать выход на подобранную дозу антикоагулянтов, антиагрегантов, статинов у каждого конкретного больного.

Оценка результатов внедрения фармакогенетического тестирования для персонализации терапии пациентов этнических якутов с сердечно-сосудистыми заболеваниями: востребованность, приверженность, отношения врачей и пациентов создает условия для оптимизации тактики ведения и повышения эффективности лечения данного контингента больных.

Теоретическая и практическая значимость диссертационной работы

Сформулирована концепция персонализированной терапии сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов этнических якутов, основанная на анализе особенностей распространенности клинически значимых аллельных вариантов полиморфных генов, кодирующих белки биотрансформации и транспортеров лекарственных средств, анализе этнической чувствительности и подобранной дозы антиагрегантов, антикоагулянтов, статинов.

Разработана научная идея фармакогенетического тестирования антагонистов витамина К и β -адреноблокаторов при медикаментозной терапии сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов Республики Саха (Якутия), что сделало возможным получение информации, необходимой для обоснованного персонализированного лечения больных с повышенной этнической чувствительностью к указанным лекарственным препаратам.

Разработанные подходы к персонализации терапии на основе фармакогенетического тестирования к варфарину, клопидогрелу, метопрололу, дабигатрану, статинам могут быть рекомендованы для внедрения в работу отделений реанимации, неврологии, кардиологии, реабилитации с целью эффективной и безопасной фармакотерапии вышеуказанными препаратами, которые позволят повысить эффективность антикоагулянтной, гиполипидемической, антиаритмической терапии у данной категории больных. Выявленные особенности распространенности клинически значимых аллельных вариантов полиморфных генов, кодирующих белки биотрансформации и транспортеров лекарственных средств, в популяции в Республике Саха (Якутия) могут быть использованы для оптимизации в данном регионе фармакотерапии сердечно-сосудистых заболеваний, которые характеризуются высокими показателями смертности и частотой осложнений, а также для профилактики ятрогенных поражений внутренних органов, связанных с повышенной этнической чувствительностью к данным лекарственным препаратам.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Установлено, что фармакогенетические исследования генов CYP2C9, VKORC1, CYP2D6 у этнических якутов позволяют прогнозировать подобранные дозы антагонистов витамина К и бета-блокаторов и обосновать генетические различия в подобранных дозах варфарина, бисопролола, метопролола в этнических группах якутов и русских, а на основании выявления частоты аллельных вариантов и генотипов генов CYP2C9, VKORC1, CYP2D6, CYP2C19, CES1, SLCO1B1 существует возможность определять этническую чувствительность к медикаментозной терапии у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями в Республике Саха (Якутия), что позволяет прогнозировать эффективность дозы назначаемых препаратов и обосновать персонализированный подход к терапии каждого конкретного больного.

2. Компетентность врачей в фармакогенетическом тестировании повышает приверженность пациентов этнических якутов с сердечно-сосудистыми

заболеваниями к медикаментозной терапии, что способствует повышению эффективности лечения и качества жизни пациентов.

Степень достоверности и апробация диссертационной работы

Аналізу подвергнуты результаты обследования и лечения 825 пациентов этнических якутов, получавших лечение антиагрегантами.

Результаты проведенного исследования получены на высокоинформативном сертифицированном оборудовании, калибровка которого в период проводимого исследования осуществлялась согласно инструкции по эксплуатации приборов. Носительство полиморфных маркеров генов CYP2C19, CYP2C9, CES1, CYP2D6 определялось с помощью приборов CFX 96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA, 2013).

Полученные результаты согласуются с опубликованными данными по теме диссертации. Достоверность полученных результатов подтверждается также актом проверки первичного материала от «1» ноября 2021 г.

Проведение диссертационной работы одобрено Комитетом по этике научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол 02 апреля 2021 г. (Протокол № 5).

Апробация диссертации состоялась «3» ноября 2021 года на расширенном заседании кафедры клинической фармакологии и терапии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол №9).

Основные результаты и положения диссертационной работы доложены и обсуждены на XI международном научном конгрессе «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 06-08 октября 2017 г.), XII международном научном конгрессе «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, 05-07 октября 2018 г.), II Российской зимней школе молодых ученых и врачей по фармакогенетике, фармакогеномике и персонализированной терапии (г. Москва, 12-15 февраля 2019 г.).

Внедрение результатов диссертационной работы

Результаты диссертационного исследования внедрены в практику работы поликлиники Якутской больницы ФГБУЗ ДВОМЦ ФМБА России (акт внедрения

от 10 января 2023г.), хирургического и терапевтического отделений Государственного бюджетного учреждения Республики Саха (Якутия) Республиканской больницы №2 – Центра экстренной медицинской помощи (акт внедрения от 10 января 2023 г.)

Полученные в результате исследования научные данные используются в учебном процессе на кафедре клинической фармакологии и терапии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России при проведении теоретических и практических занятий на циклах повышения квалификации врачей терапевтов и клинических фармакологов и на кафедре пропедевтической и факультетской терапии с эндокринологией и ЛФК Северо-Восточного Федерального Университета (СВФУ) (акты внедрения от 29.03.2021 г.. от ноября 2013 г.).

Научные публикации по теме диссертационной работы

По теме диссертационного исследования опубликовано 10 научных работ, в том числе 3 статьи в научных рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 4 публикации в изданиях, индексируемых в международной базе данных и системе цитирования - SCOPUS, 1 публикация в сборнике тезисов и докладов международных и российских конференций, зарегистрирована 1 электронная программа «Лекген» (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2016611505).

Личный вклад автора

Личный вклад автора в науку заключается в расширении представления о возможностях использования фармакогенетического тестирования с целью персонализации терапии сердечно-сосудистых заболеваний у коренного населения Республики Саха (Якутия), профилактики осложнений, обусловленных повышенной этнической чувствительностью к непрямые антикоагулянтам, бета-адреноблокаторам, статинам.

Полученные результаты, изложенные в диссертации, основаны на анализе научной отечественной и зарубежной литературы, обосновании актуальности темы диссертационной работы и степени разработанности проблемы, разработки идеи

работы, формулировки цели и задач диссертационной работы, определении методологического подхода и методов их решения; непосредственного участия соискателя в получении исходных данных. Самостоятельно выполнена основная часть работы – фармако-генетические исследования, лечение и наблюдение за пациентами, забор крови для фармакогенетического исследования, анализ и статистическая обработка полученных данных, обобщение результатов, формулировка положений, выносимых на защиту, выводов и практических рекомендаций, подготовка материалов для публикаций по теме диссертационной работы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует паспорту специальности 3.1.18. «Внутренние болезни» и направлениям исследования: – направлению исследования: – п. № 18 «Фармакоэпидемиологические (ретроспективные и проспективные) исследования, включая изучение структуры назначения лекарственных средств при профилактике и лечении различных заболеваний» и п.20 – «Разработка и оптимизация методов фармакотерапии и профилактики заболеваний у различных групп пациентов с учетом индивидуальных особенностей, включая исследование приверженности фармакотерапии (комплаентности)». 3.3.6. – «Фармакология, клиническая фармакология» и областям исследований: п № 6 «Исследование фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств. Установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция полученных данных с биологических моделей на человека»;

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 145 страницах печатного текста. Состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, трех глав собственного исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, включающего 148 источников: 49-отечественных и 99 - иностранных авторов. Работа содержит 45 таблиц и 18 рисунков.

Материал и методы исследования

Теоретической базой диссертационного исследования являются ранее проведенные исследования, установившие ассоциацию полиморфизмов генов CYP2C9, VKORC1, CYP2D6, CYP2C19, CES, SICO1B1 с профилем безопасности лекарственных средств, применяющихся для персонализации фармакотерапии у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями в различных этнических группах. Это прежде всего отечественные и зарубежные работы по фармакогенетике антикоагулянтов из группы антагониста витамина К варфарина, метопролола, статинов, клопидогреля, дабигатрана (Кукес В.Г., 2004; Сычев Д.А., 2006; Сулейманов С.Ш., 2003; Макеева О.А., 2008; Мирзаев К.Б., 2015; Баирова Т.А., 2018г). На основе этих исследований разработаны и валидизированы алгоритмы персонализации применения варфарина и дабигатрана для первичной и вторичной профилактики кардиоэмболического инсульта у пациентов с фибрилляцией предсердий; статинов - с целью лечения и профилактики гиперлипидемии; клопидогреля - для профилактики сердечно-сосудистых событий и в-блокаторов - с целью профилактики неблагоприятных побочных реакций (Сычев Д.А., 2006г., Цветов В.М., Кетова Г. 2013г., Gage et al., 2008, Verhoef TI, Redekop WK, Daly AK, et al., 2013).

Методологическая база исследования представляет собой комплексное использование клинических (дозирование лекарственных препаратов варфарина, в-блокаторов) и фармакогенетических методов (выявление полиморфизмов генов-кандидатов методом Real-Time PCR) для разработки персонализированного подхода к ранней вторичной профилактике кардиоэмболического инсульта у пациентов с фибрилляцией предсердий с использованием варфарина, дабигатрана; для профилактики сердечно-сосудистых событий с клопидогрелем; профилактики статининдуцированной миопатии и рабдомиолиза у пациентов, принимающих статины; предупреждения неблагоприятных побочных реакций у пациентов, принимающих в-блокаторы.

Предметом диссертационного исследования является обоснование персонализации терапии сердечно-сосудистых заболеваний у этнических якутов на основе фармакогенетического тестирования.

Объект исследования: пациенты с неклапанной фибрилляцией предсердий; пациенты с гиперлипидемией, пациенты с ишемической болезнью сердца и острым коронарным синдромом, проходящие лечение и (или) фармакогенетическое тестирование на базе Центра персонализированной медицины ГАУ РС(Я) «Республиканская клиническая больница № 3».

Основные группы:

1. 84 пациента этнических якутов (саха) с неклапанной фибрилляцией предсердий перед назначением или принимающих варфарин;
2. 76 пациентов этнических якутов (саха) с гиперлипидемиями на терапии статинами;
3. 108 пациентов в коренной популяции Якутии с ИБС, принимающих метопролол или бисопролол, атенолол;
4. 289 пациентов этнических якутов с неклапанной фибрилляцией предсердий или после ортопедического оперативного лечения, принимающих дабигатран;
5. 268 пациентов этнических якутов с диагнозом ОКС, принимающих клопидогрел.

Критерии включения:

1. Подтвержденный диагноз неклапанной фибрилляции предсердий у пациентов этнических якутов, принимающих варфарин;
2. Наличие показаний у пациентов этнических якутов, лечившихся метопрололом согласно инструкции по применению препарата;
3. Наличие гиперлипидемии у пациентов этнических якутов, принимающих статины;
4. Неклапанная фибрилляция предсердий, принимающих дабигатран;
5. Наличие ИБС или стентирования коронарных сосудов у пациентов, этнических якутов, принимающих клопидогрел.

Критерии невключения:

Наличие противопоказаний к применению варфарина, дабигатрана, клопидогреля, метопролола и статинов.

Контрольная группа:

1. 95 пациентов русской национальности с неклапанной фибрилляцией предсердий, принимающих варфарин;
2. 1071 пациент этнических русских с гиперлипидемиями;
3. 133 пациента этнических русских с неклапанной фибрилляцией предсердий или после ортопедического оперативного лечения, принимающих дабигатран;
4. 93 пациента этнических русских, планирующих принимать бисопролол, метопролол или принимающих в-блокаторы с отсутствием эффективности дозы;
5. 143 пациента этнических русских с ИБС или ОКС, планирующих или принимающих клопидогрель.

Методы исследования:

- Эпидемиологический анализ фармакогенетических исследований CYP2C9, VKORC1C1 у пациентов с фибрилляцией предсердий и клапанной патологией; CYP2C19, CES, SICO1B1, CYP2D6 у пациентов этнических якутов с сердечно-сосудистыми заболеваниями;

- Оценка результатов генотипирования по аллельному варианту CYP2C9, VKORC1, CYP2C19, CES, CYP2D6, SICO1B1, методом Real-Time PCR у этнических якутов. Данный метод является предпочтительным для определения полиморфизма генов человека, так как обладает высокой чувствительностью и специфичностью;

- Сравнительный анализ результатов генотипирования по аллельному варианту CYP2C9, VKORC1C1, CYP2C19, CES, SICO1B1, CYP2D6 методом Real-Time PCR пациентов этнических якутов и этнических русских; сравнительный анализ ассоциаций носительства полиморфизмов генов CYP2C9, VKORC1 и CYP2D6 с величинами подобранных доз варфарина и бисопролола у якутов и этнических русских.

- Обоснование возможности использования фармакогенетического тестирования CYP2C9, VKORC1 и CYP2D6 для прогнозирования индивидуального режима дозирования антагонистов витамина К и бета-адреноблокаторов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Используемые средства исследования:

- Амплификатор Real-Time CFX96 Touch – многофункциональная и высокоточная шестиканальная система ПЦР в режиме реального времени, созданная на базе термоциклера C1000 Touch и оптического реакционного модуля CFX96 Touch, обеспечивающая получение точных и достоверных результатов.

- Анкеты пациентов, направленных на фармакогенетическое тестирование и пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями, которым было проведено фармакогенетическое тестирование.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний и смертности в Российской Федерации и Якутии

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются ведущей причиной смерти в мире: они ежегодно уносят 17,5 миллионов человеческих жизней. В России, по данным Росстата среди всех причин смертности болезни системы кровообращения занимают лидирующие позиции, опережая болезни органов дыхания, пищеварения и новообразования [48].

В России среди социально значимых заболеваний ССЗ занимают первое место. Так, например, показатель смертности населения России от болезней системы кровообращения в 2019 году составил 573 на 100 тыс. населения и на эту причину смерти приходится 46,8% от всех случаев смерти [4]. Всего болезнями сердца и сосудов в России страдают более 23 миллионов человек. К факторам риска сердечно-сосудистых заболеваний относятся: повышенное артериальное давление, повышенный уровень холестерина, курение, нерациональное питание, ожирение, чрезмерное потребление алкоголя, низкая физическая активность.

Республика Саха (Якутия) – субъект России, по своим природным и территориальным условиям не имеет аналогов на планете. Республика расположена в Северо-Восточной части Евразийского материка и является самым большим регионом Российской Федерации (РФ). Общая площадь территории Якутии составляет 3,1 млн. км². Свыше 40% территории республики находится за Полярным кругом. До настоящего времени Якутия является одним из самых изолированных и труднодоступных в транспортном отношении регионов мира: 90% территории не имеет круглогодичного транспортного сообщения. Природно-климатические условия Якутии во многих отношениях характеризуются как экстремальные, это самый холодный из обжитых регионов планеты. Климат резко континентальный, отличается продолжительным зимним и коротким летним периодами. По абсолютной величине минимальной температуры (до -70°C) и по ее

суммарной продолжительности (от 6,5 до 9 мес. в году) республика не имеет аналогов в Северном полушарии. Отличительная особенность Якутии – чрезвычайно низкая плотность населения $\approx 0,3$ чел. на 1 км^2 . Население внутри самой республики распределено неравномерно. На характер расселения заметное воздействие оказывают природно-климатические и экономические факторы. Все эти факторы играют немаловажную роль в формировании особенностей течения и лечения сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов этнических якутов.

По статистическим данным, общая численность населения РС(Я) в 2020 г. составила 972000 чел. Несмотря на ежегодную тенденцию снижения смертности, болезни сердечно-сосудистой системы сохраняют первенство среди основных причин летальных исходов населения г. Якутска. В 2019 г. общая заболеваемость болезнями системы кровообращения в Якутии составила 281,5 на 1000 взрослого населения (в 2018 г. - 239; в РФ-306,5 и в ДВФО -258,9 на 1000 населения). Высокая заболеваемость в большинстве случаев отмечается в отдаленных арктических, северных районах, где проживает преимущественно коренное население. Первичная заболеваемость болезнями системы кровообращения составляет 43,2 на 1000 населения.

В 2019 г. в структуре смертности населения республики первое место занимали болезни системы кровообращения (45,5%), новообразования (17,9%) и внешние причины (14%) (Таблица 1).

Таблица 1

Структура причин общей смертности, %

	Год	Болезни системы кровообращения	Новообразования	Внешние причины
РФ	2015	48,7	15,7	8,6
	2016	47,7	15,6	9,3
	2017	47,3	16,1	8,4
	2018	46,8	16,3	7,9

Продолжение Таблицы 1

РФ	2019	46,8	16,6	7,7
ДФО	2015	46,8	15,9	12,7
	2016	46	16,1	11,7
	2017	44,1	16,4	11,3
	2018	43,7	16,7	11,8
	2019	45	16,8	11,4
РС(Я)	2015	45,4	15,3	17
	2016	44	16,1	16,2
	2017	44,7	16,7	16,4
	2018	45,3	17,8	15,6
	2019	45,5	17,9	14

Фибрилляция предсердий – наиболее распространенное нарушение сердечного ритма, встречающееся в 1-2% общей популяции (более 6 млн. европейцев имеют фибрилляцию предсердий). По мере старения населения предполагается увеличение распространенности фибрилляции предсердий по меньшей мере в 2 раза в течение последующих 50 лет, распространенность фибрилляции предсердий увеличивается с возрастом от менее 0,5% в 40-50 лет до 5-15% - в 80 лет. Анализ 63 589 больных со стабильными проявлениями атеротромбоза, включёнными во всемирный регистр REACH, показал, что у данной категории пациентов частота ФП составляет 10,7% [27]. Результаты наблюдательного исследования пациентов с ОКС и ФП, поступивших в московскую “неинвазивную” больницу, показали высокую частоту смертельных исходов через 12 месяцев после ОКС (18,1%), невысокую приверженность к прописанному при выписке лечению. Кроме того, в изучаемой группе были выявлены предикторы смертельных исходов через 12 месяцев после ОКС., одним из которых являлось неиспользование антитромботических препаратов до ОКС [13]. В исследовании SPAF (n=2012) ежегодная частота инсульта у пациентов с непостоянной и постоянной формами ФП составила 3,2% и 3,3%, соответственно

[30]. Сопоставимое увеличение риска инсульта и системных тромбоэмболий у пациентов с пароксизмальной или персистирующей постоянными формами ФП было выявлено и в исследовании ACTIVE W [144, 108, 71]. Фремингемское исследование показало связь артериального давления (АД) и высокого холестерина с ИБС и смертностью от нее. ЭССЕ-РФ зарегистрировали рост АГ [7].

Следует, однако, отметить, что в последние годы смертность от болезней системы кровообращения в Республик Саха (Якутия) снизилась на 1,9% и составила 357,1 на 100 тыс. населения (ниже, чем в РФ в 1,6 раза и ДФО в 1,5 раза) и наблюдается устойчивая тенденция снижения уровня смертности населения от данной причины (рис.1).

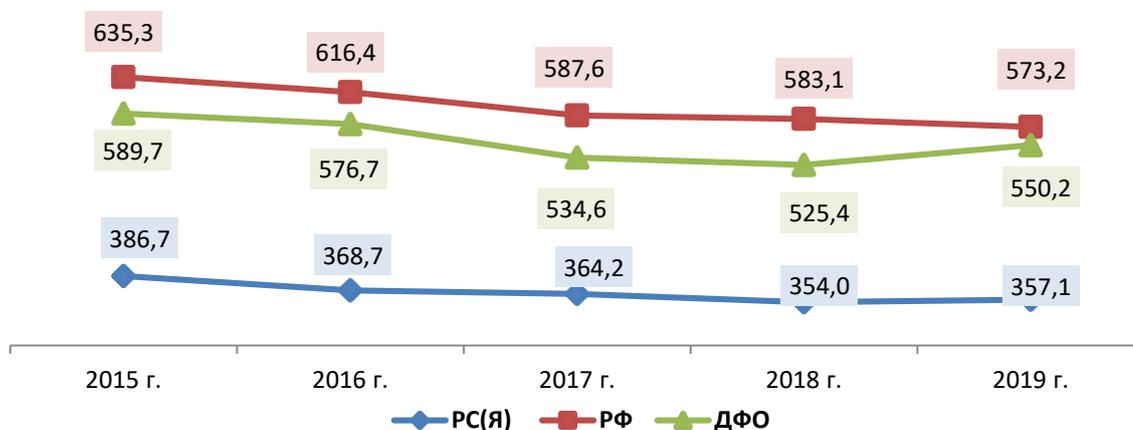


Рисунок 1 - Смертность от болезней системы кровообращения (на 100 тыс. населения), Форма федерального статистического наблюдения 14

Целями программы «Развитие здравоохранения», утвержденной Правительством Российской Федерации являются увеличение к 2025 году ожидаемой продолжительности жизни при рождении до 76 лет, снижение к указанному периоду смертности населения в трудоспособном возрасте до 380 на 100 тыс. населения, смертности от болезней системы кровообращения - до 500 на 100 тыс. населения.

1.2. Наиболее часто применяемые лекарственные препараты у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

Наиболее распространенными сердечно-сосудистыми заболеваниями являются: атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, стенокардия, инфаркт

миокарда, гипертоническая болезнь, аритмии, сердечная недостаточность. В лечении сердечно-сосудистых заболеваний используются в-блокаторы, антикоагулянты, антиагреганты, статины (рисунок 2).

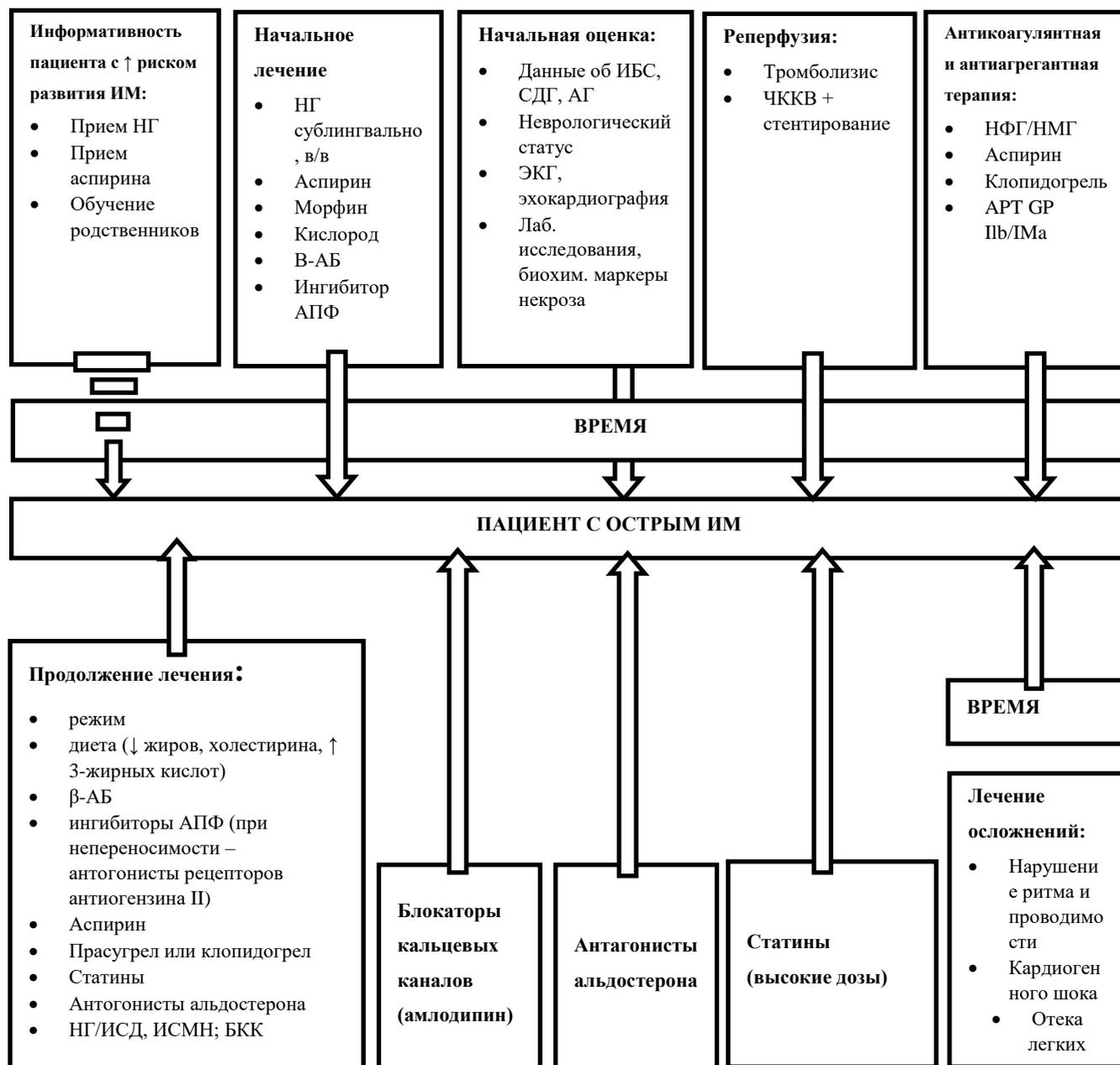


Рисунок 2 – Лечение ССЗ

Лекарственные препараты у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями являются также препаратами, применяемыми для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний. Для предупреждения инсульта и системной эмболии пациентам с ФП старше 50 лет с дополнительными факторами риска,

представленными в системах его стратификации CHADS2 и CHA2DS2-VASc, рекомендуется прием пероральных антикоагулянтов. Оральная антикоагуляция с помощью антагонистов витамина К (АВК) или не относящихся к АВК оральных антикоагулянтов (НОАК) может предотвратить большинство ишемических инсультов у пациентов с ФП и продлить их жизнь. [67]. Эффективная профилактика тромбоэмболических осложнений у пациентов с постоянной фибрилляцией предсердий остается актуальной, поскольку данное заболевание повышает риск ишемического инсульта в 3–5 раз и увеличивает смертность в 1,5–2 раза [21]. Варфарин является наиболее часто применяемым антикоагулянтом данной группы лекарственных препаратов [33]. В связи с этим, тщательно анализируются все взаимодействия препарата с лекарствами и пищевыми продуктами; пересмотр инструкций по его применению осуществлялся с 1954 г. более 20 раз. Терапия варфарином в период ее проведения предупреждает возможность рецидива венозного тромбоза на 90–95%, снижает риск инсульта при неклапанном мерцании предсердий на 68%. Применение варфарина в адекватной дозе позволяет снизить не только частоту инсульта, но и тяжесть его клинических проявлений, а также смертность. Доказанной является эффективность оральных антикоагулянтов для первичной и вторичной профилактики тромбоэмболических осложнений у больных с мерцательной аритмией и непосредственно ишемического инсульта, как наиболее частого из них (91% всех случаев) - [64, 33].

В 2003 году Национальный институт здоровья США досрочно закончил широкомасштабное, мультицентровое исследование PREVENT, в котором была доказана эффективность варфарина в плане профилактики венозных тромбозов [36].

Тем не менее, более половины больных, госпитализированных в стационары Франции с нарушением мозгового кровообращения по причине ФП, никогда ранее не получали ни непрямым антикоагулянтов, ни АСК. Stolberger С. и соавт., опросив 1500 больных с ФП, выписанных из стационаров Австрии, констатировали, что только 26% из них получали антикоагулянты непрямого действия (АНД) и 31% – ацетилсалициловую кислоту (АСК). По данным Carlson J. и соавт., 78% пациентов

с инсультом и предшествующей ФП не получали варфарин, этот препарат назначался только 40% больных при выписке для вторичной профилактики инсульта. Лечение АНД в мире получает 1 из 200 пациентов, в России – только 1 из 10 тыс. Возможность применения новых оральных антикоагулянтов (НОАК) серьезно ограничена у больных с тяжелым нарушением функции почек.

При использовании стандартного алгоритма подбора варфарина в поликлинических условиях целевые значения международного нормального отношения (МНО) были достигнуты в 40% случаев, т.е. меньше, чем в половине наблюдений [36]. Это значит, что 60% пациентов группы контроля принимали неэффективную дозу препарата. В целом следует отметить, что данная группа отличалась низким уровнем контроля МНО (35% пациентов). Именно это являлось основным фактором риска кровотечений на фоне терапии варфарином в поликлинических условиях [17]. Фармакогенетический метод подбора дозы, действительно, снижает риск развития у пациентов эпизодов чрезмерной гипокоагуляции и кровотечений, особенно «больших» доз [25]. Быстрые темпы достижения антикоагулянтного эффекта в подавляющем большинстве случаев связаны с носительством «неблагоприятного генотипа» (аллельных вариантов CYP2C9 *2/*2, или *3/*3, или 2/*3, или аллельного варианта AA VKORC1, или одновременного носительства двух гетерозиготных полиморфизмов CYP2C9 и VKORC1) [18].

По данным крупных многоцентровых исследований именно антитромбические препараты, наряду с гиполипидемическими, существенно влияют на частоту развития острых сосудистых ситуаций, уменьшают смертность и увеличивают продолжительность жизни пациентов. Учитывая значение тромбоцитов для первичного и коагуляционного гемостаза, особое внимание уделяется препаратам, способным оказывать влияние на их активность [145]. Назначение комбинации АСК и дипиридамола, наряду с монотерапией аспирином и монотерапией клопидогрелом, показано в качестве инициальной терапии после перенесенных транзиторных ишемических атак (ТИА) [140]. В настоящее время

известно около 20 антитромбоцитарных средств, которые, путем влияния на различные звенья метаболизма лекарственного препарата, могут блокировать агрегацию тромбоцитов, тем самым прекращая тромбообразование уже на начальном этапе. Механизм антитромботического действия аспирина заключается в торможении агрегации тромбоцитов путем необратимого ингибирования циклооксигеназы, которое в конечном итоге приводит к уменьшению синтеза тромбоксана А₂. В течение длительного времени аспирин был признан «золотым стандартом» антиагрегантной терапии. В настоящее время установлено, что аспирин не снижает сердечно-сосудистой смертности и может способствовать развитию геморрагического инсульта. К тому же, по данным некоторых авторов, ему присуща довольно широкая вариабельность индивидуальных ответов, что затрудняет подбор индивидуальной дозы [130].

Новые блокаторы P2Y₁₂ (prasugrel и ticagrelor) продемонстрировали значительное уменьшение при их назначении клинических проявлений ишемического поражения сердца по сравнению с назначением клопидогрела после острого коронарного синдрома (ОКС). Достоверных различий по ишемическим конечным точкам выявлено не было, в то время как кровотечение BARC ≥ 2 произошло у 13 (4,0%) пациентов в группе переключенной двойной антиагрегантной терапии (ДАТ) и у 48 (14,9%) в группе неизменной ДАТ (ОР 95% ДИ 0,30 (0,18-0,50), $P < 0,01$). Переключенная глубина превосходит неизменную адаптационную стратегию для предотвращения осложнений кровотечения без увеличения ишемических событий после ОКС [63]. Направленная деэскалация антитромбоцитарной терапии не уступала стандартной терапии prasugrelom через 1 год после ЧКВ по клинической пользе. Ранняя деэскалация антитромбоцитарной терапии может рассматриваться как альтернативный подход у пациентов с острым коронарным синдромом, управляемым ЧКВ [66]. Терапия тикагрелором преодолевает невосприимчивость к клопидогрелу, и его антитромбоцитарный эффект одинаков как у ответчиков, так и у не ответчиков. Почти все не реагирующие на клопидогрел, и ответчики, получающие тикагрелор, будут иметь реактивность тромбоцитов ниже точек среза, связанных с

ишемическим риском [90]. В некоторых случаях (появление или повторение клинически значимые кровотечения, причину которых невозможно выявить и/или устранить; небольшие повторяющиеся («надоедливые») кровотечения, источник которых устранить не удастся, сказывающиеся на приверженности к лечению; побочные эффекты тикагрелора (клинически значимая одышка, клинические проявления гиперурикемии); появление показаний к длительному лечению антикоагулянтами (ФП, ТГВ/ТЭЛА, тромб в полости левого желудочка, имплантация искусственного клапана сердца); возникновение ишемического инсульта или ТИА у получающих прасугрел; стремление уменьшить стоимость лечения; желание пациента уменьшить кратность приема препарата (переход с тикагрелора на клопидогрел) и число принимаемых таблеток (переход с тикагрелора/прасугрела на фиксированную комбинацию АСК с клопидогрелом) с целью улучшения приверженности лечению; ограниченная доступность прасугрела или тикагрелора, не позволяющая обеспечить их регулярный прием в первые 12 месяцев после ИМпСТ для снижения риска кровотечений рекомендуется рассмотреть переход с прасугрела или тикагрелора на клопидогрел [3].

Первое исследование под названием "Преимущества клопидогрела у больных с острым коронарным синдромом без повышения сегмента ST в различных "руппах риска", проведенное методом стратификации показателей риска тромбоза при инфаркте миокарда, выявило, что применение клопидогрела (по сравнению с плацебо) в сочетании со стандартной терапией, которая включала аспирин, как показано в исследовании CURE, давало постоянно лучшие результаты у больных острым коронарным синдромом (ОКС) без повышения сегмента ST в группах низкого, среднего и высокого риска. Результаты этого анализа методом стратификации риска у больных, получавших клопидогрел в дополнение к стандартной терапии с аспирином, по сравнению со стандартной терапией с аспирином, выявили 29%-ное снижение относительного риска (COP) в группе низкого риска, 15%-ное снижение в группе среднего риска и 27%-ное снижение в группе высокого риска. Исследование CURE (Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events) показало, что применение клопидогрела в дополнение к

стандартной терапии, включающей аспирин, при продолжительности приема клопидогрела до 1 года значительно (на 20%, $p = 0,00009$) снижало риск наступления комбинированного конечного события (инфаркт миокарда, инсульт или смерть от сердечно-сосудистых нарушений) у больных с нестабильной стенокардией или инфарктом миокарда без зубца Q по сравнению с группой, получающей плацебо в дополнение к стандартной терапии с аспирином. Анализ дополнительного первичного комбинированного критерия (инфаркт миокарда, смерть от сердечно-сосудистых нарушений или рефрактерная ишемия) выявил 14%-ное снижение относительного риска (COP) ($p=0,0005$). Результаты важнейшего исследования CAPRIE (Clopidogrel versus Aspirin in Patients at Risk of Ischemic Events), опубликованные в «Lancet», показали, что длительное (до 3 лет) применение клопидогрела приводило к 8,7%-ному снижению относительного риска ИМ, инсульта или смерти от сердечно-сосудистого нарушения по сравнению с аспирином ($p = 0,043$) у больных, недавно перенесших инфаркт миокарда или инсульт, либо имеющих выраженное поражение периферических артерий. Клиническое исследование ACTIVE-A показало, что у пациентов с фибрилляцией предсердий, которые имели как минимум один фактор риска развития сосудистых осложнений, но не применяли непрямые антикоагулянты, клопидогрел в сочетании с АСК (по сравнению с приемом АСК и плацебо) уменьшал суммарную частоту инсульта, инфаркта миокарда, системной тромбоэмболии вне ЦНС или сосудистой смерти в большей степени за счет уменьшения риска развития инсульта. По результатам исследования CAPRIE, клопидогрел до настоящего времени остается единственным антитромбоцитарным средством, в отношении которого имеются доказательства преимущества перед аспирином по влиянию на риск таких серьезных событий как сердечная смерть, ИМ и ИИ [117].

Продемонстрировано также ощутимое преимущество клопидогрела по сравнению с аспирином с точки зрения предупреждения повторных атеротромбических нарушений. Суммарный риск таких тяжелых ишемических исходов как ИИ и сосудистая смерть был в группе больных, получавших клопидогрел, достоверно ниже (на 8,7 %, чем в группе, получавшей аспирин), а

риск ИМ в группе клопидогрела был ниже на 19,2 %. Особенно выраженное преимущество клопидогрела наблюдали у пациентов с распространенным атеросклеротическим процессом, захватывающим несколько сосудистых бассейнов. Сравнение результатов исследований CAPRIE с данными систематического обзора по антитромботической терапии свидетельствует, что клопидогрел снижает частоту осложнений атеротромботических исходов в среднем на 30%. Таким образом, клопидогрел является хорошей альтернативой аспирину при непереносимости или недостаточной эффективности последнего (включая развитие острого ИИ на фоне приема аспирина).

В лечении фибрилляции предсердий (ФП) используются две основных концепции – это контроль симптомов и снижение риска развития инсульта с применением антикоагулянтной терапии. С точки зрения безопасности, отсутствуют различия между пароксизмальной, персистирующей и постоянной ФП, все они связаны с эквивалентным повышением риска инсульта, что требует профилактики инсульта и тромбоэмболий (ТЭ). Независимо от назначения антиаритмических препаратов для поддержания ритма или частоты сердечбиений, должна использоваться терапия, направленная на предотвращение тромбоэмболических осложнений [32]. В сравнительном исследовании CAPRIE [137] анализировалась эффективность применения АСК в дозе 325 мг/сут и клопидогрела в дозе 75 мг/сут для профилактики ССЗ у больных с ИМ, нарушением мозгового кровообращения в анамнезе или имевших тяжелое поражение периферических артерий. У пациентов, принимавших клопидогрел, ишемические осложнения возникали достоверно реже по сравнению с больными в группе АСК (15,6% против 17,7%; $p < 0,042$). При приеме клопидогрела отмечено на 13,1% более эффективное снижение риска сердечно-сосудистых осложнений по сравнению с АСК ($p < 0,032$) [6]. Последние рекомендации ВНОК оговаривают, что клопидогрел после его использования во время тромболитической терапии (ТЛТ) может быть достаточно рано (в пределах суток от начала ТЛТ) заменен на тикагрелор как в рамках фармакоинвазивного подхода, так и у пациентов, получивших только тромболитик (без последующего ЧКВ). Безопасность такого

“раннего” переключения с клопидогрела на тикагрелор показана в исследовании TREAT, а большую эффективность тикагрелора (по сравнению с клопидогрелом) в снижении риска ишемических событий (суммарный риск сердечно-сосудистой смерти, ИМ и ишемического инсульта) в этой клинической ситуации предлагается экстраполировать из результатов исследования PLATO, в которое не включались пациенты с ИМпСТ, получившие тромболитическую терапию. Возможность раннего перехода с клопидогрела на тикагрелор у пациентов с ИМпСТ, получивших тромболитик, не распространяется на лиц старше 75 лет. Доказательств возможности и безопасности раннего перехода с клопидогрела на прасугрел у пациентов с ИМ, получивших ТЛТ, в виде результатов РКИ не существует.

Согласно рекомендациям Всероссийского научного общества кардиологов от 2020 г. у пациентов, перенесших ИМпСТ, рекомендуется поддерживать уровень холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛНП) $<1,4$ ммоль/л и добиваться его снижения как минимум на 50% от исходных значений ХС ЛНП для обеспечения максимального эффекта по снижению риска повторных ишемических событий. Среди всех групп препаратов статины занимают в мире лидирующую позицию (рисунок 3) [105].

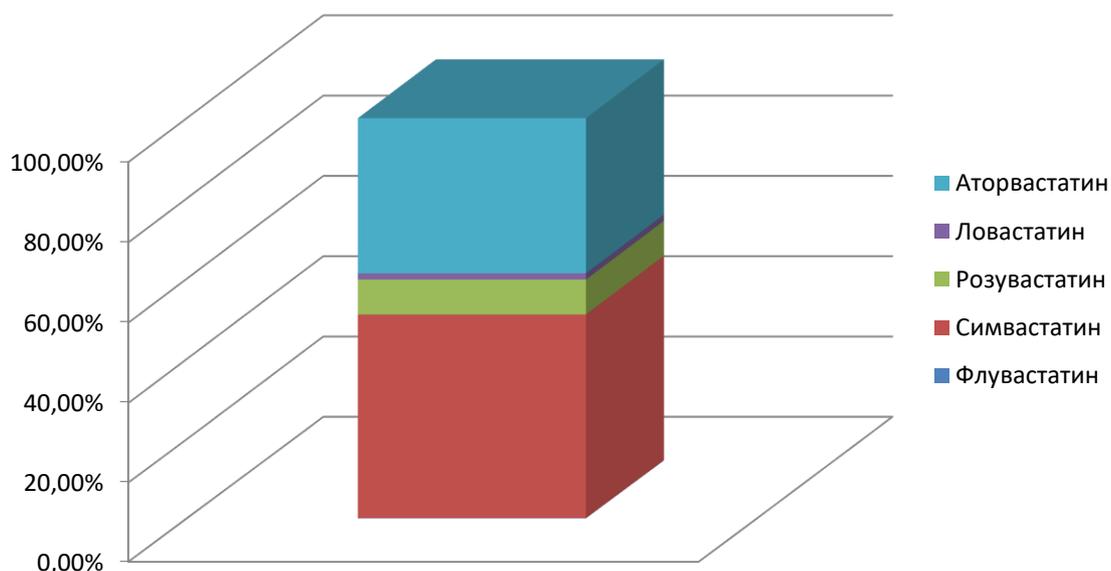


Рисунок 3 – Продажи статинов в мире Prescription Drug Sales Up Just 4 Percent In 2007 – IMS Health Report // The Pink Sheet Daily, 2008

В исследовании WOSCOPS с применением правастатина общая смертность от всех причин за пять лет снизилась на 22%, а собственно коронарная смертность — на 33%. Примерно такие же результаты получены при проведении известного американского исследования с ловастатином. За пять лет число фатальных и нефатальных инфарктов миокарда сократилось в наблюдаемой популяции на 40%, потребность в реваскуляризации — на 33%, а крупные коронарные инциденты происходили на 37% реже, чем в группе плацебо (рисунок 4).

Исследование WOSCOPS	Исследование AFCAPS/TexCAPS
6495 больных Правастатин Длительность – 5 лет Общая смертность ↓ 22% Коронарная смерть ↓ 33% Коронарные инциденты (все случаи) ↓ 34%	6605 больных Ловастатин Длительность – 5,2 года Первый крупный коронарный инцидент ↓ 37% Фатальный и нефатальный ИМ ↓ 40% Потребность в реваскуляризации ↓ 34%

Рисунок 4 – Исследования по статинам

В ходе пяти исследований по вторичной профилактике общего числа включенных в исследование пациентов с коронарной болезнью сердца было установлено, что прием симвастатина за пять лет снизил риск смертности от коронарной болезни сердца на 42%, а общей смертности от всех причин — на 30%. Исследования с применением правастатина CARE, LIPID также констатировали снижение коронарной и общей смертности, но более умеренное, чем выявлено в ходе исследования с симвастатином. (Рисунок 5). Но наиболее убедительными представляются данные, полученные в ходе исследования MIRACL, в котором аторвастатин применили более чем у 3,5 тыс. больных с нестабильной стенокардией. За короткий период наблюдения (16 недель) в группах плацебо и аторвастатина было установлено, что кумулятивная частота конечных точек (включавших смерть от любой причины, нефатальный инфаркт миокарда,

реанимацию после остановки сердца, прогрессирующую стенокардию, требовавшую повторной госпитализации) и риск смерти в группе аторвастатина сократились на 16% и составляли 14,8% против 17,4% в группе плацебо.

Кроме того, за этот короткий срок удалось снизить количество новых случаев нестабильной стенокардии на 40%. Это свидетельствует о том, что больным с острым коронарным синдромом, включая пациентов с инфарктом миокарда, стабильной стенокардией, перенесших хирургическое инвазивное или неинвазивное вмешательство на коронарных артериях, требуется назначение статинов с первых дней их поступления в стационар, независимо от уровня холестеринемии. Статины играют чрезвычайно важную роль в уменьшении серьезных осложнений ишемической болезни сердца при длительном наблюдении. Одним из грозных и наиболее опасных для жизни осложнений ишемической болезни является хроническая сердечная недостаточность. Одним из важных исследований, в которых изучалось влияние липримара на суррогатные конечные точки стало NASDAC. Благодаря этому исследованию показано, что применение индивидуализированного подхода к больному и выбор начальной дозы аторвастатина может привести к достижению целевого уровня ХС даже при применении минимальной дозы (10 мг). Если у пациента первоначальный уровень ХС значительно повышен, то может потребоваться более высокая доза аторвастатина (40-80 мг). Снижение частоты новых случаев сердечной недостаточности в крупных трайлах со статинами показано на рисунке 6.

<p>Скандинавское исследование 4S</p> <p>4444 больных</p> <p>Симвастатин</p> <p>Длительность – 5,4 года</p> <hr/> <p>Общая смертность ↓ 30%</p> <p>Коронарная смерть ↓ 42%</p>	<p>Исследование CARE</p> <p>4159 больных</p> <p>Правастатин</p> <p>Длительность – 5 лет</p> <hr/> <p>Фатальная КБС и нефатальный ИМ ↓ 24%</p>
<p>Исследование LIPID</p> <p>9014 больных</p> <p>Правастатин</p> <p>Длительность – 5 лет</p> <hr/> <p>Общая смертность ↓ 23%</p> <p>Коронарная смерть ↓ 24%</p> <p>Фатальный и нефатальный ИМ ↓ 29%</p>	<p>Исследование FLARE</p> <p>1054 больных</p> <p>Флувастатин</p> <p>Длительность – 6 месяцев</p> <hr/> <p>Все случаи смерти и нефатальный ИМ ↓ 340%</p>
<p>Исследование Heart Protection Study</p> <p>20536 больных</p> <p>Симвастатин</p> <p>Длительность – 6 месяцев</p> <hr/> <p>Общая смертность ↓ 12%</p> <p>Все СС инциденты ↓ 24%</p> <p>Инсульт ↓ 27%</p>	

Рисунок 5 – Основные клинические исследования статинов и программа GALAXY антагонистов витамина К и β -адреноблокаторов

Исследование 4S 4444 больных ИБС Симвастатин	Исследование CARE 1283 больных ИБС Правастатин
Снижение риска ↓ 19%	Снижение риска ↓ 21%
Исследование HPS 20500 больных ИБС высокого риска Симвастатин	
Снижение риска ↓ 30%	

Рисунок 6 – Исследования по статинам

Статины оказывают влияние не только на коронарный, но и на мозговой атеросклероз. Под их воздействием во всех крупных клинических трайлах, проводившихся по программе вторичной профилактики, наблюдалось снижение числа инсультов и смертей от них. Таким образом, исследование AVERT доказало, что применение аторвастатина в высоких дозах способно эффективно снизить частоту развития ишемических приступов у пациентов с коронарным атеросклерозом, даже по сравнению с ангиопластикой. Кроме того, снижается риск развития первых сосудистых осложнений в ближайшие 6 месяцев и 18 месяцев у пациентов, принимающих аторвастатин в дозе 80 мг по сравнению с группой ангиопластики + стандартное лечение.

Эффективность раннего назначения статинов при ОКС была подтверждена результатами исследования MIRACL. Одним из ключевых исследований в мировой липидологии стало PROVE-IT TIMI-22, которое заложило основание концепции «чем меньше, тем лучше». Результаты исследования PROVE-IT, TIMI-22 явились важнейшим стимулом к пересмотру целевых уровней ХС ЛПНП. В REVERSAL при помощи современной методики внутрисосудистого ультразвука высокого разрешения была показана возможность замедления прогрессии коронарного атеросклероза у пациентов с ИБС в течение 18 месяцев при агрессивной гиполипидемической терапии аторвастатином (80 мг/сут).

При объединении результатов исследований CARE и LIPID (13173 пациента) было показано снижение общей частоты инсультов на 22% (7% против 35%, $p=0.01$), снижение частоты нефатальных инсультов на 25% (10% против 38%) и снижение негеморрагических инсультов на 23% (6% против 37%) в группе правастатина. В отношении геморрагических и неуточненных инсультов достоверных различий выявлено не было. В исследовании TNT [130] Treating to New Targets отмечается, что прием большей дозы статина сочетался со снижением относительного риска нефатального инфаркта на 22% (4.9% против 6.2%, $p = 0.004$) и с уменьшением относительного риска фатального и нефатального инсульта на 25% (2.3% против 3.1%, $p = 0.02$). Прием большей дозы статина сочетался со снижением относительного риска нефатального инфаркта на 22% (4.9% против 6.2%, $p = 0.004$) и с уменьшением относительного риска фатального и нефатального инсульта на 25% (2.3% против 3.1%, $p = 0.02$). Общая летальность была одинаковой в обеих группах. ALLHAT-LLT [138, 141, 115, 117, 135, 113, 131].

Доказательства пользы антикоагулянтов при ФП были получены с использованием антагонистов витамина К, которые многие годы оставались единственными препаратами этой группы для приема внутрь и, фактически, не имели альтернативы при необходимости длительной (многолетней) профилактики и лечения тромбоэмболических осложнений. В последние годы появились и были надлежащим образом изучены новые пероральные антикоагулянты, отличающиеся бóльшей предсказуемостью действия и при повседневном использовании не требующие индивидуального подбора дозы и регулярного контроля показателей, характеризующих состояние свертывающей системы. Регистр GLORIA – AF показал на 20000 пациентов с фибрилляцией предсердий; преобладание назначения новых оральных антикоагулянтов.

Дабигатрана этексилат - представитель НОАК из класса прямых ингибиторов тромбина, является пролекарством, не обладающим фармакологической активностью, после приема внутрь быстро всасывается в желудочно-кишечном тракте и путем гидролиза, катализируемого эстеразами, в печени и плазме крови превращается в дабигатран. Последний ингибирует как свободный, так и связанный

с фибрином тромбин, а также вызванную тромбином агрегацию тромбоцитов. Дабигатран был изучен и рекомендован для широкого практического применения в крупном рандомизированном контролируемом исследовании RE-LY [138]. Это единственный новый пероральный антикоагулянт, для которого двойным слепым методом проведено прямое сопоставление двух разных доз – 110 и 150 мг 2 раза в сутки (в исследованиях аписабана и ривароксабана дозу препарата следовало уменьшить у больных с нарушенной функцией почек, и, соответственно о рандомизированном сравнении двух разных доз этих лекарственных средств речь не идет) [123, 124]. В итоге у врачей, решивших использовать дабигатран, имеется возможность выбрать одну из изученных доз, различающихся по отдельным клиническим эффектам, и подобная гибкость помогает обеспечить более эффективное соответствие проводимого лечения нуждам конкретного больного. После завершения исследования RE-LY продолжили лечение дабигатраном в дозах 150 или 110 мг два раза в сутки (исследование RELY-ABLE). Полученные данные подтвердили сохранение благоприятного эффекта дабигатрана. При длительном лечении частота инсульта и системных эмболий оставалась низкой и сопоставимой с таковой в первичном исследовании. Roskell N. и соавт. [92] на основании мета-анализа и непрямого сравнения контролируемых исследований пероральных антикоагулянтов у пациентов с ФП сделали вывод, что лечение дабигатраном в дозе 150 мг два раза в день приведет к снижению риска любого инсульта на 75% по сравнению с плацебо, на 63% по сравнению с аспирином и на 61% по сравнению с аспирином и клопидогрелом, а также к снижению общей смертности на 36% по сравнению с плацебо. Снижение функции почек сопровождается увеличением риска кровотечений, а дабигатран выводится в основном почками, поэтому снижение клиренса креатинина до 30–50 мл/мин считают еще одним показанием к назначению дабигатрана в дозе 110 мг два раза в день [30]. При использовании дабигатрана накоплена самая большая доказательная база выполнения кардиоверсий (1983 больных) [88]. При этом существенных отличий с получавшими варфарин по эффективности и безопасности, а также частоте выявления тромба в ушке левого предсердия, не отмечено. Дабигатран не

оказывает действия на изоферменты цитохрома P450 и характеризуется низким риском взаимодействия с другими лекарственными веществами, что выгодно отличает его от варфарина. После перенесенного инсульта дабигатран назначают по тем же правилам, что и варфарин, только с учетом более быстрого начала действия первого. Так, при транзиторной ишемической атаке (ТИА) дабигатран назначают немедленно без применения гепарина в качестве «моста» [78]. При ишемическом инсульте существует мнемоническое правило: 1-3-6-12 дней. Как уже отмечалось, 1-й день относится к ТИА. Через 3 дня можно возобновить назначение дабигатрана при малом размере инфаркта мозга, через 6 дней - при умеренном размере очага, а при обширном инфаркте с вовлечением большей части мозгового русла - не раньше, чем через 12-14 дней, даже, чем через 3 недели [77]. Эксперты Европейского медицинского агентства выявили, что применение дабигатрана в целом после начала его применения в реальной клинической практике сопровождалось существенно меньшей частотой развития смертельных кровотечений в ходе выполнения клинических испытаний [76].

Метопролол — один из наиболее распространенных в мире селективных блокаторов адренергических бета₁-рецепторов. Блокада адренергической стимуляции приводит к урежению частоты сердечных сокращений и уменьшению потребности миокарда в кислороде, а также к снижению артериального давления, хотя окончательно механизм эффекта бета-адреноблокаторов (БАБ) в последнем случае не установлен. Благодаря этим свойствам метопролол широко применяется при лечении больных ИБС, артериальной гипертонией (АГ) и нарушениями ритма сердца. В последние десятилетия БАБ, как один из элементов многокомпонентной терапии, вошли в стандарты лечения хронической сердечной недостаточности (ХСН) [37, 142, 107, 106]. Доказательная база, ставшая основой для применения БАБ как класса при лечении ИБС, АГ, ХСН и нарушений ритма сердца во многом была обеспечена рандомизированными клиническими исследованиями с применением метопролола тартрата. С начала 1960-х гг. бета-адреноблокаторы занимают одно из ведущих мест в лечении сердечно-сосудистых заболеваний. В многочисленных рандомизированных контролируемых исследованиях (РКИ)

доказано положительное влияние бета-адреноблокаторов в отношении заболеваемости и смертности.

Способность метопролола уменьшать риск развития сердечно-сосудистых осложнений у больных АГ впервые была продемонстрирована в исследовании МАРНУ. Было показано, что терапия метопрололом достоверно снижает общую и смертность от сердечно-сосудистых причин преимущественно за счет предупреждения смерти от ИБС и инсульта и частоту внезапной смерти. Клинический и протективный эффекты метопролола тартрата широко исследовались у пациентов с острыми и хроническими формами ИБС [35]. Согласно рекомендациям АНА/ESC наивысший уровень доказательности (IA) имеет назначение бета-адреноблокаторов у больных, перенесших инфаркт миокарда, с целью снижения риска внезапной смерти, повторного инфаркта миокарда и улучшения выживаемости. Эффективность метопролола тартрата в лечении ИБС безоговорочно доказана множеством крупных рандомизированных исследований. В клинических исследованиях APSIS и IMAGE показана высокая антиангинальная эффективность метопролола в лечении стабильной стенокардии [146]. В исследовании GMT (Goteborg Metoprolol Trial) назначение метопролола в первые часы острого ИМ уменьшало зону повреждения и снижало частоту желудочковых аритмий, метопролол снижал уровень летальности среди больных высокого риска после ИМ на 50% [16]. Особенно эффективным метопролол был у пациентов с сердечной недостаточностью [148]. Долгосрочный прогноз жизни пациентов, перенесших ИМ, оценивался в исследовании SMT (Stockholm Metoprolol Study). Через 11–18 дней после перенесенного ИМ 154 пациента были рандомизированы в основную группу, 147 – в контрольную. В основной группе пациенты получали метопролол по 50 мг 3 раза в день в первые 3 дня лечения, далее по 100 мг/сут в течение 3 лет. В группе метопролола общая смертность за 3 года была меньше на 34%, от ИБС – на 23%. Количество нефатальных повторных ИМ среди пациентов, получавших метопролол, было меньше на 44%, случаев внезапной смерти - на 59%. Эффективность метопролола не зависит от соли, входящей в его состав. А. Hjalmarson et al. [148] сопоставили результаты

применения метопролола тартрата и сукцината у 2 186 больных ИМ. Применение данных препаратов привело к достоверному снижению 5-летней смертности на 34% ($p = 0,003$ и $p < 0,0001$ соответственно) по сравнению с таковой у пациентов, не получавших бета-адреноблокаторы. Эффективность метопролола сукцината при сердечной недостаточности была подтверждена в исследовании MERIT-HF [122], в которое вошел 3 991 больной со стабильной ХСН и фракцией выброса левого желудочка менее 40%. В исследовании было выявлено достоверное снижение общей смертности на 34% ($p = 0,00009$), частоты внезапной смерти – на 41% ($p=0,0002$) и смерти вследствие прогрессирования ХСН – на 49% ($p = 0,0023$). Кроме того, метопролол вызывал снижение числа госпитализаций, связанных с декомпенсацией сердечной недостаточности ($p < 0,001$), и их длительности ($p < 0,001$). Место бета-адреноблокаторов в лечении АГ до настоящего времени дискутируется в международных рекомендациях, однако, Европейским обществом кардиологов они отнесены к препаратам первого ряда [79]. По результатам метаанализа 18 РКИ лечение бета-адреноблокаторами пациентов с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний ассоциировалось со снижением риска инсульта на 29%, ишемической болезни сердца на 7% и хронической сердечной недостаточности (ХСН) на 29% [99]. Метопролол обладает выраженным антиишемическим эффектом, что позволяет широко применять его в лечении больных ИБС, особенно после перенесенного инфаркта миокарда, где главной целью назначения метопролола является профилактика повторных сердечно - сосудистых событий, внезапной смерти и улучшение выживаемости пациентов. В комбинации с иАПФ, антиагрегантами и статинами бета-адреноблокаторы снижают смертность при остром коронарном синдроме на 90% [129]. Между тем, растет частота нежелательных лекарственных реакций, вплоть до смертельных исходов [38]. Развитие нежелательных лекарственных реакций в 50% случаев зависят от генетических особенностей пациента [132].

1.3. Проблемы, связанные с применением варфарина, дабигатрана, клопидогреля, статинов

Согласно классификации Всемирной Организации Здравоохранения, тип А (предсказуемые реакции) - результат фармакологического действия ЛС. Реакции типа А возникают часто, зависят от дозы лекарственного средства (частота и тяжесть увеличиваются при повышении дозы). Однако, этих реакций часто можно избежать путем подбора индивидуальной дозы препарата для каждого больного [29].

I. Варфарин - частота кровотечений при применении оральных антикоагулянтов составляет от 9 до 26,5%, из них обильных, т. е. требующих переливания крови, хирургического вмешательства или повлекших за собой смерть больного (желудочно-кишечное кровотечение, геморрагический инсульт) - от 0,3 до 4,2% в год. Частота всех геморрагических осложнений составила 8,66/100 пациенто-лет, больших кровотечений — 2,98/100 пациенто-лет, а клинически значимых — 2,62/100 пациенто-лет [12]. Варфарин - антикоагулянт непрямого действия группы кумаринов, конкурентный антагонист витамина К. Как известно, многие факторы свертывающей системы крови синтезируются в печени, причем в большинстве случаев их биосинтез происходит без участия жирорастворимого витамина К. От наличия витамина К₁ зависит синтез всего четырех факторов свертывания (протромбина, факторов VII, IX и X), а также двух антикоагулянтных белков (протеинов С и S). Витамин К служит ключевым кофактором в реакции карбоксилирования указанных факторов свертывания или антикоагуляции, в результате которой они превращаются в активные белки. Установлено, что в печени витамин К присутствует по меньшей мере в трех различных формах. Сам по себе витамин К₁ (хинон) не обладает биологической активностью. Активным он становится лишь после восстановления в форму гидрохинона, которое происходит в микросомах печени под действием хинонредуктазы. В процессе карбоксилирования зависимых от витамина К белков витамин К-гидрохинон превращается в витамин К-эпоксид, который под действием эпоксидредуктазы вновь превращается в витамин К-хинон. Таким образом, три известные формы

витамина К последовательно превращаются одна в другую, образуя цикл витамина К. Деление всех геморрагических осложнений на большие, небольшие клинически значимые и малые было предусмотрено в крупнейшем регистре больных с фибрилляцией предсердий GARFIEL [141].

Большие кровотечения - фатальные – влекут за собой смерть больного и не могут развиваться без приема оральных антикоагулянтов. Жизнеугрожающие – приводят к нарушениям сердечной и дыхательной деятельности; – требуют проведения хирургического или ангиографического вмешательства и приводят к таким необратимым последствиям, как инфаркт миокарда, инсульт, слепота, гемоторакс. Серьезные – являются причиной желудочно-кишечного кровотечения - явного или скрытого, выявляемого при эндоскопическом исследовании, а также гематурию, продолжавшуюся более 2 суток или потребовавшую проведения цистоскопии или внутривенной урографии; кровохарканье. кровотечения, требующие переливания не менее 2 доз крови.

Малые кровотечения влекут за собой любые внутренние кровотечения, которые не требуют госпитализации, дополнительного обследования и лечения (гематурия, геморроидальное кровотечение, подкожные гематомы, носовые субконъюнктивальные кровоизлияния, кровоточивость десен, кровотечение после экстракции зуба, микрогематурия, незначительное появление крови в кале). Механизм развития кровотечений при применении оральных антикоагулянтов можно представить следующим образом. Вследствие повышения концентрации орального антикоагулянта в плазме крови, повышения чувствительности т. н. витамин К эпоксидредуктазного комплекса (VKOR) или снижения поступления в организм витамина К, происходит усиление антикоагулянтного эффекта препарата, механизм которого связан с влиянием на превращение эпоксидов витамина К за счет ингибирования VKOR. Это приводит к снижению степени посттрансляционного γ -карбоксилирования витамин К-зависимых белков системы свертывания крови — факторов VII, IX, X и протромбина (фактор II), а также компонентов системы противосвертывания — протеинов C, S и Z. Белки, образующиеся на фоне приема орального антикоагулянта, обладают сниженной

активностью в кальций-зависимых реакциях, протекающих на поверхности фосфолипидов, следствием чего является антикоагулянтный эффект (проявляется в виде увеличения значений МНО), чрезмерное проявление которого приводит к кровотечениям. По данным исследования SPIRIT риск внутричерепного кровоизлияния возрастает в 1,37 раза при увеличении МНО на каждые 0,5 единицы выше терапевтического диапазона [115]. Однако не все развивающиеся кровотечения можно связать с повышением уровня МНО. Так 30–40% кровотечений, в т. ч. и больших, развиваются на фоне терапевтического диапазона МНО [36].

Одним из необычных побочных эффектов, которые могут возникнуть после начала терапии, является вызванный варфарином некроз кожи - редкий эффект с неопределенным патофизиологическим механизмом заболевания, лечение не очень хорошо установлено [74]. Как правило, он возникает вскоре после начала приема препарата (на 2–5 сут.) пациентами с дефицитом протеинов С или S, которые являются естественными антикоагулянтами, синтезирующимися в печени и подавляющими активность Варфарина. При назначении варфарина уровень протеинов С и S снижается быстрее, чем при приеме других прокоагулянтов, что приводит к гиперкоагуляции в начале лечения с возможным возникновением венозных и артериальных тромбозов, сопровождающихся некрозом кожи и гангреной конечностей [5].

II. Клопидогрел – в первую очередь следует рассматривать тромботические явления или неэффективность. Доля пациентов с агрегацией тромбоцитов >40%, среди носителей нормального генотипа CYP2C19*1/*1 – 13,0%, а среди «промежуточных метаболизаторов» (CYP2C19*1/*2) – 66% (p=0,103) [28]. В целом переносимость клопидогрела в дозе 75 мг/сут в исследовании CAPRIE соответствовала переносимости АСК в дозе 325 мг/сут, независимо от возраста, пола и расовой принадлежности пациентов. Ниже перечислены клинически значимые нежелательные эффекты, наблюдавшиеся в 5 больших клинических исследованиях — CAPRIE, CURE, CLARITY, COMMIT и ACTIVE A [128, 125, 101]. Кровотечения и кровоизлияния. Как

показали проведенные исследования, при монотерапии клопидогрелом частота кровотечений составляет 0.52% [143]. На фоне двойной антитромботической терапии (клопидогрел + АСК) тяжелые кровотечения развиваются в 1.6–1.7% случаев [86]. Риск геморрагических осложнений возрастает при длительном применении клопидогрела и при его сочетании с антикоагулянтами непрямого действия [104]. Следует применять персонализированную стратегию дозирования клопидогрела с учетом факторов риска ранних неблагоприятных исходов после ЧКВ у пациентов с ОКС [62].

В клиническом исследовании CAPRIE при сравнении монотерапии клопидогрелом и АСК показано, что общая частота всех кровотечений у пациентов, принимавших клопидогрел, и у пациентов, принимавших АСК, составила 9,3%. Частота тяжелых кровотечений при применении клопидогрела и АСК была сопоставимой — 1.4 и 1.6% соответственно.

В целом частота развития желудочно-кишечных кровотечений у пациентов, принимавших клопидогрел, и у пациентов, принимавших АСК, составляла 2 и 2,7% соответственно, в т.ч. частота желудочно-кишечных кровотечений, потребовавших госпитализации, — 0.7 и 1.1% соответственно.

Общая частота кровотечений другой локализации при приеме клопидогрела по сравнению с АСК была выше (7.3% против 6.5%, соответственно). Однако частота тяжелых кровотечений при применении клопидогрела и АСК была сопоставимой (0,6 и 0,4% соответственно). Наиболее часто сообщалось о развитии следующих кровотечений: пурпура/кровоподтеки, носовое кровотечение. Частота внутричерепных кровоизлияний при применении клопидогрела и АСК была сопоставимой (0.4 и 0.5% соответственно).

В клиническом исследовании CURE у пациентов, получавших комбинированную терапию клопидогрел + АСК, по сравнению с пациентами, получавшими плацебо + АСК, наблюдалось увеличение частоты развития больших (3.7% против 2.7%) и малых кровотечений (5.1% против 2.4%). В основном, источниками больших кровотечений являлись ЖКТ и места пункции артерий.

Частота развития угрожающих жизни кровотечений у пациентов, получавших

клопидогрел + АСК, по сравнению с пациентами, получавшими плацебо + АСК, достоверно не различалась (2.2% и 1.8% соответственно), частота развития фатальных кровотечений была одинаковой (0.2% при обоих видах терапии).

Частота возникновения больших кровотечений, не угрожающих жизни, была достоверно выше у пациентов, получавших клопидогрел + АСК, по сравнению с пациентами, получавшими плацебо + АСК (1.6% и 1.0% соответственно), но частота развития внутричерепных кровоизлияний была одинаковой (0.1% при обоих видах терапии).

Частота развития больших кровотечений в группе клопидогрел + АСК зависела от дозы АСК (<100 мг — 2,6%; 100–200 мг — 3,5%; >200 мг — 4,9%), как и частота развития больших кровотечений в группе плацебо + АСК (<100 мг — 2%; 100–200 мг — 2,3%; >200 мг — 4%).

У пациентов, прекративших антитромбоцитарную терапию более чем за 5 дней до аортокоронарного шунтирования, не отмечалось учащения случаев развития больших кровотечений в течение 7 дней после вмешательства (4.4% в группе клопидогрел + АСК и 5.3% в группе плацебо + АСК). У пациентов, продолжавших антитромбоцитарную терапию в течение последних пяти дней перед аортокоронарным шунтированием, частота этих событий после вмешательства составляла 9.6% в группе клопидогрел + АСК и 6.3% в группе плацебо + АСК.

В клиническом исследовании CLARITY частота больших кровотечений (определяемых как внутричерепное кровотечение или кровотечение со снижением уровня Hb >5 г/дл) в обеих группах (клопидогрел + АСК и плацебо + АСК) была сопоставимой (1.3% против 1.1% в группе клопидогрел + АСК и группе плацебо + АСК соответственно). Она была одинаковой в группах пациентов, разделенных по исходным характеристикам и по видам фибринолитической терапии или гепаринотерапии.

Частота возникновения фатальных кровотечений (0.8% против 0.6%) и внутричерепных кровоизлияний (0.5% против 0.7%) при лечении комбинациями клопидогрел + АСК и плацебо + АСК соответственно была низкой и сопоставимой

в обеих группах лечения.

В клиническом исследовании COMMIT общая частота нецеребральных больших кровотечений или церебральных кровотечений была низкой и одинаковой (0.6 в группе клопидогрел + АСК и 0.5 в группе плацебо + АСК) [118].

В клиническом исследовании ACTIVE-A частота развития больших кровотечений в группе клопидогрел + АСК была выше, чем в группе плацебо + АСК (6.7% против 4.3% соответственно). Большие кровотечения в основном были внечерепными в обеих группах (5.3% против 3.5%), они происходили главным образом из ЖКТ (3.5% против 1.8%). В группе клопидогрел + АСК внутричерепных кровоизлияний было больше по сравнению с группой плацебо + АСК (1.4% против 0.8% соответственно). Отсутствовали статистически значимые различия между этими группами лечения в частоте возникновения фатальных кровотечений (1.1% против 0.7%) и геморрагического инсульта (0.8% против 0.6%).

В исследовании CAPRIE нарушения со стороны крови в виде тяжелой нейтропении ($<0,45 \times 10^9/\text{л}$) наблюдалась у 4 пациентов (0,04%), принимавших клопидогрел, и у 2 пациентов (0,02%), принимавших АСК.

У двух из 9599 пациентов, принимавших клопидогрел, наблюдалось полное отсутствие нейтрофилов в периферической крови, которое не было выявлено ни у одного из 9586 пациентов, принимавших АСК. Несмотря на то, что риск развития миелотоксического действия при приеме клопидогрела является достаточно низким, в случае если у пациента, принимающего клопидогрел, наблюдается повышение температуры или появляются другие признаки инфекции, следует провести обследование для выявления возможной нейтропении.

III. Статины - частота развития нежелательных лекарственных реакций, в частности статининдуцированных миопатий, в течение 1 года достигает 5–10% [110]. Статининдуцированная миопатия может проявляться миозитом с повышением уровня креатинфосфокиназы с возможным развитием тяжелого осложнения – рабдомиолиза, но часто статининдуцированная миопатия проявляется миалгией без повышения уровня креатинфосфокиназы [114].

IV. Дабигатран - при анализе другого фрагмента базы данных того же регистра в Дании в период с 22 августа по 31 декабря 2011 года оказалось, что при переходе с варфарина на дабигатран отмечалась более высокая, чем на варфарине, частота тромбоэмболических осложнений и крупных кровотечений, потребовавших госпитализации [84]. Кроме того, по данным другого анализа в течение 60 дней после такого перехода отмечалась более высокая частота инфаркта миокарда, чем у продолжающих принимать варфарин [73]. Крайне важно в начале широкого применения нового препарата использовать его именно у тех больных и строго таким способом, как это было изучено в контролируемом клиническом исследовании, ставшим основанием для его одобрения регулирующими инстанциями. Иначе, результаты могут оказаться как минимум неожиданными [26]. На основании баз данных крупных исследований ACTIVE и RE-LY было оценено, как часто различные тромботические и геморрагические осложнения у подобных больных становились причиной смерти [117]. Так, при учете различий по другим предрасполагающим факторам риск смерти при развитии ишемического инсульта увеличивался в 6.46 раз, системной (артериальной) тромбоэмболии не в сосуды центральной нервной системы – в 5.84 раза, при геморрагическом инсульте – в 21.29 раза, при субдуральном кровотечении – в 5.08 раз, при внемозжечковом кровотечении – в 4.6 раза, при инфаркте миокарда – в 6.19 раз.

Неожиданным результатом исследования RE-LY оказалась незначимо более высокая частота инфаркта миокарда в обеих группах, принимавших дабигатран [103].

При этом ежегодная частота ишемических осложнений в целом (инфаркт миокарда, нестабильная стенокардия, остановка сердца и сердечная смерть) была практически одинаковой в группах дабигатрана 110 и 150 мг два раза в сутки и варфарина (3.16%, 3.33% и 3.41% в год). Риск развития ишемических исходов при лечении дабигатраном по сравнению с варфарином был сходным у пациентов, страдавших и не страдавших ИБС. Следует учитывать, что в исследовании RE-LY дабигатран сравнивали не с плацебо, а с варфарином, поэтому в любом случае было бы неправильно говорить об увеличении риска развития инфаркта миокарда при

лечении дабигатраном (скорее, полученный результат следует расценивать как менее значительное снижение риска этого исхода) [30] Однако с другой стороны при применении более высокой дозы дабигатрана терялся ряд преимуществ в безопасности – при сохранении более низкой частоты геморрагического инсульта, внутричерепных и угрожающих жизни кровотечений, общая частота крупных кровотечений существенно не отличалась от отмеченной в группе варфарина.

При таком разнонаправленном влиянии вмешательства помимо ожидаемой частоты разного рода кровотечений, необходимо оценивать и их потенциальную клиническую значимость. В целом представляется, что роль внутричерепных и угрожающих жизни кровотечений намного существеннее, чем последствия потенциально обратимых желудочно-кишечных. Тем не менее, очевидно, что наличие существенной угрозы со стороны желудочно-кишечного тракта может стать серьезным основанием для отказа от использования высокой дозы дабигатрана. Так, применение в составе трехкомпонентной АТТ при ОКС не только дабигатрана [76, 83], но и других НОАК повысило в 2 раза риск развития кровотечений. Результаты исследования RE-LY показали, что сочетанное применение в течение некоторого времени антиагрегантов и дабигатрана у 6952 (38.4%) из 18 113 пациентов с ФП привело к повышению числа тяжелых кровотечений [76].

Результаты рандомизированного проспективного исследования WOEST [134], обсервационного датского регистра, а также недавно проведенного когортного исследования у 11 480 пациентов с ФП и инфарктом миокарда (ИМ) или перенесших чрескожное вмешательство на коронарных артериях, [77] показали, что трехкомпонентная антитромботическая терапия значительно повышает риск кровотечений и не дает никаких преимуществ по главным критериям оценки («фиксированным конечным точкам»), таким как смерть, ИМ и инсульт, по сравнению с трехкомпонентной (АК и антиагрегант).

Частота развития инсультов/системных тромбоэмболий и тяжелых кровотечений на фоне приема дабигатрана (обеих доз) и варфарина не различалась. При выборе дозы дабигатрана следует учитывать, что в дозе 150 мг 2 раза в сутки

он достоверно более эффективен в отношении профилактики инсульта и системных эмболий, чем варфарин, и сопоставим с ним по безопасности. Доза 110 мг 2 раза в сутки показана для лиц старше 80 лет, при сочетанном применении с ингибиторами P-гликопротеина, например верапамилом, и при высоком риске развития кровотечений (≥ 3 по шкале HAS-BLED).

V. Серьезную проблему представляет лечение ИБС у больных с бронхообструктивным синдромом, где применение бета-адреноблокаторов может увеличить степень обструкции [109]. У гомозигот по функционально дефектному аллелю CYP2D6 наблюдалась выраженная брадикардия (менее 56), что не отмечалось у гомозигот по аллелю «дикого типа» и гетерозигот [47]. БАБ нарушают толерантность к глюкозе вследствие ухудшения чувствительности тканей к инсулину и нарушения его секреции поджелудочной железой. В результате 6 месяцев лечения как неселективными, так и кардиоселективными бета-адреноблокаторами достоверно снижалась чувствительность тканей к инсулину, при этом в большей степени неселективные, могут оказать негативное влияние на липидный профиль, повышая уровень триглицеридов (ТГ) [147]. R. Fux обследовал 121 пациента с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями, длительно принимающих метопролол. По результатам генотипирования все пациенты были разделены на 4 группы: быстрые метаболизаторы, несущие более двух функционально активных аллелей (5 пациентов); распространенные метаболизаторы, несущие 2 функционально активных аллеля (89 пациентов); промежуточные метаболизаторы, несущие 1 из функционально дефектных аллелей CYP2D6*3, CYP2D6*4, CYP2D6*6, CYP2D6*8 или 2 из функционально дефектных аллелей CYP2D6*9, CYP2D6*10, CYP2D6*41 (21 пациент); медленные метаболизаторы, несущие 2 из функционально дефектных аллелей CYP2D6*3, CYP2D6*4, CYP2D6*6, CYP2D6*8 (5 пациентов). НЛР метопролола (головная боль, головокружение, нарушения сна, бронхоспазм, похолодание конечностей, сексуальная дисфункция) развивались у 16% пациентов, являющихся медленными и промежуточными метаболизаторами, и только у 4% распространенных и быстрых метаболизаторов достоверность различий приближалась к статистически значимым

значениям ($p=0,056$) [127]. Также у гомозигот по функционально дефектному аллелю наблюдалась выраженная брадикардия (менее 56), что не отмечалось у гомозигот по аллелю «дикого типа» и гетерозигот [64].

1.4. Фармакогенетические исследования

Генетические факторы, как правило, представляют собой полиморфные участки генов, продукты которых, так или иначе, участвуют в осуществлении различных фармакокинетических и фармакодинамических процессах. К первой группе относятся гены, кодирующие ферменты биотрансформации и транспортеры, которые осуществляют всасывание, распределение и выведение ЛС из организма. В настоящее время, активно изучается роль генов, контролирующих синтез и работу ферментов биотрансформации лекарственных средств, в частности, изоферментов цитохрома Р-450 (СYP2D6, СYP2C9, СYP2C19 и т.д.), ферментов II фазы биотрансформации (N-ацетилтрансферазы, глутатион-S-трансферазы) и транспортеров ЛС (Р-гликопротеин, транспортеры органических анионов и катионов). Во вторую группу входят гены, кодирующие «молекулы-мишени» ЛС или функционально связанные с данными структурами белки (рецепторы, ферменты, ионные каналы). Также сюда включены гены, продукты которых участвуют в различных патологических процессах (факторы свертывания крови, апополипротеины, гены системы HLA и т.д.), «против» которых направлена соответствующая фармакотерапия. Фармакогенетический тест – это выявление конкретных полиморфизмов генов, влияющих на фармакологический ответ. В основе таких тестов лежит проведение полимеразной цепной реакции (ПЦР) [34]. Результаты фармакогенетического теста представляют собой идентифицированные генотипы больного по тому или иному полиморфному маркеру. Применение таких тестов позволяет заранее прогнозировать фармакологический ответ на ЛС и персонализировано подойти к выбору ЛС и режима его дозирования, а иногда и к тактике ведения пациентов.

Вышеописанные генетические особенности пациентов, ассоциированные с изменениями фармакологического ответа, выявляются при проведении фармакогенетического тестирования.

Требованиями к фармакогенетическому тесту для использования в клинической практике являются:

- наличие выраженной ассоциации выявляемого аллельного варианта того или иного гена с изменением фармакологического ответа (развитием НЛР, недостаточной эффективностью или высокой эффективностью);

- фармакогенетический тест должен с высокой чувствительностью и специфичностью прогнозировать фармакологический ответ (развитие НЛР, недостаточная эффективность или высокая эффективность);

- должен быть разработан алгоритм применения ЛС, в зависимости от результатов фармакогенетического тестирования (выбор ЛС, его режима дозирования);

- выявляемый аллельный вариант должен встречаться в популяции с частотой не менее 1%;

- должны быть доказаны преимущества (в т.ч. и экономические) применения ЛС с использованием результатов фармакогенетического теста, по сравнению с традиционным подходом (повышение - эффективности, безопасности фармакотерапии и экономическая рентабельность подобного подхода).

В настоящее время, этим требованиям частично или полностью удовлетворяет ограниченное число фармакогенетических тестов [36].

I. Полиморфизмы генотипов CYP2C9 и VKORC1.

Самыми распространенными и хорошо изученными вариациями в плане влияния на лекарственный ответ при применении варфарина, являются аллели CYP2C9*1, CYP2C9*2, CYP2C9*3 [121]. CYP2C9 — главный фермент метаболизма варфарина. Ген CYP2C9 локализован на 10 хромосоме (локус 10q24), его длина составляет 55 000 пар оснований. Самым распространенным аллельным вариантом является CYP2C9*1 (аллель дикого типа). У лиц, в генотипе которых присутствуют только аллели дикого типа, метаболизм оральных антикоагулянтов проходит с нормальной интенсивностью, а среднетерапевтические дозы и уровни МНО являются для таких людей наиболее приемлемыми. У гомозигот CYP2C9*2/*2 и CYP2C9*3/*3 метаболизм варфарина снижен в большей степени,

чем у гетерозигот CYP2C9*1/*2 и CYP2C9*1/*3. Изучение аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3, как наиболее часто встречающихся после аллеля дикого типа, показало, что они ассоциированы с более высокими концентрациями S-варфарина в плазме крови, а также с более низкими значениям клиренса из-за замедления его метаболизма в печени. Это подтверждается фармакокинетическими исследованиями, выполненными на здоровых добровольцах. В большинстве клинических исследований продемонстрировано, что при применении варфарина, аценокумарола и фенпрокумона у больных, являющихся носителями аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3, риск кровотечений возрастает в 2–3 раза, а чрезмерной гипокоагуляции (увеличение МНО более 4) — в 3–4 раза [42]. Системный мета-анализ показал, что пациенты с функционально-дефектными аллелями CYP2C9*2 и CYP2C9*3 требуют более длительной процедуры титрования дозы варфарина до уровня поддерживающей. Частота генотипов по CYP2C9, соответствующих медленным метаболитаторам (носительство аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3), в российской популяции составляет 20–35%, что сопоставимо с европейскими этническими группами [124, 141]. При этом наибольшая средняя доза у пациентов русской национальности требовалась для носителей генотипа *1/*1, а наименьшая — для носителей аллелей *2 и *3 [40]. Генотип CYP2C9*3 встречается довольно редко, в среднем — у 5–7% азиатского населения и до 1% — у европеоидов [98]. Частота медленных аллелей CYP2C9*2 и CYP2C9*3 встречалась у чукчей, эвенков в 3% и 9%, 3 и 7% случаев соответственно [43].

Ген, кодирующий витамин-К-эпоксиdreдуктазу (VKORC1), был открыт в 2004 г [43]. Молекула-мишень для оральных антикоагулянтов — VKORC1 — является компонентом витамин К эпоксиdreдуктазного комплекса, который катализирует процесс восстановления витамина К1 (переход витамина К1 эпоксида в витамин К1 гидрохинон) с участием в качестве кофактора НАД-Н (переходит в НАД+). В свою очередь, восстановленный витамин К является кофактором работы фермента гамма-глутарил карбоксилазы (GGCX), осуществляющего посттрансляционное γ -карбоксилирование глутамат-содержащих белков из белков-предшественников: витамин К-зависимых белков системы свертывания крови:

факторов свертывания крови II (тромбин, F2), VII (F7), IX (F9), X (F10); компонентов противосвертывающей системы — протеинов С (протеин С циркулирует в виде профермента и активируется на эндотелии комплексом тромбин/тромбомодулин в активную форму), S и Z. белки. Регулятором активности GGСХ является белок калюменин (CALU). Механизм действия оральных антикоагулянтов связан с угнетением процесса восстановления витамина К за счет блокады VKORC1. Это приводит к снижению степени посттрансляционного γ -карбоксилирования белков системы свертывания крови — II (F2), VII (F7), IX (F9), X (F10) факторов. Чрезмерное угнетение образования указанных факторов свертывания может привести к геморрагическим осложнениям [91]. Ген VKORC1 располагается в 16 хромосоме (локус 16p11.2), его длина составляет 4000 п.о. Полиморфизм именно этого гена связывают с кумаринорезистентностью и образованием так называемого фенотипа кровотечений, возникающего из-за врожденного дефицита витамин К зависимых факторов свертывания крови [97]. Однако наибольшее число исследований было посвящено изучению влияния полиморфизма G-1639A гена VKORC1 на риск развития кровотечений и величину поддерживающей дозы варфарина и аценокумарола. Показано, что у носителей генотипа AA по полиморфному маркеру G-1639A гена VKORC1 при применении варфарина по стандартной схеме чаще отмечаются кровотечения, выходы за пределы терапевтического диапазона МНО. Кроме того, у этих групп пациентов подобранная доза варфарина меньше, по сравнению с пациентами без таких генетических особенностей. Генотип AA по полиморфизму G-1639A в России встречается с частотой до 17% [39]. В настоящее время однозначно доказано, что носительство аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 и генотип AA по полиморфному маркеру G-1639A ассоциируются с низкими подобранными дозами варфарина, нестабильностью антикоагулянтного эффекта, более частыми кровотечениями при его применении. Фармакогенетические исследования CYP2C9 позволяют индивидуализировать выбор начальной дозы непрямых антикоагулянтов [10]. Частоты встречаемости аллелей гена VKORC1 в трех этнических группах (белые, негры, азиаты) коррелируют с межрасовыми

различиями в дозах варфарина [120]. Высокая частота носительства аллеля 1639А у китайцев и малайцев приводит к широкой распространенности чувствительности к варфарину в этих этнических группах. Напротив, аллель 1639А редко встречается у представителей негроидной расы, в связи с чем, им чаще требуются высокие поддерживающие дозы варфарина [112].

II. Цитохром P450 CYP2C19. Катализирует биоактивацию антитромбоцитарного пролекарства клопидогрела, потери функции аллели CYP2C19 нарушают образование активных метаболитов, что приводит к снижению ингибирования тромбоцитов. [68]. Кроме того, аллели потери функции CYP2C19 повышают риск серьезных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (ССВ) у пациентов с острым коронарным синдромом, получающих лечение клопидогрелом, подвергающихся чрескожному коронарному вмешательству (ЧКВ). Обновления руководящих принципов включают акцент на соответствующих показаниях к антиагрегантной терапии, направленной на генотип CYP2C19, уточненные рекомендации по специфическим аллелям CYP2C19 и дополнительные данные из расширенного обзора литературы [82]. Несколько полиморфных ферментов системы цитохрома P450 участвуют в активации клопидогрела. Изофермент CYP2C19 вовлечен в образование как активного метаболита, так и промежуточного метаболита — 2-оксо-клопидогрела. Фармакокинетика и антиагрегантное действие активного метаболита клопидогрела, исследованные посредством агрегации тромбоцитов, отличаются в зависимости от генотипа изофермента CYP2C19. Аллель гена CYP2C19*1 соответствует полностью функциональному метаболизму, тогда как аллели гена изофермента CYP2C19*2 и CYP2C19*3 ответственны за сниженный метаболизм. Общая генетическая вариабельность аллелей CYP2C19 (цитохром P450, семейство 2, подсемейство C, полипептид 19) *2 и *3 приводит к потере функционального белка, и у носителей этих аллелей потери функции при лечении клопидогрелом значительно снижают уровень активного метаболита клопидогрела и высокую реактивность тромбоцитов на фоне лечения, что приводит к увеличению риска серьезных неблагоприятных

сердечно-сосудистых событий, особенно после чрескожного коронарного вмешательства [53].

Эти аллели ответственны за снижение метаболизма примерно у 85% представителей европеоидной расы и у 99% представителей монголоидной расы. Другие аллели, связанные со сниженным метаболизмом, представлены изоферментами CYP2C19*4, *5, *6, *7 и *8, но они редко встречаются в общей популяции. Пациенты с низкой активностью изофермента CYP2C19 обладают двумя указанными выше аллелями гена с потерей функции. К «медленным метаболизаторам» относятся около 3% европеоидов, 4–7% негроидов, но гораздо чаще они встречаются среди монголоидов: у 12–16% корейцев, 18–23% японцев и у 15–17% китайцев [24].

В исследовании TRITON-TIMI 38 и 3 когортных исследованиях (Collet, Sibbing, Giusti) пациенты комбинированной группы с промежуточной или низкой активностью изофермента CYP2C19 имели более высокую частоту сердечно-сосудистых осложнений (смерть, инфаркт миокарда и инсульт) или тромбоза стента по сравнению с пациентами с высокой активностью изофермента CYP2C19.

В исследовании CHARISMA и одном когортном исследовании (Simon) указывается на то, что увеличение частоты сердечно-сосудистых осложнений наблюдалось только у пациентов с низкой активностью изофермента CYP2C19 (при их сравнении с пациентами с высокой активностью изофермента CYP2C19). В случае выявления аллелей, ассоциированных с риском тромботических осложнений (CYP2C19*2 или CYP2C19*3), требуется коррекция антиагрегантной терапии: увеличение дозы клопидогрела [102]; назначение других ингибиторов P2Y₁₂-рецепторов (prasugrel, ticagrelor) [101]; добавление к антиагрегантной терапии ингибиторов гликопротеиновых рецепторов тромбоцитов П₂/П₁а [90].

III. Генотип SLCO1B1. Одной из причин побочных эффектов или недостаточной терапевтической эффективности лекарственных препаратов, является полиморфизм генов ферментов, обеспечивающих их метаболизм. В число этих ферментов входят семейство цитохромов P-450 (CYP), глутатион-S-

трансфераза, N-ацилтрансфераза и др. Мутации в генах, кодирующих эти ферменты, могут приводить к повышению или снижению/потере их активности. Так например, метаболизм статинов осуществляется главным образом цитохромом CYP3A4, флувастатина - преимущественно CYP2C8. В настоящее время развитие статининдуцированных неблагоприятных побочных реакций все чаще связывают с переносчиком органических анионов, кодируемым геном SLCO1B1 и осуществляющим «захват» статинов гепатоцитами из портальной системы. В обзоре [70] отмечено, что из всех генетических факторов статининдуцированная миопатия в наибольшей степени связана именно с полиморфизмами гена SLCO1B1.

Известно, что носительство хотя бы одной С-аллели по аллельному варианту SLCO1B1*5 (T521C) повышает риск развития миопатий на фоне применения статинов, в несколько раз [75].

IV. Генотип CYP2D6. Частота многих аллелей цитохромов P450 различается в разных популяциях. Например, фенотип с медленным метаболизмом CYP2D6 присутствует у 1 из 14 европеоидов, редко встречается у монголоидов и практически отсутствует у американских индейцев и жителей Океании. Аналогичным образом аллели с медленным метаболизмом гена CYP2C19 имеют выраженную этническую изменчивость, составляя 3% у европеоидов и почти 16% у всех монголоидов, имеющих медленный метаболизм [1].

Несмотря на то, что эффективность непрямых антикоагулянтов, β-адреноблокаторов и сердечных гликозидов при ряде сердечно-сосудистых заболеваний доказана в мета-анализах и мультицентровых контролируемых исследованиях, проблема оптимизации фармакотерапии данными ЛС далека от разрешения [46]; применение β-адреноблокаторов (метопролол, бисопролол) у больных ХСН ограничивается сложностями при подборе дозы β-адреноблокатора: частое возникновение брадикардии, гипотонии и усиления симптомов хронической сердечной недостаточности [22].

Кроме того, очевидно, что внедрение подобного фармакогенетического подхода будет целесообразным, если выявляемые аллельные варианты генов будут

встречаться в популяции с частотой более 1% [19]. Однако, необходимо принимать во внимание, что частоты аллельных вариантов генов CYP2D6, значительно варьирует в различных этнических группах (от 0% до 50%), особенно принадлежащих к разным расам [41]. Поэтому, с учетом многонациональности нашей страны, необходимым является определение частот аллельных вариантов данных генов в различных этнических группах России. Кроме того, очевидно, что перед проведением подобных популяционных исследований нужно учитывать, что они проводятся пациентам, нуждающимся в назначении указанных препаратов, чтобы исключить наличие ассоциаций между носительством аллельных вариантов изучаемых генов и наличием заболеваний. Полиморфизм гена CYP2D6 считается фактором, учет которого может способствовать увеличению эффективности и безопасности применения ряда ЛС, включая бисопролол и метопролол [42]. Пациенты с медленным метаболизмом по CYP2D6 имеют повышенное снижение ДАД, ЧСС и САД во время лечения метопрололом и могут быть подвержены более высокому риску развития брадикардии по сравнению с пациентами с активными фенотипами CYP2D6. Необходимы дальнейшие проспективные данные для определения того, связан ли CYP2D6 с клиническими событиями у пациентов [50]. Пациентам с фенотипом CYP2D6 PM может быть полезна более низкая начальная доза метопролола с последующим титрованием дозы для обеспечения индивидуальной терапии и, таким образом, повышения эффективности лечения [54]. Распространенные метаболизаторы по CYP2D6 или CYP2C19 (extensive metabolism, EM) — пациенты с нормальной скоростью биотрансформации ЛС, т.к. не несут однонуклеотидных полиморфизмов по генам CYP2D6 или CYP2C19 т.е. они имеют «дикие» генотипы: CYP2D6*1/*1 или CYP2C19*1/*1. Для этих пациентов применяются стандартные режимы дозирования средних доз ЛС [99, 25]. Медленные метаболизаторы по CYP2D6 или CYP2C19 (poor metabolism, PM) — пациенты со сниженной скоростью биотрансформации ЛС. Обычно такие пациенты являются гомозиготами или гетерозиготами (intermedium metabolism, IM) по однонуклеотидным полиморфизмам гена CYP2D6 (2549delA, 1846G>A, делеция гена, 1707delT, 2935A>C, 1758G>T) или CYP2C19 (681G/A). У таких пациентов

происходит синтез «дефектного» фермента со сниженной активностью [31]. В работе Taguchi M. приведены данные генотипирования и фармакокинетических исследований у 34-х пациентов монголоидной расы, принимавших метопролол в дозе 40-120 мг/сут. В группе лиц, носителей аллеля CYP2D6*10, был достоверно ниже клиренс и объем распределения метопролола [136]. Однако в группе исследуемых не было выявлено нефункциональных аллелей (CYP2D6*4, CYP2D6*5 и CYP2D6*14), свойственных фенотипу PM, а частота аллеля CYP2D6*10 составила около 40%. Нужно учитывать, что частота распространения аллелей данного гена заметно отличается у различных рас и этнических групп. Внедрению фармакогенетических тестов в клиническую практику в различных регионах России, должны предшествовать исследования частот и генотипов аллельных вариантов соответствующих генов в этнических группах, проживающих в данном регионе. Выявление генетических особенностей у больных позволяет прогнозировать фармакологический ответ на ЛС, а значит, повысить эффективность и безопасность применения ЛС, т.к. идентификация соответствующего аллельного варианта, приводящего к изменениям фармакокинетики и (или) фармакодинамики у больного, требует коррекции терапии (доза, кратность введения, путь введения, замена ЛС и т.д.) [133, 93].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационное исследование состоит из 2 частей: клинической и популяционной. Клиническая часть исследования, включая все лабораторно-инструментальные исследования, проводилась на базе Центра персонализированной медицины государственного автономного учреждения республики Саха (Якутия) «Республиканская клиническая больница № 3» в генетической лаборатории и на базе Центра персонализированной медицины ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

2.1. Характеристика пациентов, включенных для исследования этнической чувствительности к терапии (на примере терапии антагонистами витамина К и бета-адреноблокаторами)

Характеристика больных, включенных в клиническую часть исследования, представлена в таблице 2: с неклапанной фибрилляцией предсердий, планирующих или принимающих варфарин (варфарин никомед) с дозами, подобранными в соответствии с уровнем МНО не более 2,5 ед.; получающие метопролол и бисопролол (конкор) с ИБС, установленной ЧСС 55-60 уд./в минуту; пациенты с гиперлипидемия ПА и Пб типа по Фредриксону, планирующие прием статинов (аторвастатин); клопидогрел (плавикс) - с диагнозом острый коронарный синдром, получающих или планирующих терапию; дабигатран (прадакса) - пациенты с неклапанной фибрилляцией предсердий, эндопротезированием крупных суставов.

Характеристика исследуемых больных

Терапия лекарственными препаратами	Национа льность	Пол		Ср. возраст, лет	Критерии включения	Критерии исключения	
		муж., %	жен., %				
Варфарин	рус	54 (57%)	41 (43%)	65±13,4	Неклапанная фибриляция предсердий	– Установленная или подозреваемая повышенная чувствительность к компонентам препарата – Острое кровотечение – Беременность (первый триместр и последние 4 недели беременности) – Тяжелые заболевания печени или почек	
	саха	42 (50%)	42 (50%)	61±15,0			
Бисопролол	рус	6 (35%)	11 (65%)	72±2,8	– ИБС, острый коронарный синдром – Планирование или прием бисопролола	– Гиперчувствительность – Беременность – Кормление грудью – АВ-блокада II и III степени, синоатриальная блокада	
	саха	19 (44%)	24 (56%)	71±1,8			
Метопролол	А *	рус	7 (16%)	36 (84%)			67±1,1
		саха	14 (39%)	22 (61%)			62±2,1
	Б *	рус	30 (32%)	63 (68%)	66±9,1		
		саха	54 (50%)	54 (50%)	61±12,6		
Статины	рус	448 (42%)	523 (58%)	57±11	– Гиперлипидемия ПА и Пв типа по Фредриксону – Планирование терапии статинами	– Семейная гиперхолестеринемия	
	саха	39 (51%)	37 (49%)	66±11,9			

Клопидогрел	рус	84 (59%)	59 (41%)	62,0±13,7	<ul style="list-style-type: none"> – Острый коронарный синдром с/без подъема сегмента ST – Прием клопидогрела в комбинации с ацетилсалициловой кислотой в составе двойной антиагрегантной терапии 	<ul style="list-style-type: none"> – Повышенная чувствительность к клопидогрелу или вспомогательным компонентам препарата – Тяжелая печеночная или почечная недостаточность (клиренс креатинина <30 мл/мин) – Геморрагический синдром
	саха	153 (57%)	115 (42%)	63±13,2		
Дабигатран	рус	39 (29%)	94 (71%)	60,86± 16,7	<ul style="list-style-type: none"> – Неклапанная фибрилляция предсердий – После ортопедических операций 	<ul style="list-style-type: none"> – Тяжелая степень почечной недостаточности (КК менее 30 мл/мин); – Активное клинически значимое кровотечение,
	саха	142 (49%)	147 (51%)	61,86±14,7		

А* - с целью сравнения подобранной дозы

Б* - с целью изучения распространенности генотипов CYP2D6

Во всех группах между этносами не было различий по полу и возрасту

2.1.1. Характеристика пациентов, планирующих или принимающих варфарин

В исследование включены 84 пациента якутской национальности (саха) и 95 - русской национальности с неклапанной фибрилляцией предсердий, планирующих или принимающих варфарин. Пациенты якутской национальности (42 мужчины и 42 женщины, русской национальности (54 мужчин и 41 женщина) (Рисунок 7); средний возраст составлял 61 ± 15.00 и 65 ± 13.4 лет (таблицы 3, 4), страдающие фибрилляцией предсердий, направленные из поликлиник г. Якутска и центральных районных больниц в Центр персонализированной медицины. Отбор пациентов осуществлялся с 2013 по 2017 год, забор биологического материала проводился перед приемом варфарина или у принимающих варфарин, имеющих лабильное МНО.

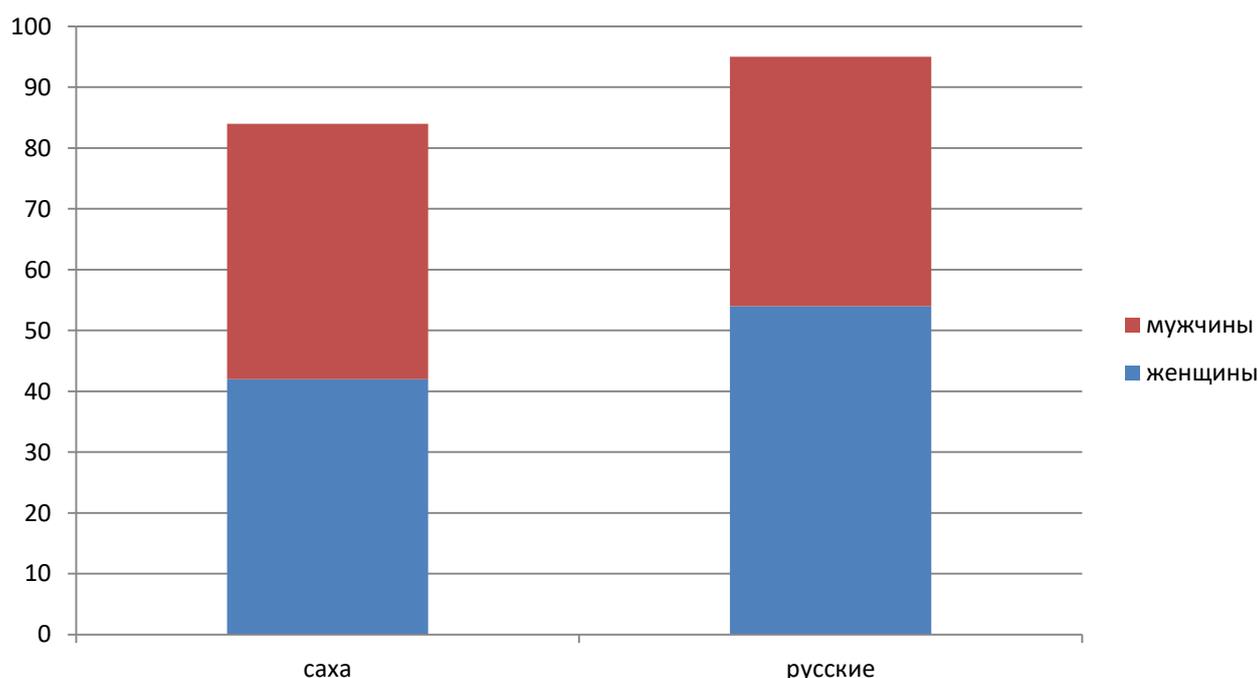


Рисунок 7 - Половой состав участников клинической части исследования

Таблица 3

Средний возраст саха, исследованных на чувствительность к варфарину

	Национальность – саха				
	N	Средний возраст	Минимальный возраст	Максимальный возраст	Стандартное отклонение
Возраст	84	60,69048	20,00000	89,00000	15,00761

Средний возраст этнических русских пациентов, исследованных на чувствительность к варфарину

	Национальность – этнические русские				
	N	Средний возраст	Минимальный возраст	Максимальный возраст	Стандартное отклонение
Возраст	95	64,64211	29,00000	90,00000	13,40682

Большинство больных якутской национальности имели в анамнезе хроническую сердечную недостаточность (60%), около половины - артериальную гипертензию (49%), ишемическую болезнь сердца (28%) (рисунок 8).

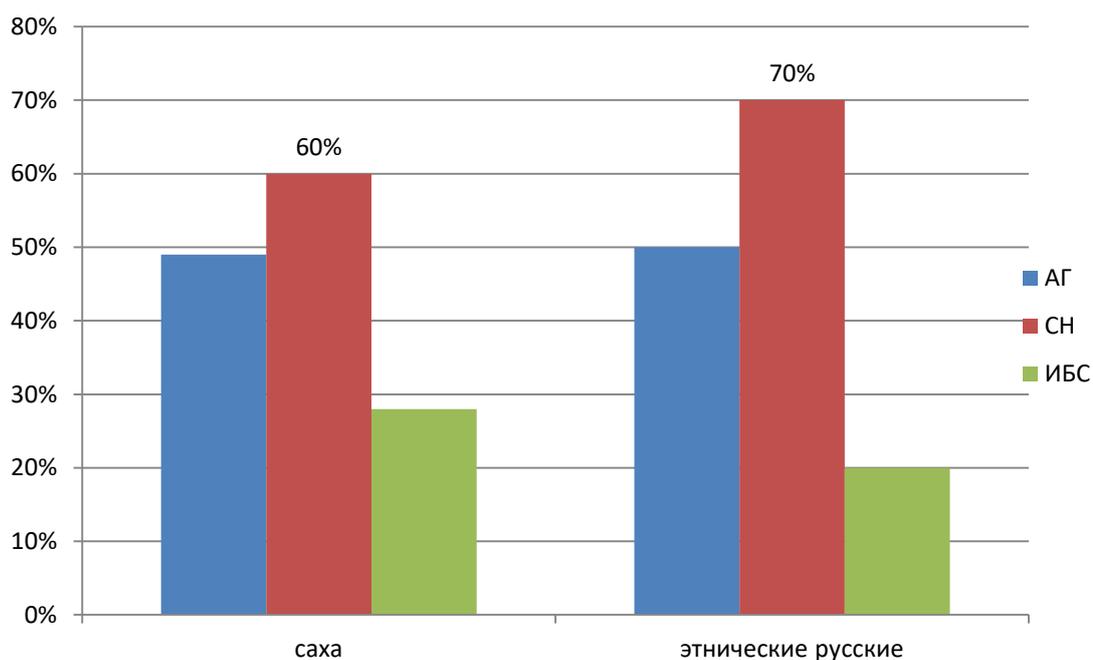


Рисунок 8 – Сопутствующие заболевания

Критерии включения в исследование:

1. Неклапанная фибрилляция предсердий;

Критерии исключения:

1. Установленная или подозреваемая повышенная чувствительность к компонентам препарата;

2. Острое кровотечение;
3. Беременность (первый триместр и последние 4 недели беременности);
4. Тяжелые заболевания печени или почек;
5. Тромбоцитопения;
6. Пациенты с высоким риском кровотечений, включая пациентов с геморрагическими расстройствами, варикозным расширением вен пищевода, аневризмой артерий, люмбальной пункцией, язвенной болезнью желудка и 12-перстной кишки, с тяжелыми ранами (включая операционные), бактериальным эндокардитом, злокачественной гипертензией, геморрагическим инсультом, внутричерепным кровоизлиянием.

2.1.2. Характеристика пациентов, планирующих или принимающих бисопролол или метопролол

С целью сравнения средней дозы бисопролола исследованы 43 пациента якутской национальности в среднем возрасте $71 \pm 1,8$ год, мужчин 44%(19) и женщин 55% (24); 17 пациентов русской национальности в среднем возрасте $72 \pm 2,8$ лет, мужчин 35%(6) и женщин 65%(11). Пациенты, получающие метопролол якутской национальности были в возрасте $62 \pm 2,09$ лет, мужчин 39% (14) и женщин 61% (22); русской национальности пациенты принимали участие в исследовании в возрасте $67 \pm 1,08$ лет, мужчин 16% (7) и женщин 84% (36). Малые дозы бисопролола ($\leq 2,5$ мг/сут) получали 13 пациентов, большие дозы ($>2,5$ мг/сут) – 19 пациентов в популяции саха. (рисунок 9); у этнических русских – 16 и 63 соответственно. Дозирование метопролола и бисопролола проводилось в соответствии с рекомендациями ВНОК.

С целью изучения распространенности генотипов CYP2D6 был исследован 201 пациент в среднем возрасте 66 ± 8.7 лет. Из них: 93(46%) пациента – этнические русские: (30 (32%) мужчин и 63 (68%) женщин) и 108 (54%) пациентов – якуты: (54 (50%) мужчин и 54 (50%) женщин).

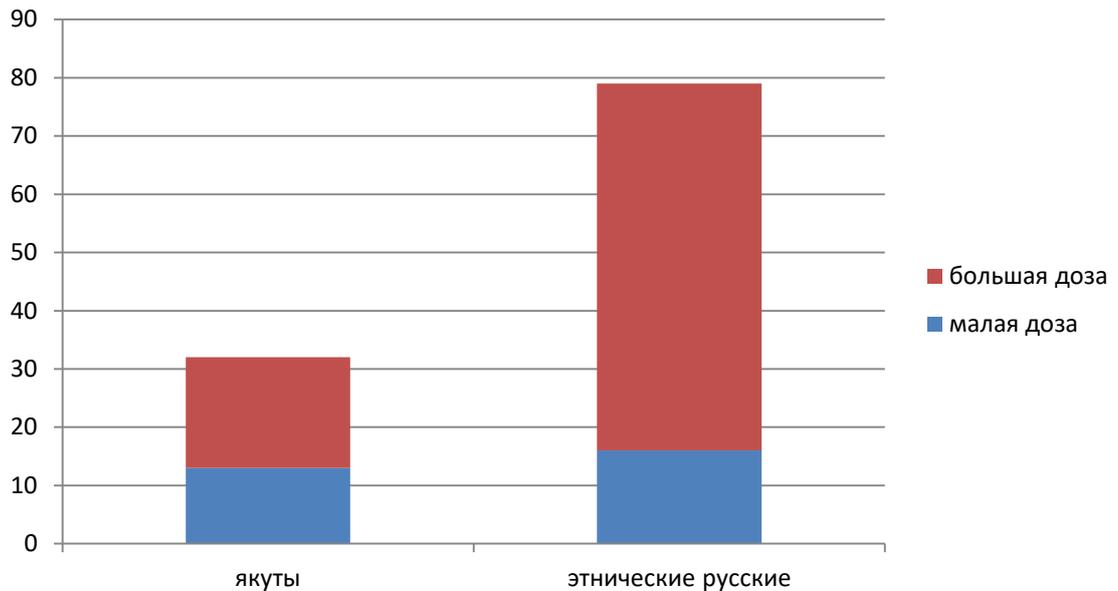


Рисунок 9 – Количество пациентов якутов и этнических русских, принимающих больше и меньше средней дозы бисопролола

Критерии включения для клинической части исследования:

1. Наличие диагноза ишемическая болезнь сердца (ИБС)
2. Планирование или прием бисопролола в оттитрованной дозе 2,5-10 мг, метопролола 50-150 мг.

Критерии исключения для клинической части исследования:

- Гиперчувствительность
- Беременность
- Кормление грудью
- АВ-блокада II и III степени, синоатриальная блокада

2.2. Характеристика пациентов, включенных для изучения частоты аллелей и генотипов, ассоциированных с чувствительностью к терапии препаратами, применяемыми у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями в этнических группах, проживающих в Республике Саха (Якутия);

2.2.1. Характеристика пациентов, планирующих или принимающих статины

В исследование вошли этнические русские пациенты (n = 1071) – 448 (42%) мужчин и 523 (58%) женщины в возрасте 57 ± 11 лет с гиперлипидемией; среди

якутов в группу исследования вошли 76 этнических якутов (саха), принимающих статины – 39 (51%) мужчин и 37 (49%) женщин. Всех пациентов генотипировали по аллельному варианту *SLCO1B1**5 (с.521T>C, rs4149056).

Критерии включения в исследование

1. Гиперлипидемия ПА и Пв типа по Фредриксону;
2. Планирование терапии статинами.

2.2.2. Характеристика пациентов, планирующих или принимающих клопидогрел

С целью изучения вариабельности фармакологического ответа на клопидогрел, обусловленной генетическими полиморфизмами ферментов биотрансформации на уровне цитохрома P450, было обследовано 411 пациентов (средний возраст 64.0 ± 8.5 лет): 143(34.8%) этнических русских – 84 (58.7%) мужчины и 59(41.3%) женщины; 268(65.2%) якутов – 153(57.1%) мужчин и 115(42.9%) женщин с диагнозом острый коронарный синдром, получающих или планирующих терапию клопидогрелом.

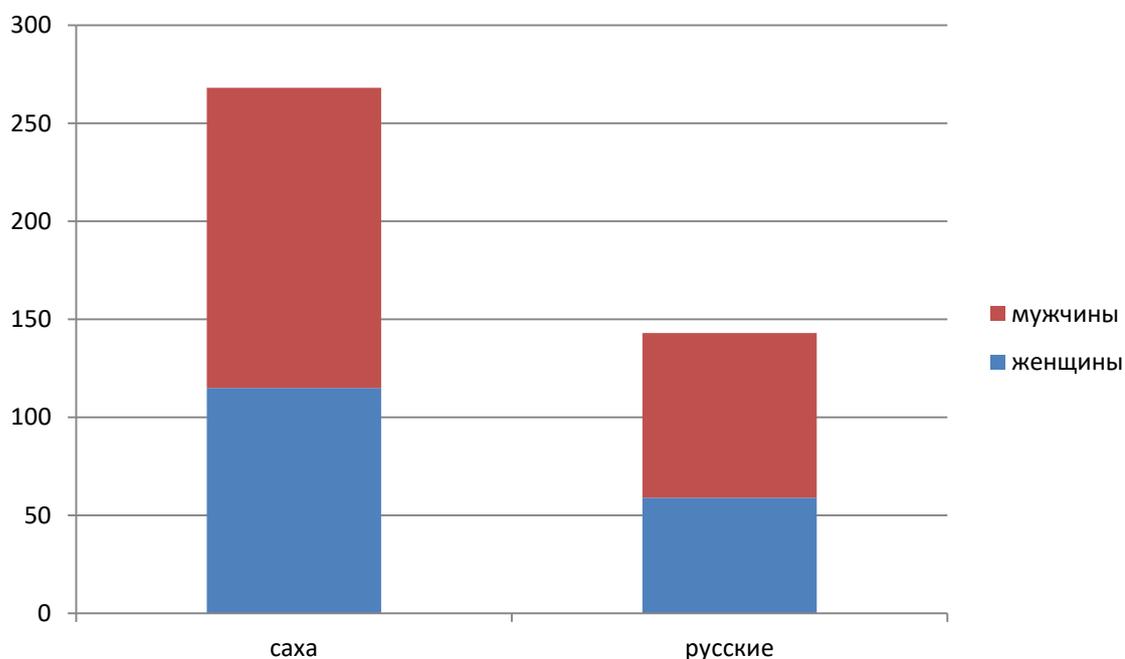


Рисунок 10 – Половой состав участников клинической части исследования, получающих или планирующих терапию клопидогрелом

Критерии включения для клинической части исследования

1. Острый коронарный синдром с подъемом сегмента ST;
2. Острый коронарный синдром без подъема сегмента ST;
3. Прием клопидогрела в комбинации с ацетилсалициловой кислотой в составе двойной антиагрегантной терапии;

Критерии исключения для клинической части исследования:

- Повышенная чувствительность к клопидогрелу или вспомогательным компонентам препарата
- Тяжелая печеночная или почечная недостаточность (клиренс креатинина <30 мл/мин)
- Геморрагический синдром

2.2.3. Характеристика пациентов, планирующих или принимающих дабигатран

В исследование было включено 289 пациента якутской национальности, средний возраст – $61,86 \pm 14,7$ и 133 этнических русских, средний возраст – $60,86 \pm 16,7$, с неклапанной фибрилляцией предсердий после ортопедических операций, принимавших дабигатрана этексилат по 150 мг 2 раза в сутки в течение 1 месяца.

Критерии включения для клинической части исследования:

1. Пациенты с неклапанной фибрилляцией предсердий, эндопротезированием крупных суставов.

Критерии исключения для клинической части исследования

1. Известная гиперчувствительность к дабигатрану, дабигатрана этексилату или к любому из вспомогательных веществ; Тяжелая степень почечной недостаточности (КК менее 30 мл/мин);
2. Активное клинически значимое кровотечение, геморрагический диатез, спонтанное или фармакологически индуцированное нарушение гемостаза;
3. Одновременное назначение кетоконазола для системного применения;
4. Нарушения функции печени и заболевания печени;

5. Возраст до 18 лет.

Критерии включения для популяционной части исследования:

1. Самоидентификация субъекта, как представителя одной из коренных этнических групп Республики Саха (Якутия);
2. Самоидентификация субъекта, как представителя этнической группы этнических русских;
3. Информированное согласие на участие в исследовании в письменной форме.

Критерии исключения для популяционной части исследования:

1. Рождение в межнациональных браках.

2.2.4. Анкетирование врачей и пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

Проведено проспективное анкетирование для оценки особенности внедрения фармакогенетического тестирования для персонализации терапии пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями: востребованность, приверженность, отношения врачей (таблица 5). Анкетирование проводилось в медицинских организациях, где имелось фармакогенетическое тестирование и в медицинских организациях, где отсутствовало фармакогенетическое тестирование. В анкетировании участвовали 34 женщины, 8 мужчин.

Для определения информированности пациентов было проведено анкетирование 36 больных. Была составлена анкета, включающая три блока вопросов: возраст, информация о пользе фармакогенетического тестирования и удовлетворенность качеством оказания медицинской помощи. По возрасту пациенты были распределены на 4 группы: лица старше 65 лет, младше 25 лет, 45-60 лет, 35-45 лет. Второй блок был представлен вопросом, «Полезно ли было для Вас фармакогенетическое тестирование или нет». Третий блок содержал вопросы о качестве оказания медицинской помощи. На вопросы второго и третьего блоков опрашиваемые имели возможность выбрать несколько вариантов ответов.

Анкетирование врачей на приверженность к фармакогенетическому тестированию

Медицинские организации, где имеется фармакогенетическое тестирование							
Обладаете ли Вы достаточными сведениями о фармакогенетическом тестировании			Всегда ли назначаете соответственно фармакогенетическому тесту лекарственный препарат			Считаете ли Вы проведение фармакогенетического тестирования полезным для Вашей работы	
нет	не в полной мере	да	никогда	иногда	Всегда	да	затрудняюсь ответить
0	3	20	0	4	19	22	1
Медицинские организации, где отсутствует фармакогенетическое тестирование							
Обладаете ли Вы достаточными сведениями о фармакогенетическом тестировании			Всегда ли назначаете соответственно фармакогенетическому тесту лекарственный препарат			Считаете ли Вы проведение фармакогенетического тестирования полезным для Вашей работы	
нет	не в полной мере	да	никогда	иногда	Всегда	да	затрудняюсь ответить
1	6	12	5	10	4	12	7

2.3. Методика определения полиморфизмов

2.3.1. Определение полиморфизма rs1799853 гена CYP2C9*2, rs1057910 гена CYP2C9*3 и rs9923231 гена VKORC1*2

Для генотипирования использовали венозную кровь, собранную перед назначением препарата в вакуумные пробирки VACUETTE® (Greiner Bio-One, Австрия) с этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА). Носительство полиморфных маркеров rs1799853 гена CYP2C9*2, rs1057910 гена CYP2C9*3 и rs9923231 гена VKORC1*2 выявлялось методом полимеразно-цепной реакции в реальном времени (Real-Time PCR) на приборах CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA).

Определение генетических полиморфизмов проводилось в несколько этапов:

1. Выделение геномной ДНК из лейкоцитов цельной крови;
2. Проведение аллель-специфичной ПЦР;
3. Анализ и интерпретация результатов.

Процесс выделения ДНК проводился с помощью реагентов для выделения геномной ДНК из цельной крови «Экстракт – ДНК - 50» (ЗАО «Синтол» Россия).

Праймеры для ПЦР производства ЗАО «Синтол», Россия, серия гентест СYP2C19 (Россия):

-rs17998536GAAGAGGAGCATTTGAGGAC[CA]GTGTTCAAGAGGAAGCC
CG

-rs1057910 - TGCACGAGGTCCAGAGA TAC[A/C]TTGACCTTCTCC
CCACCAGC

-rs9923231-TAGGCGTGAGCCACCGC
ACC[C/T]GGCCAATGGTTGTTTTTCAG

Использованное оборудование и расходные материалы:

1. Амплификатор для ПЦР-РВ.
2. Встряхиватель для пробирок (VORTEX).
3. Автоматические дозаторы на 5,10 и 100 мкл.
4. Микропробирки на 1,5 мл.
5. Микропробирки для амплификации объемом 0,2 мкл.
6. Наконечники для дозаторов с гидрофобным фильтром к микропипеткам.

Подготовка и проведение реакции ПЦР.

Реактивы для амплификации ДНК:

- 5X ПЦР-смесь: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости.

Допускается вспенивание при встряхивании.

- 5X СYP2C9 *2: Жидкость прозрачная бледно-розовая, не вязкая.

- 5X СYP2C9 *3: Жидкость прозрачная бледно-розовая, не вязкая.

- 5X VKORC1*2: Жидкость прозрачная бледно-розовая, не вязкая.

КО-1 ГОМозигота: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости.

Допускается вспенивание при встряхивании.

КО-2 ГОМозигота: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости. Допускается вспенивание при встряхивании.

КО-3 ГЕТерозигота: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости.

Принцип метода (принцип действия) основан на полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени. Сигнал флуоресценции детектируется в каналах FAM и HEX. Амплификация целевого фрагмента ДНК с участием специфических праймеров проходит вне зависимости от аллельного варианта («5X ПЦР-смесь»; «5X CYP2C9 *2»; «5X CYP2C9 *3»; 5X VKORC1*2). Определение аллельного варианта основано на использовании конкурентных аллель-специфичных разрушаемых зондов, меченных флуорофором на 5'-конце и гасителем флуоресценции на 3'-конце. Благодаря 5'-3'-экзонуклеазной активности Taq-полимеразы зонд разрушается и происходит разгорание флуоресцентного сигнала в результате пространственного разделения флуорофора и гасителя. При этом разрушение зонда комплементарного ДНК с «аллелем 1» приводит к флуоресцентному сигналу в канале FAM, разрушение зонда комплементарного ДНК с «аллелем 2» – к флуоресцентному сигналу в канале HEX, если ДНК содержит оба аллеля, сигнал флуоресценции детектируется в двух каналах одновременно.

Для контроля качества результатов используются реакции NTC и реакции с контрольными образцами («КО-1 ГОМозигота», «КО-2 ГОМозигота», «КО-3 ГЕТерозигота»). Расчет необходимого объема реагентов для реакции амплификации представлен в таблице (таблица 5). Реактивы для амплификации ДНК смешивались в нужном объеме непосредственно перед проведением исследования.

Программа амплификации для всех полиморфизмов представлена в таблице (таблица 6). Для определения однонуклеотидного генетического полиморфизма rs1799853 гена CYP2C9*2, rs1057910 гена CYP2C9*3 и rs9923231 гена VKORC1*2 использовались набор ЗАО «Синтол», Россия и ГенТест CYP2C9, VKORC1. В данном наборе использовалось два аллель-специфичных зонда, которые позволили отдельно детектировать сразу два аллеля исследуемого полиморфизма на двух

каналах флуоресценции для каждого гена. Результаты реакции на двух каналах позволяют однозначно определить присутствие каждого из аллелей исследуемого полиморфизма. Такие зонды позволяют получить оптимальное разрешение и уровень сигнала при заданной температуре реакции, так как проводится их тщательный подбор с использованием специальных алгоритмов, путем введения модификаций в последовательность и контролем реальной разрешающей способности.

Таблица 6

Набор реагентов для определения полиморфизма rs1799853 гена CYP2C9*2, rs1057910 гена CYP2C9*3 и rs9923231 гена VKORC1*2

Компонент	Объем(мл)
5X ПЦР-смесь	1,8
5 X CYP2C9*2	0,55
5 X CYP2C9*3	0,55
5X VKORC1*2	0,55
КО-1 ГОМозигота	0,6
КО-2 ГОМозигота	0,6
КО-3 ГЕТерозигота	0,6

Анализ и интерпретация результатов. Результаты анализа по определению однонуклеотидного генетического полиморфизма rs1799853 гена CYP2C9*2 , rs1057910 гена CYP2C9*3 и rs9923231 гена VKORC1*2 исходя из расположения кривых на графике, позволяют дать три типа заключений для каждого гена: для гена CYP2C9*2 нормальная гомозигота с генотипом C/C(*1/*1), гетерозигота с генотипом C/T (*1/*2 соответственно), мутантная гомозигота с генотипом T/T (*2/*2 соответственно). Для гена CYP2C9*3 нормальная гомозигота с генотипом A/A(*1/*1), гетерозигота с генотипом A/C (*1/*3 соответственно), мутантная гомозигота с генотипом C/C (*3/*3 соответственно). Для VKORC1 нормальная гомозигота с генотипом G/G, гетерозигота с генотипом A/G, мутантная гомозигота с генотипом A/A. Результаты показаны в таблице 7.

Интерпретация результатов по полиморфизмам rs1799853 гена CYP2C9*2, rs1057910 гена CYP2C9*3 и rs9923231 гена VKORC1*2

Канал флюоресценции	Контрольный образец	5X CYP2C9 *2	5X CYP2C9 *3	VKORC1 *2
FAM	КО-1 ГОМозигота	GG	AA	GG
HEX	КО-2 ГОМозигота	AA	GA	AA
FAM и HEX	КО-3 ГЕТерозигота	GA	GA	GA

2.3.2. Методика определения полиморфизма rs4244285*2, rs4986893, *3 гена CYP2C19.

Для генотипирования использовали венозную кровь, собранную на 3-5 сутки окс в вакуумные пробирки VACUETTE® (Greiner Bio-One, Австрия) с этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА). Носительство полиморфных маркеров гена CYP2C19 выявлялось методом полимеразно-цепной реакции в реальном времени (Real-Time PCR) на приборах CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA).

Определение генетических полиморфизмов проводилось в несколько этапов:

1. Выделение геномной ДНК из лейкоцитов цельной крови;
2. Проведение аллель-специфичной ПЦР;
3. Анализ и интерпретация результатов.

Процесс выделения ДНК проводился с помощью реагентов для выделения геномной ДНК из цельной крови «ДНК-Экстран-1» (ЗАО «Синтол» Россия).

Праймеры для ПЦР производства серия гентест CYP2C19 (Россия).

Последовательность праймеров:

1.rs4244285-TTCCCACTATCATTTGATTATTTCCC[G/A]GGAACCCAT
AASAAATTACTTAAAA GG GA AA

2.rs4986893-ACATCAGGATTGTAAGCACCCCCTG[G/A]ATCCAGGT

AAGGCCAAGTTTTTTTGC GG GA AA

Использованное оборудование и расходные материалы:

- амплификатор ПЦР-РВ CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (модель 1000, Bio-Rad Laboratories, Inc., США, ФСЗ 2008/03399);
- термостат;
- встряхиватель для пробирок (вортекс);
- микроцентрифуга для пробирок;
- центрифуга для стрипов/планшетов;
- ПЦР-бокс;
- автоматические дозаторы на 10, 20, 200 и 1000 мкл;
- наконечники для дозаторов с гидрофобным фильтром на 10, 20, 200 и 1000 мкл;
- микропробирки для центрифугирования емкостью 0.5 мл и 1.5 мл;
- микропробирки для амплификации объемом 0.2 мл, кат. № 3247- 00, SSI; – штативы для пробирок; – вода для ПЦР деионизованная, свободная от нуклеаз;

Подготовка и проведение реакции ПЦР. Реактивы для амплификации ДНК (5X ПЦР-смесь: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости. Допускается вспенивание при встряхивании. 5X CYP2C19 *2: Жидкость прозрачная бледно-розовая, не вязкая. 5X CYP2C19 *3: Жидкость прозрачная бледно-розовая, не вязкая. 5X CYP2C19 *17: Жидкость прозрачная бледно-розовая, не вязкая. КО-1 ГОМозигота: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости. Допускается вспенивание при встряхивании. КО-2 ГОМозигота: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости. Допускается вспенивание при встряхивании. КО-3 ГЕТерозигота: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости.

Принцип метода (принцип действия) основан на полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени. Сигнал флуоресценции детектируется в каналах FAM и HEX. Амплификация целевого

фрагмента ДНК с участием специфических праймеров проходит вне зависимости от аллельного варианта («5X ПЦР-смесь»; «5X СУР2С19 *2»; «5X СУР2С19 *3»). Определение аллельного варианта основано на использовании конкурентных аллель-специфичных разрушаемых зондов, меченных флуорофором на 5'-конце и гасителем флуоресценции на 3'-конце. Благодаря 5'-3'-экзонуклеазной активности Taq-полимеразы зонд разрушается и происходит разгорание флуоресцентного сигнала в результате пространственного разделения флуорофора и гасителя. При этом, разрушение зонда комплементарного ДНК с «аллелем 1» приводит к флуоресцентному сигналу в канале FAM, разрушение зонда комплементарного ДНК с «аллелем 2» – к флуоресцентному сигналу в канале HEX, если ДНК содержит оба аллеля, сигнал флуоресценции детектируется в двух каналах одновременно.

Для контроля качества результатов используются реакции NTC и реакции с контрольными образцами («КО-1 ГОМозигота», «КО-2 ГОМозигота», «КО-3 ГЕТерозигота»).

Таблица 8

Расчет необходимого объема реагентов для реакции амплификации

	Количество компонента на одну реакцию, мкл
Общая реакционная смесь	
Вода для ПЦР	10
5X ПЦР-смесь	5
5X Реагент	5
Добавляются в каждую пробирку отдельно	
Исследуемый образец ДНК	
КО-1 ГОМозигота	5
КО-2 ГОМозигота	5

КО-3 ГЕТерозигота	5
Вода, использовавшаяся для приготовления общей реакционной смеси (контрольный образец без матрицы)	5

Подготовка проб к амплификации:

1. Перед выполнением протокола рекомендуется оценить концентрацию ДНК. При необходимости подготовить алиquotы ДНК, удовлетворяющие требованиям: концентрация ДНК от 0.2 до 25 нг/мкл.

2. В зоне № 2 разморозить при комнатной температуре «5X ПЦР-смесь» и необходимые для постановки 5X Реагенты (одновременно все три или только некоторые из них в зависимости от формата постановки).

3. Содержимое пробирок тщательно перемешать четырехкратным переворачиванием, затем встряхиванием на вортексе, не допуская образования пены; сбросить капли в микроцентрифуге в течение 5 с.

4. Рассчитать необходимый объем компонентов для общей реакционной смеси, исходя из числа исследуемых образцов.

Контрольные реакции: с контрольными образцами «КО-1 ГОМозигота», «КО-2 ГОМозигота», «КО-3 ГЕТерозигота» и контрольным образцом без матрицы (NTC). Каждую реакцию с контрольными и исследуемыми образцами необходимо выполнить в двух технических повторностях

6. Приготовить общую реакционную смесь.

7. Тщательно перемешать общую реакционную смесь встряхиванием на вортексе; сбросить капли со стенок пробирок в микроцентрифуге в течение 5 секунд.

8. Перенести пробирку с общей реакционной смесью в зону № 3.

Внести по 20 мкл общей реакционной смеси в пробирки для ПЦР.

10. В зоне № 3 подготовить контрольные и исследуемые образцы ДНК (или алиquotы ДНК). После размораживания контрольные и исследуемые образцы ДНК прогреть при 50 °С в течение 2 минут, перемешать встряхиванием на вортексе,

сбросить капли в микроцентрифуге в течение 5 секунд.

11. Добавить по 5 мкл воды, использовавшейся для приготовления общей реакционной смеси, в пробирки для ПЦР, соответствующие образцам НТС.

12. Добавить по 5 мкл ДНК исследуемых образцов в соответствующие пробирки для ПЦР.

13. Добавить по 5 мкл контрольных образцов «КО-1 ГОМозигота», «КО-2 ГОМозигота», «КО-3 ГЕТерозигота» в соответствующие пробирки для ПЦР.

14. Закрыть крышки пробирок для ПЦР; сбросить капли центрифугированием в микроцентрифуге в течение 10 секунд.

15. Установить пробирки для ПЦР в блок амплификатора.

16. Запустить программное обеспечение амплификатора (таблица 9)

17. Открыть созданный ранее шаблон или ввести параметры:

- программа амплификации

Таблица 9

Программа амплификации

Этап	Температура, °С	Продолжительность	Считывание флуоресценции
Инкубация	95	3 мин.	
50 циклов	95	10 сек.	
	60	30 сек.	FAM. HEX

- создать разметку плашки в соответствии с установленными пробирками в блок амплификатора;
- выбрать каналы детекции FAM и HEX;
- запустить программу амплификации.

Для определения однонуклеотидного генетического полиморфизма rs4244285 (G681A, *2) гена CYP2C19 и полиморфизма rs4986893 (G636A, *3) гена CYP2C19 использовались набор (Таблицы 10, 11) (ЗАО "Синтол", Россия) и ГенТест CYP2C19 . В данном наборе использовалось два аллель -специфичных зонда,

которые позволили отдельно детектировать сразу два аллеля исследуемого полиморфизма на двух каналах флуоресценции. Результаты реакции на двух каналах позволяют однозначно определить присутствие каждого из аллелей исследуемого полиморфизма. Такие зонды позволяют получить оптимальное разрешение и уровень сигнала при заданной температуре реакции, так как проводится их тщательный подбор с использованием специальных алгоритмов, путем введения модификаций в последовательность и контролем реальной разрешающей способности.

Набор реагентов для определения полиморфизма G681A (rs4244285, *2) и G636A (rs4986893, *3) гена CYP2C19 (таблица 10).

Таблица 10

Форма выпуска

Компонент	Объем(мкл)
5X ПЦР-смесь	1,8
5X CYP2C19 *2	0,55
5X CYP2C19 *3	0,55
КО-1 ГОМозигота	0,6
КО-2 ГОМозигота	0,6
КО-3 ГЕТерозигота	0,6

Анализ и интерпретация результатов представлены в таблице 11. Результаты анализа по определению однонуклеотидного генетического полиморфизма rs4244285 (G681A, *2) и G636A (rs4986893, *3) гена CYP2C19, исходя из расположения кривых на графике, позволяют дать три типа заключений: нормальная гомозигота с генотипом G/G (*1/*1), гетерозигота с генотипом G/A (*1/*2 или *1/*3 соответственно), мутантная гомозигота с генотипом A/A (*2/*2 или *3/*3 соответственно).

Анализ и интерпретация результатов

Канал флюоресценции	Контрольный образец	5X CYP2C19 *2	5X CYP2C19 *3
FAM	КО-1 ГОМозигота	GG	GG
HEX	КО-2 ГОМозигота	AA	AA
FAM и HEX	КО-3 ГЕТерозигота	GA	GA

2.3.3. Определение полиморфизма rs4149056 гена SLCO1B1

Для генотипирования использовали венозную кровь, собранную перед назначением препарата в вакуумные пробирки VACUETTE® (Greiner Bio-One, Австрия) с этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА). Носительство полиморфных маркеров гена SLCO1B1 выявлялось методом полимеразно-цепной реакции в реальном времени (Real-Time PCR) на приборах CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA).

Определение генетических полиморфизмов проводилось в несколько этапов:

1. Выделение геномной ДНК из лейкоцитов цельной крови;
2. Проведение аллель-специфичной ПЦР;
3. Анализ и интерпретация результатов.
4. Процесс выделения ДНК проводился с помощью реагентов для выделения геномной ДНК из цельной крови «Экстракт – ДНК - 10» (ЗАО «Синтол» Россия).

Праймеры для ПЦР производства ЗАО «Синтол», Россия серия гентест SLCO1B1(Россия).

Последовательность праймеров:

2. 1. rs4149056SLCO1B1
3. CTCATACATGTGGATATATG[C/T]GTTTCATGGGTAATATGCTTC

Использованное оборудование и расходные материалы:

1. Амплификатор для ПЦР-РВ;
2. Встряхиватель для пробирок (VORTEX);
3. Автоматические дозаторы на 5,10 и 100 мкл;
4. Микропробирки на 1,5 мл;
5. Микропробирки для амплификации объемом 0,2 мкл;
6. Наконечники для дозаторов с гидрофобным фильтром к микропипеткам.

Подготовка и проведение реакции ПЦР. Реактивы для амплификации ДНК 5X ПЦР-смесь: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости. Допускается вспенивание при встряхивании. 5X SLCO1B1: Жидкость прозрачная бледно-розовая, не вязкая. КО-1 ГОМозигота: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости. Допускается вспенивание при встряхивании. КО-2 ГОМозигота: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости. Допускается вспенивание при встряхивании. КО-3 ГЕТерозигота: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости. Подготовка проб к амплификации:

1. Разморозка компонентов, перемешивание и центрифугирование.
2. Приготовление смеси компонентов, добавление их в порядке, указанном в таблице, перемешивание и центрифугирование.
3. Маркировка пробирок в соответствии с протоколом исследования.
4. Внесение в ПЦР пробирки по 20 мкл смеси компонентов.
5. Добавление в каждую ПЦР пробирку по 5 мкл контрольных и исследуемых образцов в соответствии с маркировкой.
6. Кратковременно центрифугирование.
7. Постановка пробирок в прибор в соответствии с протоколом исследования.
8. Программа амплификации для всех полиморфизмов.

Для определения однонуклеотидного генетического полиморфизма rs4149056 гена SLCO1B1 использовались набор (таблица 12) (ЗАО "Синтол", Россия) и ГенТест rs4149056 гена SLCO1B1.

В данном наборе использовались два аллель-специфичных зонда, которые позволили отдельно детектировать сразу два аллеля исследуемого полиморфизма

на двух каналах флуоресценции для каждого гена. Результаты реакции на двух каналах позволяют однозначно определять присутствие каждого из аллелей исследуемого полиморфизма. Такие зонды позволяют получить оптимальное разрешение и уровень сигнала при заданной температуре реакции, так как проводится их тщательный подбор с использованием специальных алгоритмов, путем введения модификаций в последовательность и контролем реальной разрешающей способности.

Таблица 12

**Набор реагентов для определения полиморфизма rs4149056 гена
SLCO1B1**

Компонент	Объем, мл
5X ПЦР-смесь	1,8
SLCO1B1	0,55
КО-1 ГОМозигота	0,6
КО-2 ГОМозигота	0,6
КО-3 ГЕТерозигота	0,6

Анализ и интерпретация результатов представлен в таблице 13. Результаты анализа по определению однонуклеотидного генетического полиморфизма rs4149056 гена SLCO1B1, исходя из расположения кривых на графике, позволяют дать три типа заключений для гена rs4149056 гена SLCO1B1: нормальная гомозигота с генотипом Т/Т, гетерозигота с генотипом Т/С, мутантная гомозигота с генотипом С/С.

Таблица 13

Анализ и интерпретация результатов

Канал флуоресценции	Контрольный образец	SLCO1B1*5
FAM	КО-1 ГОМозигота	ТТ
HEX	КО-2 ГОМозигота	СС
FAM и HEX	КО-3 ГЕТерозигота	ЕС

2.3.4. Определение полиморфизма rs2244613 гена CES1

Для генотипирования использовали венозную кровь, собранную перед назначением препарата в вакуумные пробирки VACUETTE® (Greiner Bio-One, Австрия) с этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА). Носительство полиморфных маркеров гена CES1 выявлялось методом полимеразно-цепной реакции в реальном времени (Real-Time PCR) на приборах CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA).

Определение генетических полиморфизмов проводилось в несколько этапов:

1. Выделение геномной ДНК из лейкоцитов цельной крови;
2. Проведение аллель-специфичной ПЦР;
3. Анализ и интерпретация результатов.
4. Процесс выделения ДНК проводился с помощью реагентов для выделения геномной ДНК из цельной крови «Экстракт – ДНК - 50» (ООО «НОМОТЕК» Россия).

Праймеры для ПЦР производства ООО «Номотек», Россия серия гентест CES1. (Россия).

Последовательность праймеров:

1. 1.rs4244285 GAGAAGCTGCATCGCTC ACC[A/C]GGGGCTGGTG
GTCACTTT

Использованное оборудование и расходные материалы:

5. Амплификатор для ПЦР-РВ;
 1. Встряхиватель для пробирок (VORTEX);
 2. Автоматические дозаторы на 5,10 и 100 мкл;
 3. Микропробирки на 1,5 мл;
 4. Микропробирки для амплификации объемом 0,2 мкл;
 5. Наконечники для дозаторов с гидрофобным фильтром к микропипеткам;

Подготовка к проведению реакции ПЦР. Реактивы для амплификации ДНК: ПЦР-смесь: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости.

Допускается вспенивание при встряхивании. СУР2С19 *2: Жидкость прозрачная бледно-розовая, не вязкая. СУР2С19 *3: Жидкость прозрачная бледно-розовая, не вязкая. Жидкость прозрачная бледно-розовая, не вязкая. КО-1 ГОМозигота: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости. Допускается вспенивание при встряхивании. КО-2 ГОМозигота: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости. Допускается вспенивание при встряхивании. КО-3 ГЕТерозигота: Жидкость прозрачная бесцветная умеренной вязкости. (Таблица 14)

Подготовка проб к амплификации:

1. Разморозка компонентов, перемешивание и центрифугирование;
2. Приготовление смеси компонентов, добавляя их в порядке, указанном в таблице, перемешивание и центрифугирование;
3. Маркировка пробирок в соответствии с протоколом исследования;
4. Внесение в ПЦР пробирки по 20 мкл смеси компонентов;
5. Добавление в каждую ПЦР пробирку по 5 мкл контрольных и исследуемых образцов в соответствии с маркировкой;
6. Кратковременно центрифугирование;
7. Постановка пробирок в прибор в соответствии с протоколом исследования.

Программа амплификации для всех полиморфизмов.

Для определения однонуклеотидного генетического полиморфизма rs2244613 гена CES1 использовались набор (ООО "Номотек", Россия) и ГенТест rs2244613 гена CES1.

Таблица 14

Расчет необходимого объема реагентов для реакции амплификации

Компонент	Объем(мл)
5X ПЦР-смесь	0,6
5X CES1	0,55
КО-1 ГОМозигота	0,6
КО-2 ГОМозигота	0,6
КО-3 ГЕТерозигота	0,6

В данном наборе использовались два аллель-специфичных зонда, которые позволили отдельно детектировать сразу два аллеля исследуемого полиморфизма на двух каналах флуоресценции для каждого гена. Результаты реакции на двух каналах позволяют однозначно определить присутствие каждого из аллелей исследуемого полиморфизма. Такие зонды позволяют получить оптимальное разрешение и уровень сигнала при заданной температуре реакции, так как проводился их тщательный подбор с использованием специальных алгоритмов, путем введения модификаций в последовательность и контролем реальной разрешающей способности.

Таблица 15

Анализ и интерпретация результатов

Канал флуоресценции	Контрольный образец	CES1
FAM	КО-1 ГОМозигота	GG
HEX	КО-2 ГОМозигота	TT
FAM и HEX	КО-3 ГЕТерозигота	GT

Результаты анализа по определению однонуклеотидного генетического полиморфизма (рисунок 10) rs2244613 гена CES1, исходя из расположения кривых на графике, позволяют дать два типа заключений для гена rs2244613 гена CES1 - гетерозигота с генотипом G/T, мутантная гомозигота с генотипом T/T.

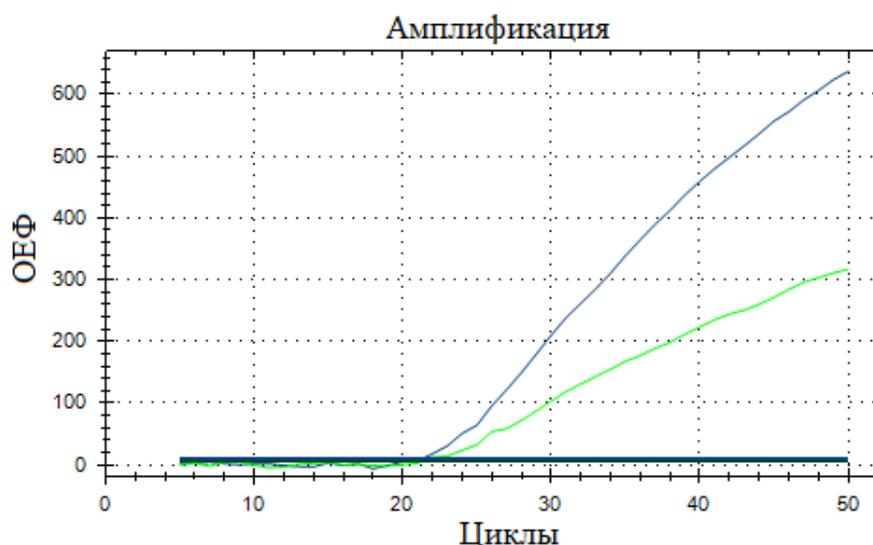


Рисунок 11 – CES1 гетерозигота GT

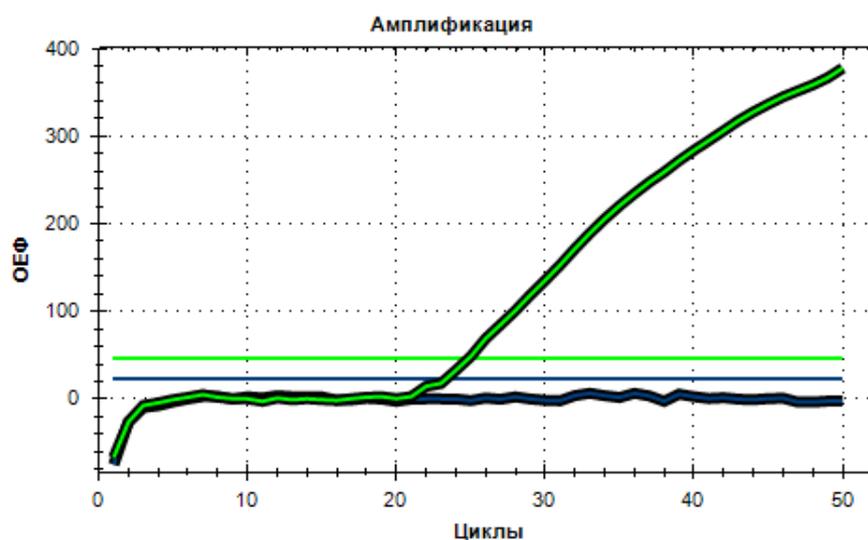


Рисунок 12 – CES1 мутация ТТ

2.3.5. Определение полиморфизма гена CYP2D6 (G1846A, rs3892097 и C100T, rs1065852)

Выделение геномной ДНК из лейкоцитов цельной крови осуществлялось с помощью набора лабораторных реагентов «ДНК-ЭКСТРАН-1» (ЗАО «Синтол», Россия). Частоты полиморфизмов гена CYP2D6 (G1846A, rs3892097 и C100T, rs1065852) были определены методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Real-Time PCR) с использованием коммерческих наборов реагентов (ЗАО «Синтол», Москва, Россия). Генотипирование проводили с помощью амплификатора Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA). Общий объем реакционной смеси составлял 25 мкл:

1. 100-200 нг раствора ДНК,
2. 300 нмоль прямого праймера:
 - а. 3'-CGGGAGACCAGGGGGAGCATAGG-5' для G1846A;
 - б. 5'-ТСААСАСАГСАГГТТСА-3' для С100Т;
3. 300 нмоль обратного праймера:
 - а. 3'-GACCGTTGGGGCGAAAGGGGGGT-5' для G1846A;
 - б. 5' СТГТГГТТТСАСССАСС-3' для С100Т;
4. 200 мкмоль dNTPs, амплификационный буфер (650 мМ трис-НСl (рН 8,5 при 25 ° С, 240 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,5 % Tween 20, 35 мМ MgCl₂),

5. термостабильная Taq-полимераза – 0,5 ед. акт./реакцию.

Аmplификация проходила при следующих условиях: начальная денатурация при 95°C в течение 3 минут, затем 40 циклов, включающих денатурацию при 95°C в течение 15 секунд, отжиг праймеров с последующей элонгацией при 63°C в течение 40 секунд. Каждый шаг сопровождался регистрацией флуоресцентного сигнала по соответствующему каналу: FAM, HEX или FAM и HEX.

Статистическая обработка результатов проводилась в программе Statistica 12. Средние показатели представлены как $M \pm SD$, где M — среднее, SD — стандартное отклонение. Проверка нормальности распределения проводилась с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. В случае ненормального распределения для описания количественных данных вычисляли медиану с квантилями. Для сравнения медиан изученных показателей применялся парный Манна-Уитни. При сравнении более двух групп исследования использовался непараметрический дисперсионный анализ Краскела-Уоллеса. Качественные признаки представлены в виде частотных таблиц, содержащих абсолютное значение и относительную долю признаков (%). Для установления различий категориальных показателей был применен критерий хи-квадрат Пирсона χ^2 . Для проверки соблюдения равновесия Харди–Вайнберга также применялся хи-квадрат Пирсона χ^2 .

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Этническая чувствительность к терапии (на примере терапии антагонистами витамина К и бета-адреноблокаторами) путем сопоставления подобранных доз варфарина, метопролола, бисопролола у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями из этнических групп якутов (саха) и этнических русских

Пациенты якутской национальности принимали подобранную дозу варфарина 3,0(2,50-3,75) мг/сут, этнические русские пациенты имели дозу 4,3(3,75-5,63) мг/сут. Подобранная доза варфарина у этнических русских была намного выше, чем у саха ($p < 0,000001$) (Таблица 16).

Таблица 16

Подобранная доза варфарина у якутов и этнических русских

Этнос	Кол-во пациентов	Медиана, мг/сут	Минимальная доза, мг/сут	Максимальная доза, мг/сут	Квартиль 25, мг/сут	Квартиль 75, мг/сут
Саха	84	3,0	1,25	9,3	2,50	3,75
Русские	95	4,3	2,5	7,5	3,75	5,63
$Z = -5,08; p < 0,000001$						

Как видно из данных, приведенных в таблице 17, подобранная доза метопролола у пациентов якутов и этнических русских достоверно не различалась 50(25,0-50,0) мг/сут vs 50(25,0-50,0) мг/сут ($p = 0,95$). Подобранная доза бисопролола у пациентов якутской национальности и этнических русских была одинаковой - 2,5(2,5-10) мг/сут vs 2,5(2,5-10) мг/сут ($p = 0,57$) (таблица 18).

Таблица 17

Подобранная доза метопролола у якутов и у этнических русских

Этнос	Количество пациентов	Средняя доза, мг/сут	Минимальная доза, мг/сут	Максимальная доза, мг/сут	Квартиль25 мг/сут	Квартиль75 мг/сут
Саха	36	50,0	25,0	100,0	25,0	50,0
Этн. русские	43	50,0	12,5	150,0	25,0	50,0
Z=-0,37; p =0,95						

Таблица 18

Подобранная доза бисопролола у якутов и этнических русских

Этнос	Количество пациентов	Средняя доза, мг	Минимальная доза, мг	Максимальная доза, мг	
Саха	43	2,5	2,5	10,0	Z=-0,55; p=0,57
Этн. русские	17	2,5	2,5	10,0	

Эпизоды увеличения МНО у якутов статистически незначимо были выше при генотипах CYP2C9 1/1 ($p=0,68$) (таблица 19). Группы с медленными метаболиторами CYP2C9 *1/*2, CYP2C9 *1/*3 были объединены. В результате, у пациентов – медленных метаболиторов по CYP2C9 повышенные эпизоды МНО встречались статистически незначимо чаще у пациентов якутской национальности (36% vs 27%, $p=0,5$). При объединении групп медленных метаболиторов по CYP2C9 *1/*2, CYP2C9 *1/*3 отмечалось большее количество эпизодов превышения МНО > 3 у якутов - 35,71% vs 27,14 %, однако, также статистически незначимо ($p=0,5$). (Табл.20). По VKORC1 эпизоды увеличения МНО >3 у пациентов якутской национальности, несущих аллель AA – 26,00% ($n=13$) по сравнению с пациентами, несущими аллели GA – 30,00% ($n=9$) и GG – 50% ($n=2$) также обнаружили незначимые различия ($p=0,58$). (Таблица 21). По генотипам VKORC1 также различия увеличения МНО>3 незначимы у мутантных аллелей по

сравнению с дикими (32% vs 26%, $p=0,5$) у якутов. (Таблица 22). У этнических русских увеличение МНО >3 по CYP2C9 и VKORC1 не достоверно отмечалось в группах пациентов, имеющих медленные генотипы. (Таблицы 23-26).

Таблица 19

Распределение пациентов якутов по генотипам CYP2C9 в зависимости от развития эпизодов чрезмерной гипокоагуляции (увеличение МНО более 3) при применении варфарина

Генотип	Количество пациентов (n)	
	Эпизоды МНО > 3 не отмечались	Эпизоды МНО > 3 отмечались
CYP2C9 *1/*1	51	19
	72,86%	27,14%
CYP2C9 *1/*2	4	3
	57,14%	42,86%
CYP2C9 *1/*3	5	2
	71,43%	28,57%
$\chi^2=0,77$; $p=0,68$		

Таблица 20

Распределение пациентов якутской национальности по медленным и «диким» генотипам CYP2C9 в зависимости от развития эпизодов чрезмерной гипокоагуляции (увеличение МНО более 3) при применении варфарина

Генотип	Количество пациентов (n)	
	Эпизоды МНО > 3 не отмечались	Эпизоды МНО > 3 отмечались
CYP2C9 *1/*1	51	19
	72,86%	27,14%
CYP2C9 *1/*2 + CYP2C9 *1/*3	9	5
	64,29%	35,71%
$\chi^2=0,42$; $p=0,52$		

Таблица 21

Распределение пациентов якутской национальности по генотипам VKORC1 в зависимости от развития эпизодов чрезмерной гипокоагуляции (увеличение МНО более 3) при применении варфарина

Генотип VKORC1	Количество пациентов, чел	
	МНО > 3 не отмечались	МНО > 3 отмечались
GA	21	9
	70,00%	30,00%
GG	2	2
	50,00%	50,00%
AA	37	13
	74,00%	26,00%
$\chi^2=1,09; p=0,58$		

Таблица 22

Распределение пациентов якутской национальности по медленным и «диким» генотипам VKORC1 в зависимости от развития эпизодов чрезмерной гипокоагуляции (увеличение МНО более 3) при применении варфарина

Генотип VKORC1	Количество пациентов, чел	
	МНО > 3 не отмечались	МНО > 3 отмечались
AA	37	13
	74%	26%
GA+GG	23	11
	67,65%	32,35%
$\chi^2=0,40; p=0,53$		

Таблица 23

Распределение этнических русских пациентов по генотипам CYP2C9 в зависимости от развития эпизодов чрезмерной гипокоагуляции (увеличение МНО более 3) при применении варфарина

Генотип	Количество пациентов, чел	
	МНО > 3 не отмечались	МНО > 3 отмечались
CYP2C9 *1/*1	65	7
	90,28%	9,72%
CYP2C9 *1/*2	17	4
	80,95%	19,05%
CYP2C9 *1/*3	2	0
	100,00%	0,00%
$\chi^2=1,65; p=0,44$		

Таблица 24

Распределение этнических русских пациентов по медленным и «диким» генотипам CYP2C9 в зависимости от развития эпизодов чрезмерной гипокоагуляции (увеличение МНО более 3) при применении варфарина

Генотип	Количество пациентов (n)	
	Эпизоды МНО > 3 не отмечались	Эпизоды МНО > 3 отмечались
CYP2C9 *1/*1	65	7
	90,28%	9,72%
CYP2C9 *1/*2 + CYP2C9 *1/*3	19	4
	82,61%	17,39%
$\chi^2=1,00; p=0,31$		

Распределение этнических русских пациентов по генотипам VKORC1 в зависимости от развития эпизодов чрезмерной гипокоагуляции (увеличение МНО более 3) при применении варфарина

Генотип VKORC1	Количество пациентов, чел	
	МНО > 3 не отмечались	МНО > 3 отмечались
GA	44	6
	88,00%	12,00%
GG	30	2
	93,75%	6,25%
AA	10	3
	76,92%	23,08%
$\chi^2=2,57; p=0,28$		

Таблица 26

Распределение этнических русских пациентов по медленным и «диким» генотипам VKORC1 в зависимости от развития эпизодов чрезмерной гипокоагуляции (увеличение МНО более 3) при применении варфарина

Генотип VKORC1	Количество пациентов, чел	
	МНО > 3 не отмечались	МНО > 3 отмечались
AA	10	3
	76,92%	23,08%
GA+GG	74	8
	90,24%	9,76%
$\chi^2=1,95; p=0,16$		

Увеличение МНО > 3 при неклапанной фибрилляции предсердий у пациентов, принимающих варфарин отмечалось статистически значимо чаще у пациентов саха – 28,57% (n=24), чем у этнических русских – 11,58% (n=11) (p=0,004). (Таблица 27).

Распределение пациентов якутской национальности и этнических русских в зависимости от развития эпизодов гипокоагуляции (увеличение МНО более 3) при применении варфарина

Национальность	Количество пациентов	
	МНО > 3 не отмечались	МНО > 3 отмечались
Якуты	60	24
	71,43%	28,57%
Этнические русские	84	11
	88,42%	11,58%
$\chi^2=8,18; p=0,004$		

3.2. Вклад фармакогенетических факторов в этническую чувствительность к терапии (на примере терапии антагонистами витамина К и бета-адреноблокаторами) путем оценки ассоциаций носительства полиморфизмов генов CYP2C9, VKORC1 и CYP2D6 с величинами подобранных доз варфарина и метопролола, бисопролола

В группе якутов подобранная доза варфарина была статистически значимо меньше у носителей аллелей CYP2C9*1/*2 – 3,00(2,5-3,5)мг/сут, *1/*3 – 1,50 (1,25-2,5)мг/сут (p =0,005), чем CYP2C9*1/*1 - 3,13(2,5-4,38)мг/сут. (Рисунок 13). В группе этнических русских подобранная доза варфарина при CYP2C9*1/*1 4,58(3,75-6,0) мг./сут.также статистически значимо выше чем при CYP2C9 *1/*2 3,75(3,2-5,0)мг./сут., CYP2C9 *1/*3 – 2,5(2.5-2.5) мг./сут. (p =0,027) (Рисунок 14). (Таблица 28).

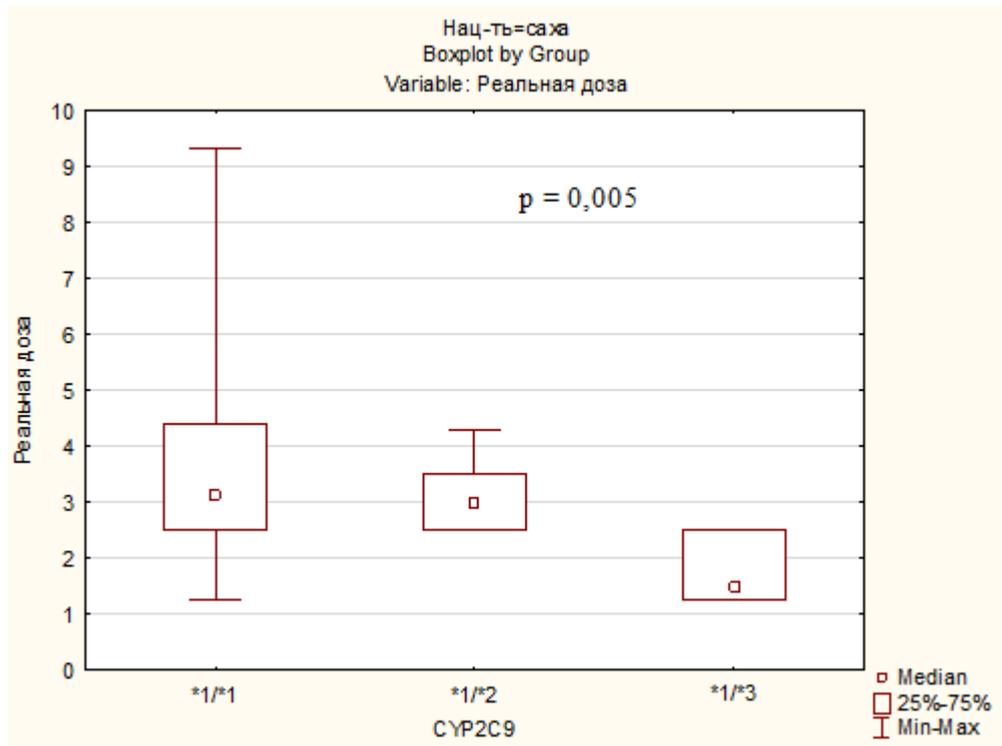


Рисунок 13 – Распределение медианы доз варфарина между генотипами у пациентов якутской национальности

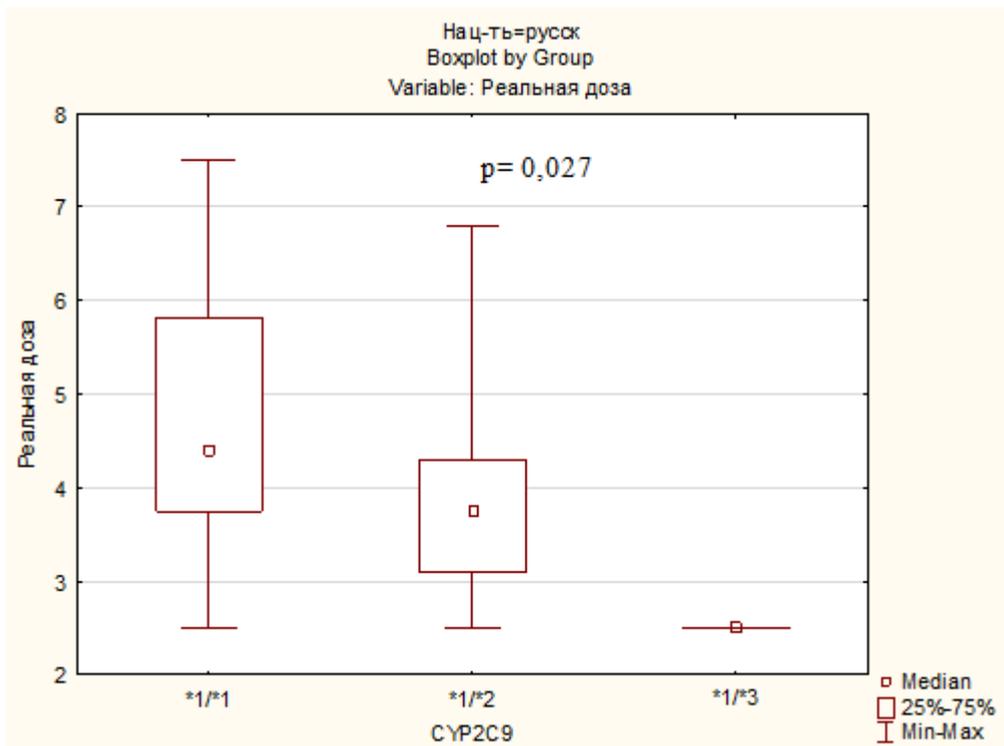


Рисунок 14 – Распределение медианы доз варфарина между генотипами у этнических русских пациентов

Распределение медианы доз варфарина между генотипами CYP2C9 в этнических группах

Генотип	N	Медиана	Минимум	Максимум	Квартиль 25	Квартиль 75
Якуты						
CYP2C9 *1/*1	70	3,13	1,25	9,30	2,50	4,38
CYP2C9 *1/*2	7	3,00	2,50	4,30	2,50	3,50
CYP2C9 *1/*3	7	1,50	1,25	2,50	1,25	2,50
H =10,58774 p =0,005						
Этнические русские						
CYP2C9 *1/*1	72	4,58	2,50	7,50	3,75	6,00
CYP2C9 *1/*2	21	3,75	2,50	6,80	3,10	5,00
CYP2C9 *1/*3	2	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
H=7,248781 p =0,027						

По VKORC1 подобранная доза у якутов различалась: носители аллелей AA (n=50) имели меньшую поддерживающую дозу варфарина 2,68(2.5-3.5)мг./сут. по сравнению с носителями других аллелей: GA(n=30) – 3,13(2,5-5,0) мг./сут.; GG(n=4) - 5,9(2,5-9,3)мг./сут.(p=0,06). (Таблица 29).

Зависимость подобранной дозы от генотипа VKORC1 у якутов с неклапанной фибрилляцией предсердий

Якуты	Кол-во пациентов	Медиана, мг	Квартиль25, мг	Квартиль75, мг
VKORC1 AA	50	2,68	2,5	3,5
VKORC1 GA	30	3,13	2,5	5,0
VKORC1 GG	4	5,9	2,5	9,3
H=5,633489; p=0,06				

По VKORC1 подобранная доза у якутов - носителей аллелей AA (n=50) была меньше - 2,68(2.5-3.5) мг./сут. по сравнению с носителями других аллелей: GA+GG (n=34) – 3,13(2,5-5,0) мг./сут (p=0,02).(Таблица 30).

Зависимость подобранной дозы от генотипов полиморфного маркера AA гена VKORC1 в обследованной выборке якутов

Якуты	Кол-во пациентов	Медиана, мг	Квартиль25, мг	Квартиль75, мг
VKORC1 AA	50	2,68	2,5	3,5
VKORC1 GA+GG	34	3,13	2,5	5,0
Z=-2,3; p=0,02				

В группе пациентов этнических русских по VKORC1 у носители аллелей AA (n=13) подобранная доза достоверно не различалась 3,75(2,5-3,75) мг./сут.;

GA(n=50) – 4,34(3,75-5,0) мг./сут.; GG (n=32) – 4,56(3,75-6,52) мг./сут. (p=0,1).
(Таблица 31).

Таблица 31

Зависимость подобранной дозы от генотипа VKORC1 у этнических русских с неклапанной фибрилляцией предсердий

Этнич. русские	Кол-во пациентов	Медиана, мг	Квартиль25, мг	Квартиль75, мг
VKORC1 AA	13	3,75	2,5	3,75
VKORC1 GA	50	4,34	3,75	5,0
VKORC1 GG	32	4,56	3,75	6,52
H=4,570562; p =0,1				

При объединении GA+ GG статистически значимо подобранная доза варфарина у этнических русских была ниже у носителей аллелей AA (p=0,04).
(Таблица 32).

Таблица 32

Зависимость подобранной дозы от генотипов полиморфного маркера G(1639)A гена VKORC1 в обследованной выборке этнических русских пациентов

Этнич. русские	Кол-во пациентов	Медиана, мг	Квартиль25, мг	Квартиль75, мг
VKORC1 AA	13	3,75	2,5	3,75
VKORC1 GA+ GG	82	4,34	3,75	5,6
Z=-1,99; p=0,04				

Была оценена зависимость дозы бисопролола и метопролола от носительства полиморфных маркеров G1846A и C100T гена CYP2D6. Результаты приведены в таблице 33. Так бисопролол получали 32 пациента, из них 6 были носителями полиморфного маркера G1846A. При сравнении оттитрованной дозы препарата в этих двух группах с помощью U-критерия Манна — Уитни было обнаружено достоверное различие, $p=0,0441$. Выявлено, что у пациентов-носителей полиморфного маркера G1846A доза бисопролола была меньше. ($p=0,0289$). При сравнении оттитрованной дозы препарата в двух группах с помощью U-критерия Манна — Уитни достоверного различия обнаружено не было, $p=0,1566$. Также не было достоверно установлено, что у пациентов-носителей полиморфного маркера C100T доза бисопролола была меньше, чем в контрольной группе, $p=0,2439$. Достоверно значимых различий в дозе препарата у якутов и этнических русских-носителей полиморфных маркеров G1846A и C100T гена CYP2D6 получено не было, $p=0,5758$.

Генотип GG по CYP2D6*4(G1846) ассоциирован с дозой бисопролола более 2,5мг., а генотип GA – с дозой менее 2,5 мг/сут (ОШ=11,25 $p = 0,0289$). Специфичность - 96%, прогностичность положительного результата - 83%. Генотипы СТ и СС по CYP2D6*10(C100T) с дозой не ассоциируются ($p>0,05$, ОШ=3,2). (Таблица 32). Метопролол получали 76 пациентов, из них 16 были носителями полиморфного маркера G1846A. При сравнении оттитрованной дозы препарата в этих двух группах с помощью U-критерия Манна — Уитни достоверного различия обнаружено не было, $p=0,0711$. Также не было достоверно установлено, что у пациентов-носителей полиморфного маркера G1846A доза метопролола была меньше, чем в контрольной группе, $p=0,0715$.

Зависимость дозы бисопролола от носительства полиморфных маркеров G1846A и C100T гена CYP2D6

Полиморфный маркер	$\leq 2,5$ мг/сут	$> 2,5$ мг/сут	Достоверность различий (p)	Отношение шансов	95% Доверительный интервал
CYP2D6*4(G1846)					
GA	5	1	0,0289	11,25	1,124 – 112,6
GG	8	18			
CYP2D6*10(C100T)					
CT	6	4	0,2439	3,214	0,681 – 15,164
CC	7	15			
CYP2D6*4(G1846) +CYP2D6*10(C100T)					
1846GA + 100CT	8	4	0,03	6	1,248 – 28,851
1846GG + 100CC	5	15			

У якутов – носителей аллелей GG(n=22) 50(25,00-50,00)мг./сут. и подобранная доза метопролола статистически значимо не различалась от носителей GA(n=12) 50(37,5-50) мг/сут.(p=1) так же как и у носителей CT (n=14) 50(25,0-50,0)мг/сут. и CC (n=20) 50(25,0-50,0)мг/сут.(p=0,6). Этнические русские различия в подобранных дозах метопролола не показали по генотипам : носители аллелей GG(n=33) 50(50-50) мг/сут. и GA(n=9) 50(50-50) мг/сут. (p=0,3); CT50(25-50) и CC50(37,5-50)мг./сут.(p=0,3). Таблица 34. Достоверно значимых различий в дозе препарата у этнических русских и якутских пациентов - носителей полиморфных маркеров G1846A и C100T гена CYP2D6 получено не было, p = 1,0. (Таблица 35).

Таблица 34

Распределение медианы доз метопролола между генотипами в этнических группах

Генотип	Кол-во пациентов	Медиана, мг/сут	Квартиль25, мг/сут	Квартиль75, мг/сут	p
Якуты					
GG	22	50,0	25,0	50,0	1,00
GA	12	50,0	37,5	50,0	
CT	14	50,0	25,0	50,0	0,60
CC	20	50,0	25,0	100,0	
Этнические русские					
GG	33	50,0	50,0	50,0	0,25
GA	9	50,0	25,0	50,0	
CT	10	50,0	25,0	50,0	0,30
CC	32	50,0	37,5	50,0	

Таблица 35

Различия подобранных доз метопролола между этническими группами в зависимости от генотипа CYP2D6

Национальность	Кол-во пациентов			
	GG	GA	CC	CT
Саха	22 64,71%	12 35,29%	20 87,50%	14 12,50%
Этнические русские	33 78,57%	9 21,43%	32 86,84%	10 13,16%
	$\chi^2=1,8; p=0,18$		$\chi^2=0,006; p=0,94$	

3.3. Оценка возможности использования фармакогенетического тестирования CYP2C9, VKORC1 и CYP2D6 для прогнозирования индивидуального режима дозирования антагонистов витамина К и бета-адреноблокаторов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

Из-за малочисленности пациентов - носителей CYP2C9 *1/*2 (7 пациентов) и CYP2C9 *1/*3 (7 пациентов) были объединены группы с низкими дозами для прогнозирования подобранной малой дозы варфарина. У якутов с генотипом CYP2C9*1/*1 поддерживающую дозу варфарина $\leq 3,0$ мг./сутки получали 57,14% (n=40) пациентов, с генотипом CYP2C9*1/*2 и CYP2C9*1/*3 – 92,86% (n=13); поддерживающую дозу $>3,00$ мг./сутки - CYP2C9*1/*1 – 42,86% (n=30), CYP2C9*1/*2 и CYP2C9*1/*3 – 7,14% (n=1). При этом отношение шансов у якутов (OR) для назначения меньшей дозы составило 9,8 (ДИ 1,2-213,6; PPV93% ;NPV43%, p=0,03). (Таблица 36). У этнических русских пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий зависимость меньшей дозы варфарина от генотипа CYP2C9 *1/*2 и CYP2C9 *1/*3 также статистически значима (p=0,0007; ОШ 8,74; ДИ 2,6-31,3; p=0,0007). (Таблица 37).

Таблица 36

Зависимость поддерживающей дозы от генотипа CYP2C9 у якутов с неклапанной фибрилляцией предсердий

CYP2C9	доза $\leq 3,00$ мг	доза $>3,00$ мг
*1/*2 и *1/*3	n=13	n=1
	92,86%	7,14%
*1/*1	n=40	n=30
	57,14%	42,86%
	ОШ 9,8 (ДИ 1,2-213,6); чувствительность 26%, специфичность 97%; PPV 93%, NPV 43 %; p=0,03	

Результаты проведенного исследования подтверждают зависимость дозы от генотипов. При этом отношение шансов (OR) для назначения меньшей дозы по генотипу CYP2C9 *1/*2 и CYP2C9 *1/*3 у этнических русских составило 8,74 (ДИ 2,6-31,3; PPV 78%; NPV 71%) с чувствительностью 46%, специфичностью 91% ($p=0,0007$). (Таблица 37).

Таблица 37.

Зависимость поддерживающей дозы варфарина от генотипов полиморфных маркеров гена CYP2C9 у этнических русских пациентов

CYP2C9	доза $\leq 4,3$ мг	доза $> 4,3$ мг
*1/*2 и *1/*3	18	5
	78,26%	21,74%
*1/*1	21	51
	29,17%	70,83%
	ОШ 8,74 (ДИ 2,6-31,3); чувствительность 46%, специфичность 91%; PPV 78%, NPV 71%; $p=0,0007$	

Для прогнозирования подобранной дозы варфарина у якутов менее поддерживающей 3,0 мг./сутки в зависимости от VKORC1 были сформированы 2 группы (AA и GA+GG). При объединении в 2 группы у якутов для оценки прогноза назначения поддерживающей доз варфарина по VKORC1: в группе AA получали дозу варфарина $< 3,0$ мг./сутки поддерживающей дозы -76% (n=38), в группе GA+GG - 44,12% (n=15); дозу варфарина $> 3,0$ мг./сутки в группе AA получали 24% (n=12), в группе GA+GG - 55,88% (n=19). При этом, в текущем исследовании, полиморфизм -1639 A/A VKORC1 прогнозирует подобранную дозу 3,0 мг./сутки и менее у якутов, прогностическая ценность положительного результата (PPV) - 76%, прогностическая ценность отрицательного результата (NPV) - 56%; ОШ=4,0; ДИ ДИ 1,4-11,5 ; $p=0,007$ (Таблица 38).

Предикторы меньшей подобранной дозы полиморфного маркера G(1639)A гена VKORC1 в обследованной выборке якутов

VKORC1	Доза	
	<3,0 мг./сутки	>3,0мг./сутки
AA	38 76,0%	12 24,0%
GA+GG	15 44,12%	19 55,88%
ОШ 4,0(ДИ 1,4-11,5) PPV 76%, NPV56%; p=0,007		

Для прогнозирования подобранной дозы 4,3 мг./сутки и менее по VKORC1 были сформированы 2 группы пациентов (AA и GA+GG). В группе пациентов этнических русских с генотипом AA по VKOR получали дозу варфарина 4,3 и менее мг./сутки – 76,92% (n=10), более 4,3 мг./сутки – 23,08(n=3)%. С генотипом GA и GG – 35,37%(n=29) и 64,63% (n=53) соответственно. Установлено, что этнические русские с генотипом AA имели более низкую дозу варфарина, чем с генотипами GA и GG (PPV77% ;NPV65%, ОШ=6,4 ;ДИ 1,4-30,6; p=0,019) (Таблица 39).

Таблица 39

Зависимость средней дозы от генотипов полиморфного маркера G(1639)A гена VKORC1 в обследованной выборке русских пациентов

Средняя доза	≤4.3	>4.3
AA	10 76,92%	3 23,08
	29 35,37%	53 64,63%
ОШ=6,4;ДИ 1,4-30,6; PPV77% ;NPV65%,		

Статистически значимы различия у якутов - носителей CYP2C9 *1/*1, ассоциированных с поддерживающей дозой варфарина более средней ($p=0,0008$) по сравнению с этническими русскими. Статистически значимых различий в носительстве генотипов CYP2C9 *1/*2 и *1/*3, ассоциированных с дозой варфарина менее средней, у якутов и этнических русских пациентов не выявлено ($p=0,48$) (Таблица 40).

Таблица 40

Сравнение этнических различий генотипов CYP2C9 в зависимости от подобранной дозы

Генотипы	CYP2C9 *1/*1		χ^2	p	CYP2C9 *1/*2 и *1/*3		χ^2	p
	якуты	эtn. русские			якуты	эtn. русские		
доза варфарина \leq средней, мг/сут	40	21	11,34	0,0008	13	18	0,5	0,48
	57,1%	29,2%			92,9%	78,3%		
доза варфарина >средней, мг/сут	30	51			1	5		
	42,9%	70,8%			7,1%	21,7%		

Различий в ассоциации в этнических группах якутов и этнических русских, носителей генотипов AA по VKORC1 и GA, GG, влияющих на величину дозы, менее подобранной дозы варфарина, не установлено ($p=0,78$ и $0,38$ соответственно), показано в таблице 41.

Таблица 41

Сравнение этнических различий поддерживающей дозы от генотипов полиморфного маркера G(1639)A гена VKORC1

Генотипы	AA		χ^2	p	GA+GG		χ^2	p
	якуты	эtn. русские			якуты	эtn. русские		

Продолжение Таблицы 41

доза варфарина ≤средней, мг/сут	38	10	0,1	0,78	15	29	0,78	0,38
	76%	76,9%			44,1%	35,4%		
доза варфарина >средней, мг/сут	24	3	0,1	0,78	19	53	0,78	0,38
	54,29%	56,94%			55,9%	64,6%		

В исследовании установлены ассоциации генотипов и дозы бисопролола, генотип GG по CYP2D6*4(G1846), ассоциированный с дозой бисопролола более 2,5мг/сут и генотип GA – с дозой менее 2,5 мг (ОШ=11,25; p = 0,03).; специфичность - 96%, прогностичность положительного результата - 83%. Сочетание генотипов 1846GA и 100СТ ассоциируется с дозой менее 2,5 мг/сут, а сочетание 1846GG + 100СС – с дозой более 2,5 мг/сут (p=0,03, ОШ=6,0), отражено в таблице 25. Прогностичность положительного результата - 76%, отрицательного - 67%.

3.4. Изучение частоты аллелей и генотипов, ассоциированных с чувствительностью к терапии препаратами, применяемыми у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями в этнических группах, проживающих в Республике Саха (Якутия)

3.4.1. Оценка носительства полиморфизмов генов CYP2C9, VKORC1

Количество пациентов национальности саха составило по генотипу CYP2C9*1/*1-70(83,33%), CYP2C9 *1/*2 – 7(8,33%) и CYP2C9 *1/*3 – 7(8,33%). У этнических русских - CYP2C9*1/*1-72(76%), CYP2C9 *1/*2 – 21(22%) и CYP2C9 *1/*3-2 (2%) (рисунок 13). Различия в частоте носительства медленных генотипов CYP2C9 этнических групп якутов и этнических русских выявлены по CYP2C9 *1/*2 33% и 22% и CYP2C9 *1/*3 - 8,33% и 2% соответственно ($\chi^2=9,16$; p=0,01). Согласно выявленной ассоциации генотипов и средних доз по CYP2C9 и

распространенности генотипов в группе якутских пациентов, малые дозы в большей степени встречались у носителей генотипа CYP2C9 *1/*3 и CYP2C9 *1/*2.

Распространенность по генотипу VKORC1 в популяции якутов составила: GA – 30 человек (35,7%), GG – 4 (4,8%), AA -50 (60%).

Статистически значимых отклонений в распределении генотипов по закону Харди-Вайнберга не наблюдалось ($\chi^2=0,03$; $p=0,22$). В группе этнических русских пациентов распространенность GA – 50 человек (52,6%), GG – 32 (33,7%), AA-13 (13,7%) (Харди-Вайнберга $\chi^2=0,88$; $p=0,6$). (Рисунок 14). Выявлено, что носительство генотипа VKORC1 AA-60% в якутской популяции встречалось значительно чаще, чем в русской популяции – 13,7% ($\chi^2=48$; $p<0,000001$), что также указывает на более частое назначение дозы ниже средней в якутской группе.

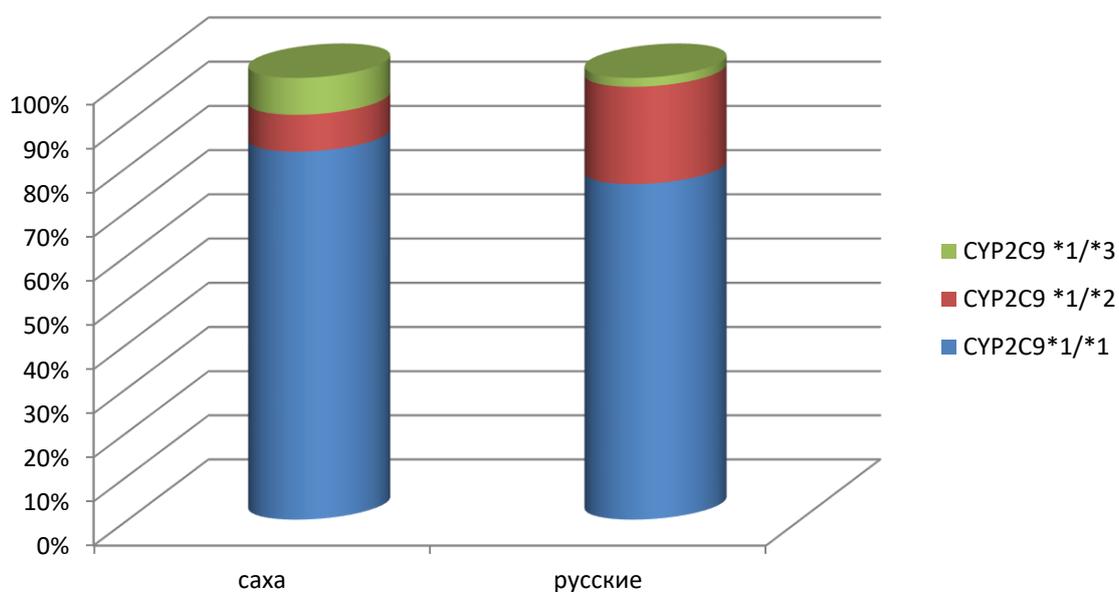


Рисунок 13 – Распространенность генотипов CYP2C9 в исследуемых группах

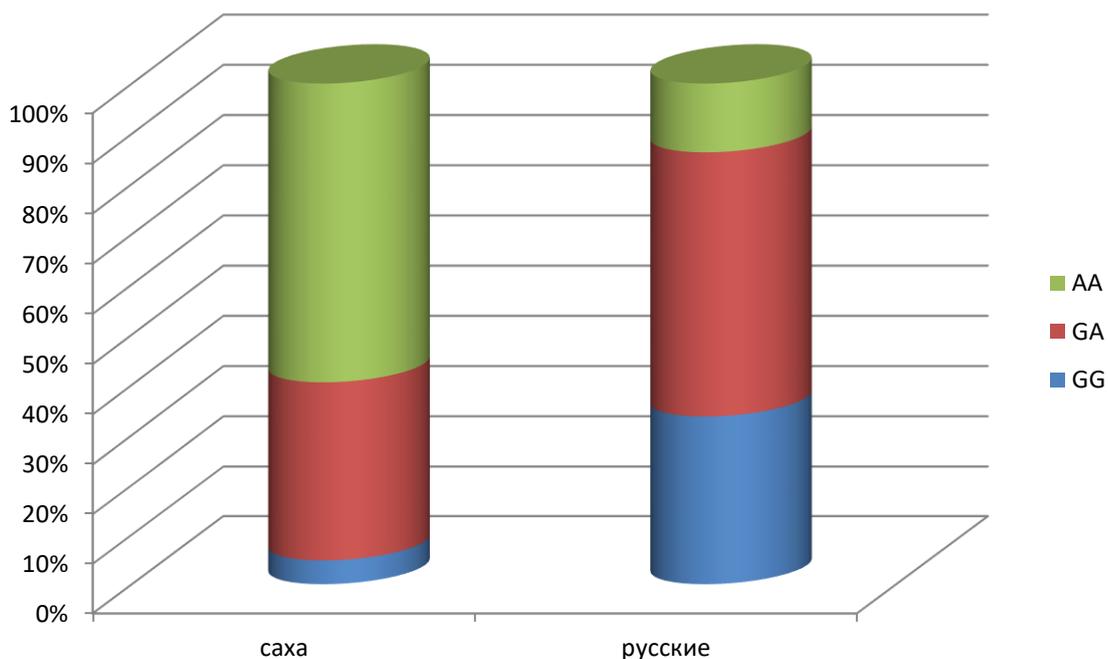


Рисунок 14 – Распространенность генотипов VKORC1 в исследуемых группах

3.4.2. Анализ этнической частоты носительства полиморфизмов генов CYP2D6

В обеих этнических группах соблюдалось равновесие Харди – Вайнберга по распределению аллелей и генотипов в популяции ($p > 0,05$), что свидетельствует о соответствии частоты распределения аллелей и генотипов в изучаемых группах генеральной совокупности и случайности выборки. Основные характеристики популяции и результаты генотипирования представлены в таблице 42.

Таблица 42

Частоты полиморфизмов и аллелей гена CYP2D6 в якутской и русской этнических группах.

Характеристика	Все пациенты с ИБС	Этнич. русские	Якуты	Равновесие Харди-Вайнберга	Достоверность различий (p)
Количество пациентов	201	93	108		
CYP2D6*4(G1846), n, %				($p > 0,05$)	0,339

GG	159(79,0)	73(78,5)	86(79,6)		
GA	10(5,0)	3(3,2)	7(6,5)		
СYP2D6*10(C100T, n, %				(p > 0,05)	
CC	136(67,0)	63(67,7)	73(67,6)		
CT	33(16,4)	13(14,0)	20(18,5)		
СYP2D6*4(G1846A) + СYP2D6*10(C100T), n(%)				(p > 0,05)	0,442
1846GA + 100CT	32(15,9)	17(18,3)	15(13,9)		
Частота аллели, %					
1846A		20(10,8)	22(10,2)		0,871
100T		30(16,1)	35(16,2)		1

При генотипировании пациентов с ИБС русской и якутской этнических групп достоверно значимой разницы в частоте распространенности полиморфных маркеров G1846A (10,8 vs 10,2; p=0,871) и C100T (16,1 vs 16,2; p=1,0) обнаружено не было.

3.4.3. Изучение частот аллелей SLCO1B1 у якутов и этнических русских

В результате генотипирования группы этнических русских по аллельному варианту SLCO1B1*5 у 665 (62%) из 1071 пациента установлен генотип ТТ, у 346 (32%) – генотип ТС и у 60 (6%) – генотип СС. Частота 521Т-аллеля составляла 0,78, 521С-аллеля – 0,22. Статистически значимых отклонений в распределении генотипов от закона Харди–Вайнберга не наблюдалось ($\chi^2=3,1$; p = 0,21).

При генотипировании группы якутов из 76 обследованных у 62 (82%) был обнаружен генотип ТТ, у 11 (14%) – генотип ТС и у 3 (4%) – генотип СС. Частота 521Т-аллеля составляла 0,89, 521С-аллеля – 0,11. (Рисунок 15). Статистически

значимых отклонений в распределении генотипов от закона Харди–Вайнберга не наблюдалось ($\chi^2 = 5,6$; $p = 0,88$).

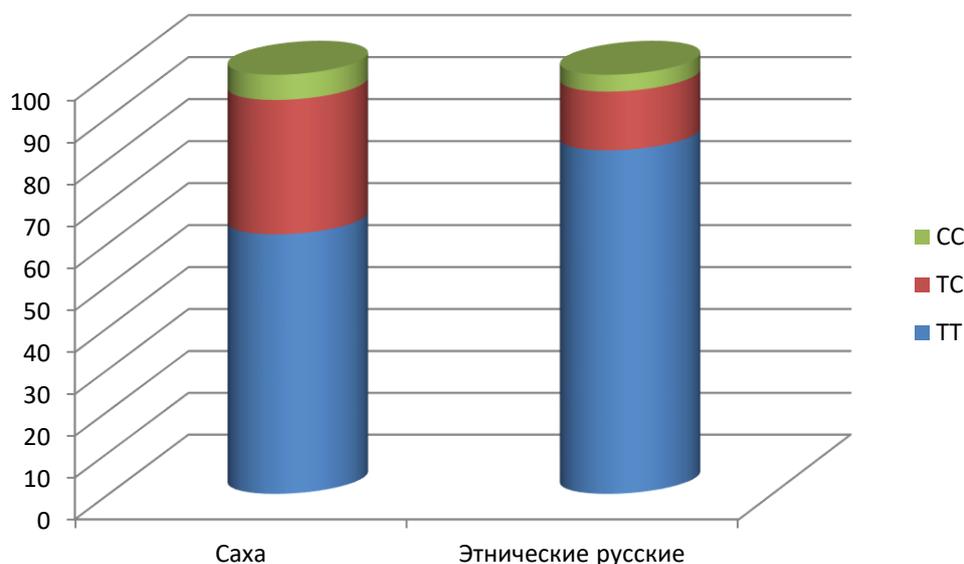


Рисунок 15 – Частота носительства генотипов по SLCO1B1 у якутов и этнических русских

Структура носительства генотипов по SLCO1B1 среди якутов при сравнении с этническими русскими, распространенность Т- и С-аллелей по SLCO1B1 выявила достоверно ($p=0,0028$) более высокую распространенность С-аллеля в русской популяции С-аллель – 0,22 по сравнению с популяцией якутов С-аллель – 0,11 (ОШ=3,4: чувствительность 99%). Встречаемость Т-аллеля выше в якутской популяции ($p=0,013$; ОШ=2,5; специфичность - 97%), прогностичность положительного результата - 96%. При сравнении результатов с данными литературы обнаружена бóльшая частота встречаемости С-аллеля по SLCO1B1 в русской популяции (таблица 43).

Таблица 43

Результаты сравнения распространенности С и Т - аллелей по SLCO1B1 среди пациентов с гиперлипидемиями якутами (саха) и этнических русских в литературе

Национальность	T allele	C allele	Chi-squared	p
Якуты	135 (0,89)	17 (0,11)	-	-

Этнические русские	1676 (0,78)	466 (0,22)	8,9	0,0028
-----------------------	-------------	------------	-----	--------

3.5. Анализ генотипирования по полиморфизму CES1 (rs2244613)

Распределение по генотипам у пациентов якутской национальности оказалось следующим: 98 носителя генотипа GG (33,9 %), 131 - с генотипом GT (45,3 %) и 60 – TT (20,8 %) (Рисунок 16). Распределение генотипов подчиняется закону Харди-Вайнберга ($\chi^2=1,7$; $p=0,56$). В популяции этнических русских из 133 пациентов GT-58 (43,6%), GG- 22 (16,5%), TT-53 (39,9%), соблюдалось соответствие вышеуказанному закону ($\chi^2=0,8$; $p=0,38$). В популяции этнических русских генотип TT встречался чаще, чем у якутов ($\chi^2=22,12$; $p=0,000016$). Распределение с учетом минорного аллеля T: этнические русские: GG-22 (16,54%), GT+TT – 111(83,46%). У якутов - GG - 98 чел. (33,91%); GT+TT – 191 чел. 66,09%). ($\chi^2= 13,5$; $df=1$, $p=0,00024$). Аллель T встречается чаще у этнических русских.

Генотипы CES1 rs2244613

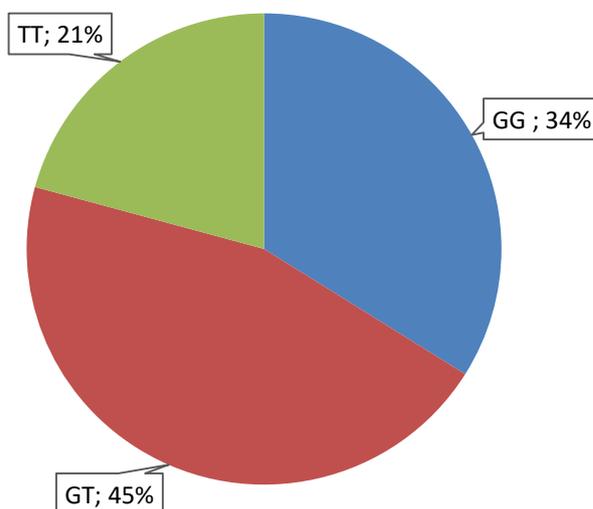


Рисунок 16 – Распределение генотипов CES1 у якутов

Изучение частот аллелей CYP2C19 у якутов и этнических русских.

В обеих этнических группах (русских и якутов) соблюдалось равновесие Харди – Вайнберга по распределению аллелей и генотипов в популяции

(СУР2С19*2: якуты – $\chi^2 = 0,7$, $p=0,08$; этнические русские – $\chi^2 = 5,78$, $p=0,99$; СУР2С9*3: якуты – $\chi^2 = 0,45$; $p = 0,5$; этнические русские - $\chi^2 = 0,19$; $p = 0,66$), что свидетельствует о соответствии частоты распределения аллелей и генотипов в изучаемых группах генеральной совокупности случайности выборки. В результате генотипирования якутов по аллельному варианту СУР2С19*2 из 268 участников исследования у 176 (65,7%) установлен генотип *1/*1; у 90 (33,6%) – генотип *1/*2 и у 2 (0,7%) – генотип *2/*2. Частота аллельного варианта СУР2С19*2 составила 17,53%. При генотипировании якутов по аллельному варианту СУР2С19*3 у 247 (92,2%) был установлен генотип *1/*1, у 21 (7,8%) – генотип *1/*3. Генотип (СУР2С19*3/*3) не обнаружен.

Из 143 этнических русских генотип *1/*1 был выявлен у 120 (83,9%) пациентов, генотип *1/*2 – у 22 (15,4%) и у 1 (0,7%) – генотип *2/*2. Частота аллельного варианта СУР2С19*2 составила 8,39%. При генотипировании по аллельному варианту СУР2С19*3 генотип *1/*1 был выявлен у 133 (93,0%) пациентов, генотип *1/*3 – у 10 (7%). Генотип (СУР2С19*3/*3) обнаружен не был. Частота аллельного варианта СУР2С19*3 составила 3,5% (таблица 44).

Таблица 44

Частоты полиморфизмов гена СУР2С19 в якутских и этнических русских этнических группах.

Генотип	Аллельные варианты	Этническая группа		p-value
		Якуты	Этнические русские	
СУР2С19*2	GG	176 (65,7%)	120 (83,9%)	0,0004
	GA	90 (33,6%)	22 (15,4%)	
	AA	2 (0,7%)	1 (0,7%)	
	*A	17,53%	8,39%	
СУР2С19*3	GG	247 (92,2%)	133 (93,0%)	0,76
	GA	21 (7,8%)	10 (7%)	

Продолжение Таблицы 44

СУР2С19*3	АА	Не обнаружен		0,76
	*А	3,92%	3,5%	

При сравнении распределения частот аллелей СУР2С19*2 у больных с ОКС, частота СУР2С19*2 в группе якутов оказалась выше, по сравнению с этническими русскими 17,53% и 8,39% ($p=0,0004$; ОШ=2,6; чувствительность - 88%). Рисунок 17. При сравнении частоты распределения аллели СУР2С19*3 у якутов и этнических русских с ОКС статистически достоверной разницы в частоте носительства не обнаружено - 3,92% и 3,5% ($p=0,76$). Рисунок 18.

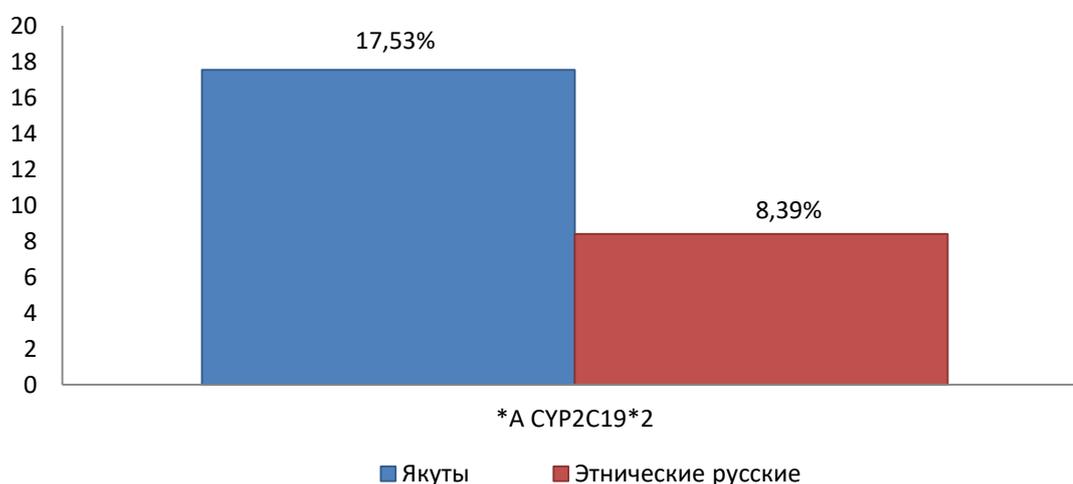


Рисунок 17 – Частота аллели СУР2С19*2 среди русских и якутских пациентов

В последних работах Васильева Ф.Ф., 2016г., исследовавшего здоровых добровольцев, установлено: частота аллели СУР2С19*2 среди якутов – 18,12% vs 17,64% ($p>0,05$) и частота аллели СУР2С19*3 среди якутов – 3,06% vs 3,92% ($p>0,05$) [69]. Исследование Makeeva et al., 2008. подтверждает эти данные. Таблица 45.

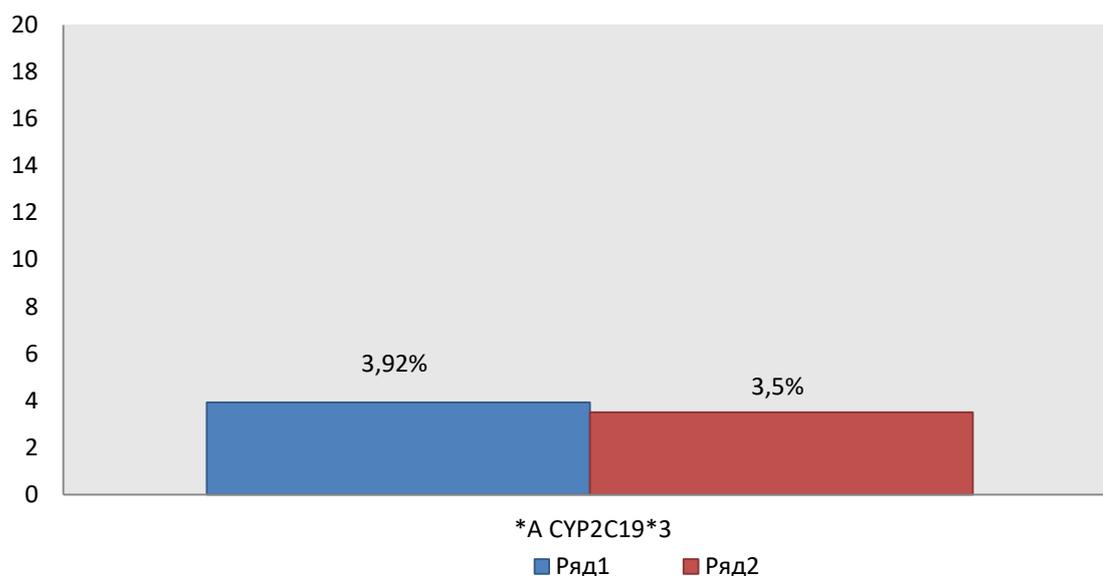


Рисунок 18 – Частота аллели CYP2C19*3 среди русских и якутских пациентов

Таблица 45

Сравнение частот аллелей CYP2C19 у якутов и этнических русских по данным Makeeva et al., 2008 исследований.

Этническая группа	Размер выборки	Частота аллелей CYP2C19, %				Литература
		*2		*3		
Якуты	268	8.39	Различия статистически значимы (p < 0,05)	3,92	Различия статистически не значимы (p > 0,05)	Текущее исследование
Якуты	88 (*2); 87 (*3)	23.30		4,60		Makeeva et al., 2008
Этнические русские	143	17.53	Различия статистически значимы (p < 0,05)	3,50	Различия статистически значимы (p < 0,05)	Текущее исследование
Этнические русские	82(*2); 87(*3)	12.20		0,00		Makeeva et al., 2008

3.6. Особенности внедрения фармакогенетического тестирования для персонализации терапии пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями: отношения врачей и пациентов

Полученные результаты анкетирования врачей показывают, что считают полезным фармакогенетическое тестирование 29 (85%) женщин и 5 (62%) мужчин; 5 (15%) женщин и 3 (38%) затрудняются ответить ($p=0,13$). Врачи организаций, где применяется фармакогенетическое тестирование (ФГТ) - 22 (96%) считают полезным ФГТ, затрудняются ответить – 1 (4%); врачи организаций, где нет ФГТ считают полезным ФГТ- 12 (63%) человека, затруднилось ответить 7 (37%) человек. Обладают достаточными сведениями о ФГТ тестировании 25 женщин – врачей и 6 мужчин; не в полной мере сведениями обладают 7 женщин и 2 мужчин ($p=0,09$). Из них обладают достаточными сведениями о ФГТ врачи, работающие в организации, где используется ФГТ 20 (87%), не в полной мере – 3 (13%); врачи, работающие в организации, где нет ФГТ– 12(63%), не в полной мере – 6 (31%), не обладает 1 врач - (5%) ($p=0,16$). Достоверно всегда назначают лекарственные препараты пациентам с сердечно-сосудистыми заболеваниями согласно результатам ФГТ врачи организации, где применяется ФГТ – 19 (83%), иногда – 4 (17%); в организации, где нет ФГТ на вопрос»«всегда ли назначаете лечение согласно результатам ФГТ», ответили – 4 человека (21%), иногда -10 (53%) врачей, 5 (26%) – никогда не назначают ($p=0,0001$).

Анкетирование пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями прошли 62% женщин и 50% мужчин, по полу и возрасту группы были сопоставимые ($p=0,8$). Насколько полезно было фармакогенетическое тестирование отметили 100 % пациентов. Качеством оказания медицинской помощи полностью удовлетворены – 69% женщин и 100% мужчин; «больше да, чем нет» – 31% женщин. Лица старше 65 лет (64%) удовлетворены полностью, моложе 25 лет, 45-60 лет, 35-45 лет - 100% ($p=0,3$).

3.7. Перспективы использования генотипирования изоферментов цитохрома P-450 для прогнозирования

Использование фармакогенетического тестирования для персонализации дозирования варфарина может способствовать уменьшению сроков подбора его дозы, снижению частоты эпизодов чрезмерной гипокоагуляции - в 3 раза, кровотечений - в 4,5 раза, госпитализаций пациентов по поводу кровотечений и тромботических осложнений - 43% [119]. Выявленные в исследовании у якутов с неклапанной фибрилляцией предсердий различия в дозировании варфарина в зависимости от генотипов CYP2C9, а именно значительно более низкие дозы варфарина в зависимости от генотипа CYP2C9 /1*1 по сравнению с этническими русскими, а также прогнозирование полиморфизма - 1639 A/A VKORC1 более низкой дозы варфарина: прогностическая ценность положительного результата (PPV) - 77%, прогностическая ценность отрицательного результата (NPV) - 65% «дают инструмент» врачу для назначения поддерживающей дозы препарата. Предупреждение кровотечений и тромбозов должно занимать одно из приоритетных мест в ведении пациентов именно с ОКС, так как они являются группой высокого клинического риска. Посильную помощь в стратификации рисков как раз и оказывает определение аллельных вариантов гена CYP2C19.

Изучение распространённости аллельных вариантов CYP2C19 было проведено среди многих народностей, населяющих Российскую Федерацию. Собранные в ходе анализа последних работ данные, могут в будущем быть использованы для создания полноценных карт распространённости важнейших генетических маркёров в каждом отдельно взятом субъекте РФ. Консорциум по внедрению клинической фармакогенетики (CPIC) разработал рекомендации по терапии клопидогрелом у пациентов, чей генетический профиль по CYP2C19 определён [30]. Согласно этим рекомендациям, при отсутствии противопоказаний следует прибегнуть к альтернативной антиагрегантной терапии (прасугрел, тикагрелор) у пациентов со средней активностью фермента (*1/*2, *1/*3), а также у пациентов, являющихся быстрыми метаболиторами (*2/*2, *2/*3, *3/*3).

Основанием к этому служит уменьшение антиагрегантной функции клопидогрела и повышение риска неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. Согласно результатам, именно среди якутов большее число медленных метаболизаторов. При сравнении распределения частот аллелей CYP2C19*2 и CYP2C19*3 у больных с ОКС из этнической группы русских и якутов, частота CYP2C19*2 в группе якутов оказалась выше, по сравнению с пациентами русской этнической - группы 17,53% vs 8,39% ($p=0,0004$). Сравнение частоты распределения аллели CYP2C19*3 у якутов и этнических русских с ОКС статистически достоверной разницы в частоте носительства не обнаружило - (3,92% против 3,5%, $p = 0,76$). Полученные данные сделают возможным разработку рекомендаций по фармакогенетическому тестированию пациентов с ОКС в Республике Саха.

Актуальным остается изучение влияния генетических маркеров SLCO1B1 на развитие статин-индуцированных миопатий у пациентов с гиперлипидемиями в различных популяциях. В соответствии с рекомендациями при выявлении генотипа с.521ТТ назначается доза симвастатина 80 мг/сут; генотипа с.521СТ – 40 мг/сут; генотипа с.521СС – 20 мг/сут [85].

Различие в метаболизме медикаментов в популяции является важным фактором при назначении той или иной безопасной терапевтической дозы препарата. В данном исследовании оценено влияние полиморфизма CYP2C9 и VKORC1 на подбор дозировки варфарина для достижения терапевтического МНО (2,0-3,0) у пациентов Саха. Выбор начальной дозы варфарина в соответствии с результатами фармакогенетического тестирования, его разовая доза может быть рассчитана с помощью on-line-калькулятора [14] или с помощью модуля «Фармакогенетика» программы PharmSuite [15]: рассчитывается индивидуальная начальная доза варфарина, далее доза препарата подбирается по МНО в соответствии с инструкцией по медицинскому применению.

Зависимость дозы бисопролола от носительства полиморфных маркеров G1846A и C100T гена CYP2D6 была установлена. Генотип GG по CYP2D6*4(G1846) ассоциирован с дозой бисопролола более 2,5мг., а генотип GA – с дозой менее 2,5 мг., ОШ=11,25 ($p=0,028$,). Фармакогенетический тест на в-

блокаторы должен быть применен для определения эффективной терапевтической дозы дозы у пациентов, планирующих применение бисопролола.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Развитие резистентности к антиагрегантной терапии может стать причиной фатальных тромботических осложнений у больных с инфарктом миокарда, инсультом, окклюзией периферических артерий; развитие тромботических осложнений у пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий, нежелательных лекарственных реакций на фоне приема статинов, в-блокаторов требует назначение индивидуальных доз препаратов вышеуказанных групп. Неоднократно доказан вклад этнической чувствительности в дозирование лекарственных препаратов.

В настоящем диссертационном исследовании изучалась роль генотипирования в прогнозировании эффективности наиболее часто применяемых лекарственных препаратов: варфарина, в-блокаторов путем сопоставления доз и генотипов в двух этнических группах – якутов и этнических русских, страдающих сердечно-сосудистыми заболеваниями. Для оценки генетического полиморфизма изоферментов цитохрома P-450 применялась полимеразно-цепная реакция в реальном времени по генам CYP2C19, CYP2C9 и VKORC1, SLCO1B1, CYP2D6 и CES1.

В результате выявлена разница подобранной дозы варфарина в различных этнических группах: якутов и этнических русских - поддерживающая доза варфарина была статистически значимо ниже у якутов 3,0мг./сутки ($p < 0,000001$). Выявлена ассоциация генотипов CYP2C9*1/*2 и CYP2C9*1/*3 с малой подобранной дозой варфарина у якутских пациентов ($p=0,02$). У этнических русских пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий зависимость меньшей дозы варфарина от генотипа CYP2C9 *1/*2 и CYP2C9 *1/*3 также статистически значима: 8,74 ДИ 2,6-31,3; PPV 78%; NPV71% ($p=0,0007$). Различия в частоте носительства медленных генотипов CYP2C9 в этнических групп якутов и этнических русских выявлены по CYP2C9 *1/*2 33% и 22% и CYP2C9 *1/*3 - 8,33% и 2% соответственно ($p=0,01$). При этом установлено, что якуты с

генотипом AA имеют более достоверно низкую дозу варфарина, чем с генотипами GA и GG ($p=0,02$); полиморфизм -1639 A/A VKORC1 прогнозирует наличие более низкой дозы варфарина, чем носительство GA и GG: прогностическая ценность положительного результата (PPV) - 76%, прогностическая ценность отрицательного результата (NPV) - 56%. Распространенность по чувствительному генотипу VKORC1 у этнических якутов оказалась значительно более высокой – 60% vs 13.7%. Подобранная доза метопролола у пациентов якутской национальности с сердечно-сосудистыми заболеваниями составила 50мг. ($p<0,05$). Подобранная доза бисопролола у пациентов якутской национальности с сердечно-сосудистыми заболеваниями составила 3,48 мг., и не различалась с группой сравнения ($p=0,57$). Выявление частоты носительства полиморфных маркеров CYP2D6 показало, что частота носительства полиморфных маркеров CYP2D6 на практике оказалась одинаковой (1846A: 10,8% и 10,2%, $p = 0,871$; 100T: 16,1% и 16,2%, $p = 1$).

Сравнение частоты распределения аллели CYP2C19*3 у якутов и этнических русских с ОКС, статистически достоверной разницы в частоте носительства не обнаружило (3,92% против 3,5%, $p = 0,76$). Якуты и этнические русские, имеют различную частоту аллели CYP2C19*2 в тестировании чувствительности к клопидогрелу, что было выявлено в данном исследовании - 17,53% vs 8,39% ($p = 0,0004$). У якутов большее число медленных метаболизаторов обусловлено высокой частотой встречаемости CYP2C19*2.

Распределение по генотипам CES1 у пациентов якутской национальности оказалось следующим: GG (33,9 %), GT (45,3 %) и TT (20,8 %). В популяции этнических русских генотип TT встречался чаще, чем у якутов ($p = 0,000016$). Распределение с учетом минорного аллеля T: 83,46% vs 66,09%, $p = 0,001$. Каждый минорный аллель ассоциируется со снижением остаточной концентрации дабигатрана на 15%, у носителей отмечается снижение риска кровотечений на 27% . Снижение относительного риска кровотечений на 14% в группе низкой дозы против группы высокой дозы дабигатрана этексилата подтверждено в различных исследованиях [68].

Распространенность Т- и С-аллелей по SLCO1B1 в 1-й и 2-й группах выявила достоверно ($p = 0,0028$) более высокую распространенность С-аллеля в русской популяции: С-аллель – 0,22 по сравнению с популяцией якутов (саха), у которых С-аллель – 0,11 (ОШ = 3.4: чувствительность 99%). Встречаемость Т-аллеля была более высокой в якутской популяции ($p = 0,013$; ОШ = 2,5; специфичность - 97%), прогностичность положительного результата - 96%.

Полученные в диссертационном исследовании результаты будут полезны для повышения эффективности и безопасности терапии у пациентов с острым коронарным синдромом, перенесших чрескожное коронарное вмешательство, находящихся в кардиологических, рентгенхирургических, терапевтических отделениях стационаров. Особенности распространенности клинически значимых полиморфизмов генов, кодирующих белки биотрансформации и транспортеров лекарственных средств, выявленные среди различных этнических групп якутов и этнических русских, будут полезны для оптимизации фармакотерапии социально значимых заболеваний в данном регионе и профилактики ятрогенных поражений внутренних органов, связанных с повышенной этнической чувствительностью к лекарственным препаратам. Данные, полученные в клинической и популяционной части исследования, используются при подборе рациональной терапии у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями в республике Саха (Якутия) на базе Центра персонализированной медицины, в Клинике Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования (РМАНПО) Минздрава России, а так же в образовательном процессе кафедры клинической фармакологии и терапии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России и на кафедре факультетской и пропедевтической терапии с эндокринологией и ЛФК Северо-Восточного Федерального Университета (СВФУ).

Перспективы дальнейшего изучения. С учетом теоретической и практической значимости полученных результатов, для более полной оценки роли цитохромов Р-450, необходимо проведение проспективных исследований, в которых будут оцениваться клинические исходы и возможные осложнения проводимой терапии антиагрегантами/ антикоагулянтами/статинами.

ВЫВОДЫ

1. Анализ этнической чувствительности к терапии на примере лечения варфарином показал, что у пациентов якутской национальности с неклапанной фибрилляцией предсердий подобранная доза варфарина была меньше, чем у пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий из русской этнической группы: 3,0 (2,50-3,75) мг/сутки и 4,3 (3,75-5,63) мг/сутки соответственно ($p=0,000001$). Подобранная доза метопролола у пациентов якутов и этнических русских достоверно не различалась 50 (25,0-50,0) мг./сутки ($p=0,95$). Подобранная доза бисопролола у пациентов якутской национальности и этнических русских также не различалась: 2.5(2,5-10) мг./сутки vs 2.5(2.5-10) мг/сутки ($p=0,57$). Варфарин остается одним из наиболее часто назначаемых препаратов из непрямых антикоагулянтов. Его безопасность обеспечивается подбором поддерживающей дозы. Значимое различие подобранной дозы варфарина у якутов и этнических русских требует максимально персонализировать подбор дозы препарата

2. Выявлены различия в величине поддерживающей дозы варфарина у якутов в зависимости от полиморфизма гена CYP2C9: при CYP2C9*1/*1 -3,13(2,5-4,38) мг/сутки, CYP2C9*1/*2 – 3,00 мг/сутки, CYP2C9*1/*3 – 1,5 мг/сутки ($p=0,005$). Аналогично у этнических русских доза варфарина ниже подобранной ассоциируется с генотипами CYP2C9 *1/*2 - 3,75мг/сутки и CYP2C9*1/*3 – 2,5 мг/сутки ($p=0,0005$). Установлено, что якуты с полиморфизмом - 1639 A/A гена VKORC1 получали подобранную дозу варфарина статистически значимо ниже по сравнению с генотипами GA и GG: 2,68 мг/сутки vs 3,13 ($p=0,02$). У этнических русских также выявлена ассоциация A/A VKORC1 с более низкой подобранной дозой варфарина: 3,75 мг/сут vs 4,34мг/сутки ($p=0,04$). Это подтверждает значимость генетического тестирования в обосновании дозы препаратов

3. Подобранные дозы метопролола у пациентов якутов и русских не различались в зависимости от носительства аллельных вариантов G1846A ($p=0,6$ и $p=0,3$; соответственно) и C100T ($p=0,6$ и $p=0,3$; соответственно) гена CYP2D6; Выявлено что генотип GA по CYP2D6*4(G1846) ассоциирован у пациентов якутов и этнических русских с более низкой подобранной дозой бисопролола \leq

2,5 мг/сутки ($p=0,028$). Полиморфизм CYP2D6*10 (C100T) не ассоциирован с величиной подобранной дозы бисопролола у пациентов якутов и этнических русских ($p>0,05$);

4. Выявление носительства генотипов CYP2C9*1/*2 и *1/*3 со специфичностью 97% прогнозирует выход на более низкую подобранную дозу варфарина (менее 3,13 мг/сутки) у якутов ($p=0,03$). Выявлены различия у якутов - носителей CYP2C9 *1/*1, ассоциированных с поддерживающей дозой варфарина ниже установленной поддерживающей дозы ($p=0,0008$) по сравнению с этническими русскими. Выявление генотипа A/A VKORC1 прогнозирует выход на более низкую подобранную дозу варфарина (менее 2,68 мг/сутки) у пациентов якутов ($p=0,007$). Различий в ассоциации у якутов и этнических русских генотипов AA по VKORC1 и GA, GG с дозой варфарина, ниже подобранной не установлено ($p=0,78$ и $0,38$ соответственно).

5. Носительство генотипа GA по CYP2D6*4 (G1846) со специфичностью 96% прогнозирует выход на дозы бисопролола 2.5 мг/сутки и ниже в обеих этнических группах;

6. Частота носительства аллелей у якутов и русских CYP2C9 с пониженной функциональной активностью различалась: по CYP2C9*1/*2 – 33% vs 22% соответственно; по CYP2C9*1/*3 – 8,33% vs 2% соответственно ($p=0,01$). Таким образом, учитывая большое количество пациентов с генотипами пониженной функциональной активности CYP2C9 у якутов целесообразно внесение в протоколы фармакотерапии пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий в республике фармакогенетического тестирования.

7. Доказано, что генотип AA по VKORC1 более распространен у якутов 60% vs 13,7% ($p < 0,000001$), чем у этнических русских. Выявление чувствительного генотипа VKORC1 является перспективным подходом к оптимизации применения варфарина у якутов с неклапанной фибрилляцией предсердий.

8. Частота носительства полиморфных маркеров CYP2D6, у якутов и этнических русских оказалась одинаковой 1846A: 10,8% vs 10,2% ($p = 0,87$); 100T: 16,1% vs 16,2% ($p = 1,0$).

9. Якуты и этнические русские имеют различную частоту аллели CYP2C19*2 в тестировании чувствительности к клопидогрелу (17,53% vs 8,39%, $p=0,0004$); среди якутов выявлено большее число медленных метаболизаторов.

10. Выявлено наличие патологического, ассоциированного с риском развития статин-индуцированной миопатии, с.521С аллеля по SLCO1B1 в якутской и русской популяциях пациентов с гиперлипидемией (частота С аллеля 11% vs 22% соответственно). Показано, что встречаемость С аллеля по SLCO1B1 в якутской популяции пациентов с гиперлипидемиями достоверно меньше, чем в русской ($p=0,0028$);

11. Установлено, что при распределении генотипов CES1 в популяции русских генотип ТТ встречается чаще, чем у якутов ($p=0,00016$). Распределение с учетом минорного аллеля Т, ответственного за повышенный риск кровотечений при назначении дабигатрана, составляет 83,46% vs 66,09%, $p=0,00024$.

12. Внедрение персонализированного подхода к терапии пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями с помощью фармакогенетического тестирования положительно влияет на комплаентность взаимодействия врача и пациента, положительно оценивается, как с точки зрения врачей, так и пациентов. На основании фармакогенетического теста лечение назначают врачи медицинских организаций, где такое тестирование проводится – в 83% случаев, в отличие от врачей медицинских организаций, не проводящих тестирование - 21% ($p=0,0001$).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

С учетом распространенности полиморфизмов генов CYP2C9, VKORC1, CYP2C19, CYP2D6, SLCO1B1, CES1 у коренного (якуты) и некоренного (русские) населения рекомендуется внедрять фармакогенетическое тестирование для персонализации применения лекарственных препаратов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями в Республике Саха (Якутия);

Для персонализации применения варфарина, бисопролола и метопролола рекомендуется использовать фармакогенетическое тестирование, особенно у пациентов с высоким риском развития нежелательных реакций при их применении;

Локальные протоколы лечения пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями в Республике Саха (Якутия) должны разрабатываться с учетом результатов этнических фармакогенетических исследований.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АСК – ацетилсалициловая кислота

АВК – антагонисты витамина К

АНД – антикоагулянты непрямого действия

СПИС – Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (Консорциум по внедрению фармакогенетики в клиническую практику)

СYP – цитохром P-450

ESC – European Society of Cardiology (Европейское общество кардиологов)

NPV - Negative Predictive Value (отрицательная прогностическая ценность)

PPV – Positive Predictive Value (положительная прогностическая ценность)

ВНОК – Всероссийское Научное Общество Кардиологов

ВОЗ – Всемирная Организация Здравоохранения

ДАТ – двойная антиагрегантная терапия

ДИ – доверительный интервал

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ИМ – инфаркт миокарда

ИМпST – инфаркт миокарда с подъемом ST

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

ЛС – лекарственный препарат

МНО – международной нормальное отношение

НЛР – нежелательные лекарственные реакции

ОКС – острый коронарный синдром

ОШ – отношение шансов

ПЦР – полимеразно-цепная реакция

СОР – снижение относительного риска

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ТГ – триглицериды

ТГВ – тромбоз глубоких вен

ТИА – транзиторная ишемическая атака

ТЛТ – тромболитическая терапия

ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ЧКВ – чрескожные коронарные вмешательства

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Генетические особенности цитохрома P450. Метаболизм лекарств [Электронный ресурс]. – 2021. – Режим доступа: https://meduniver.com/Medical/genetika/citoxrom_p450_i_metabolizm_lekarstv.html.
2. Всемирная организация здравоохранения. 10 ведущих причин смерти в мире [Электронный ресурс]. – 2020. – Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.
3. Клинические рекомендации: Острый инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST электрокардиограммы/Российское кардиологическое общество при участии: Ассоциации сердечно-сосудистых хирургов России // Российский кардиологический журнал. – 2020. – №25. – С.251-310.
4. Сборник статистических материалов по болезням системы кровообращения. Статистический справочник//ФГБУ "ЦНИИОИЗ" Минздрава Российской Федерации. – М., 2020. – 305 с.
5. Таиров Т.Г. Осложнение антикоагулянтной терапии [Электронный ресурс] / Т.Г. Таиров // Дерматология в России – национальный сервер дерматологии. – 2020. – Режим доступа: <http://www.dermatology.ru/case/oslozhnenie-antikoagulyantnoi-terapii>.
6. Полтавская М. Г. Преимущества комбинации клопидогрела и аспирина у больных с высоким сердечно-сосудистым риском / М.Г. Полтавская, Д.Ф. Меситская, А.И. Новикова и др. // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2019. – № 12. – С. 504-509.
7. Редакционная коллегия. Е.И. Чазов и его роль в становлении эпидемиологии сердечно-сосудистых заболеваний // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2019. – Т.15, № 2. – С.144-148.
8. Скрипка А.И. Безопасность применения дабигатрана у пациентов с фибрилляцией предсердий и хронической болезнью почек:

- фармакокинетические и фармакогенетические аспекты / А.И. Скрипка П.О. Бочков, К.А. Акмалова и др. // Медицинский совет. – 2019. – № 21. – С.65–73.
9. Абдулаев Ш.П. Сравнительная клинико-экономическая оценка применения фармакогенетического тестирования для персонализации тестирования дабигатрана у пациентов с фибрилляцией предсердий / Ш.П. Абдуллаев, К.Б. Мирзаев, Д.А. Сычев // Терапевтический архив. – 2019. – № 8. – С.22-26.
 10. Рекомендации ESC по лечению пациентов с фибрилляцией предсердий, разработанные совместно с EACTS / под ред. Лебедева Д.С. // Российский кардиологический журнал. – 2017. – № 7. – С.7-86.
 11. Мельник А.А. Фармакогенетическое тестирование для персонализации дозирования варфарином // Украинский кардиологический журнал. – 2017. – № 5. – С.99-100.
 12. Кропачева Е.С. Практические вопросы антикоагулянтов. Безопасность длительной терапии варфарином: частота кровотечений и клинические предикторы их развития / Е.С. Кропачева, О.А. Землянская, Е.П. Панченко и др. // Специализированный медицинский журнал Атеротромбоз. – 2017. – № 1. – С.145-162.
 13. Эрлих А.Д. Лечение и исходы острого коронарного синдрома, сочетающегося с фибрилляцией предсердий у пациентов в “неинвазивном” стационаре / А.Д. Эрлих, К.Г. Ткаченко, Н.А. Грацианский // Российский кардиологический журнал. – 2017. – С.89–94.
 14. Калькулятор доз варфарина [Электронный ресурс]. – Вашингтонский университет в Сент-Луисе, 2016. – Режим доступа: <http://www.warfarindosing.org>
 15. Автоматизированное рабочее место клинического фармаколога – “Pharmsuite” [Электронный ресурс]. – 2016. – Режим доступа: <http://pharmsuite.ru>.
 16. Романова Н.В. Место метопролола в лечении сердечно-сосудистых заболеваний / Н.В. Романова, И.В. Жиров // Медицинский совет. – 2016. – № 4. – С.16-19.

17. Гаврисюк Е.В. Опыт использования фармакогенетического тестирования для персонализации дозирования варфарина в поликлинических условиях // Е.В. Гаврисюк, Д.А. Сычев, З. Р.Е. Казаков и др. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2015. – № 1. – С.60-62
18. Кропачева Е.С. Быстрые темпы насыщения варфарином – предиктор развития чрезмерной гипокоагуляции. Модернизация алгоритма подбора дозы варфарина / Е.С. Кропачева, Н.Н. Боровков, Т.В. Вавилова и др. // Атеротромбоз. – 2015. – № 1. – С.74-86.
19. Кукес В.Г. Проблемы клинической фармакогенетики на современном этапе / Кукес В.Г., Сычев Д.А., Гасанов П.А. // Клиническая медицина. – 2015. – №2. – С.58-63.
20. Мирзаев К.Б. Генетические основы резистентности к клопидогрелю: современное состояние проблемы / К.Б. Мирзаев, Д.А. Сычев, Д.А. Андреев // Российский кардиологический журнал. – 2015. – С.92-98
21. Мищенко Л.Н. Рандомизированное сравнение двух подходов к дозированию варфарина в условиях кардиологического стационара / Л. Н. Мищенко, О. В. Аверков, И. Г. Гордеев и др. // Клиника и фармакотерапия. – 2015. – № 8. – С.111-122.
22. Шапошник И.И. Трудности применения в-блокаторов при хронической сердечной недостаточности: пути преодоления. // Русский медицинский журнал. – 2015. – № 27. – С. 1617-1621.
23. Международное общество по изучению атеросклероза. Меморандум Международного общества по изучению атеросклероза: Общие рекомендации по лечению дислипидемии. – 2014. – с. 1–67. Режим доступа: <http://scardio.ru/content/Guidelines/IAS/PositionPaperRussianlanguage.pdf>.
24. Мирзаев К.Б. Этнические особенности в Российской Федерации полиморфизма ген CYP2C19, ассоциированного с нарушением ответа на клопидогрел / К.Б. Мирзаев, Д.А. Сычев, Д.А. Андреев // Молекулярная медицина. – 2014. – № 1. – С.13-21.

25. Сычев Д.А. Применении варфарина: первый метаанализ отечественных проспективных исследований / Д.А. Сычев, Д.В. Иващенко, И.В. Русин // Терапевтический архив. – 2014. – № 4. – С.64-71.
26. Явелов И.С. Профилактика кардиоэмболических осложнений у больных с фибрилляцией предсердий: что надо знать о применении дабигатрана // Трудный пациент. – 2014. – Т.12, № 4. – С.5-11.
27. Диагностика и лечение фибрилляций предсердий: рекомендации РКО, ВНОА и АССХ / ред. совет: И.С. Явелов – Москва, 2013. – 84 с.
28. Кудзоева З.Ф. Улучшение прогноза при стабильной ибс в свете результатов исследования ischemia trial: опыт российских центров и перспективы продолжения исследования / З.Ф. Кудзоева, Л.А. Бокерия, О.Л. Бокерия // Тезисы докл. XVII Ежегодной сессии научного центра сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н. Бакулева. – Москва, 2013 – С.111.
29. Сычев Д.А. Клиническая фармакология. Общие вопросы клинической фармакологии. Практикум. Учебное пособие / Д.А. Сычев, Л.С. Долженкова, В.К. Прозорова // - М., ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 220 с.
30. Моисеев С.В. Когда и как применять дабигатран при фибрилляции предсердий // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2012. – Т.8, № 6. – С.819-825.
31. Сычев Д.А. Фармакогенетическое тестирование по CYP2D6 и CYP2C19: значение для персонализации применения лекарственных средств в клинической практике / Д.А. Сычев, Н.А. Миронова // Лаборатория. – 2012. – №4. – с.11-13.
32. Баталов Р.Е. Антикоагулянтная терапия для фибрилляции предсердий/ Р.Е. Баталов, И.В. Антонченко, С.В. Попов // РМЖ. – 2011. – № 14. – С.905.
33. Задионченко В.С. Место Варфарина в лечении и профилактике тромбоэмболий/ В.С. Задионченко, Г.Г. Шехян, А.М. Щикота и др. // РМЖ. – 2011. – № 26. – С.1648-1657.

34. Сычев Д.А. Рекомендации по применению фармакогенетического тестирования в клинической практике // Качественная Клиническая Практика. – 2011. – № 1. – С.3-10.
35. Кулешова Э.В. Что обеспечивает клиническую эффективность метопролола // Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии. – 2010. – Т 6, №3. – С.370-375.
36. Сычев Д.А. Персонализированная антикоагулянтная терапия на основе фармакогенетического тестирования // - СПб, 2010. – 82 с.
37. Оганов Р.Г. Национальные клинические рекомендации. Сборник / Р.Г. Оганов, М.Н. Мамедов, Ю.В. Родионова // Под. ред. Р.Г. Оганова. — 2-е издание. — М.: Изд-во "Силиция-Полиграф", 2009. — 528 с.
38. Кукес В.Г., Грачев С.В., Сычев Д.А., Раменская Г.В. Метаболизм лекарственных средств: научные основы персонализированной медицины // - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 304 с.
39. Емельянов Н.В. Полиморфный маркер G3673A гена VKORC1 — новый генетический фактор, ассоциированный с развитием геморрагических осложнений при применении непрямых антикоагулянтов / Н.В. Емельянов, Е.С. Кропачева, Д.А. Сычев и др. // Клиническая фармакология и фармакоэкономика. – 2008. – № 1. – С.29–33.
40. Зотова И.В. Влияние полиморфизма генов CYP2C9 и VKORC1 на безопасность терапии варфарином / И.В. Зотова, А.Г. Никитин, Э.Н. Фаттахова и др. // Клиническая практика. – 2013. – № 4. – С.3-10.
41. Шнайдер Н.А. Фармакогенетика антиэпилептических препаратов / Н.А. Шнайдер, Д.В. Дмитренко, М.С. Пилюгина // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. – № 4. – С.111-119.
42. Сычев Д.А. Клиническая фармакогенетика / Д.А. Сычев, Г.В. Раменская, И.В. Игнатъев., Кукес В.Г./ Под Ред. В.Г. Кукеса, Бочкова Н.П. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 248 с.

43. Кукес В.Г. Клиническая фармакогенетика и практическое здравоохранение: перспективы интеграции / В.Г. Кукес, Д.Л. Сычев, И.В. Игнатъев // Биомедицина. – 2006. – Т. 1, №5. – С.2-15.
44. Сычев Д.А. Значение фармакогенетических исследований системы биотрансформации и транспортеров для оптимизации фармакотерапии сердечно-сосудистыми заболеваниями: дисс. д.м.н.: 14.00.25 / Сычев Дмитрий Алексеевич – М., 2006. – 269 с.
45. Сычев Д.А. Фармакогенетика непрямых антикоагулянтов: значение генотипа в повышении эффективности и безопасности терапии / Д.А. Сычев, Е.С. Кропачева, И.В. Игнатъев // Кардиология – 2006. – № 7.– С.72–78.
46. Панченко Е.П. Практические аспекты терапии варфарином / Е.П. Панченко, Е.С. Кропачева // Российский медицинский журнал. – 2005. – Т.13, № 19. – с. 1246-1250
47. Сычев Д.А. Влияние генетического полиморфизма в гене цитохрома P450 2D6 на фармакокинетику, фармакодинамику и клиническую эффективность β 1-адреноблокатора метопролола у больных хронической сердечной недостаточностью / Д.А. Сычев и др. // Медицинская генетика. – 2005. – Т.4., № 2 – С.76–81.
48. Сайт Росстата РФ [Электронный ресурс]. – 1999. – Режим доступа: <https://rosstat.gov.ru/incomparisons>
49. Кириенко А.И. Хроническая венозная недостаточность с точки зрения врача общей практики / Кириенко А.И., Богачев В.Ю., Золотухин И.А. // Российский медицинский журнал. – 1998.
50. Meloche M. CYP2D6 polymorphism and its impact on the clinical response to metoprolol: A systematic review and meta-analysis/ M. Meloche, M. Khazaka, I. Kassem et al. // British Journal of Clinical Pharmacology. – 2020. – Т.86, № 6. – С.1015-1033
51. Mukdad S.AI. Economic evaluations of CYP2C19 genotype-guided antiplatelet therapy compared to the universal use of antiplatelets in patients with acute

- coronary syndrome: a systematic review / S. Al. Mukdad, H. Elewa, D. Al-Badriyeh // *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. – 2020. – T. 25, № 3. – C.201-211.
52. Jiang Y. Economic Evaluation of the 2016 Chinese Guideline and Alternative Risk Thresholds of Initiating Statin Therapy for the Management of Atherosclerotic Cardiovascular Disease / Y. Jiang, W. Ni // *Pharmacoeconomics*. – 2019. – T. 37, № 7. – C.943-945.
53. Pereira N.L. Clopidogrel Pharmacogenetics—state-of-the-art review and the TAILOR-PCI study / N. L. Pereira, C. S. Rihal, D. So et al. // *Circ Cardiovasc Interv.* – 2019. –T. 12, № 4. – C.1-11.
54. Poulussen F.C.P. The effect of the CYP2D6 genotype on the maintenance dose of metoprolol in a chronic Dutch patient population. / F.C.P. Poulussen, B.J. Peters, K H. Hua et al. // *Pharmacogenet Genomics*. – 2019. – T. 29, № 7. – C.179-182
55. Shepherd J.B. Remembering // *Am J Geriatry Psychiatry*. – 2019. – № 2. – C.210.
56. Strandberg T.E. Role of Statin Therapy in Primary Prevention of Cardiovascular Disease in Elderly Patients / *Curr Atheroscler Rep*. – 2019. – T. 21, №8. – C.28.
57. Turner R.M. Statin-Related Myotoxicity: A Comprehensive Review of Pharmacokinetic, Pharmacogenomic and Muscle Components / R.M. Turner, M. Pirmohamed // *J Clin Med*. – 2019. – T. 9, №1. –22 c.
58. Zhao W. The Benefits and Risks of Statin Therapy in Ischemic Stroke: A Review of the Literature / W. Zhao, Z.-J. Xiao, S.-P. Zhao. // *Neurol India*. – 2019. T. 67, № 4. – C.983-992
59. Piřha J. Statin therapy in elderly patients / J. Piřha, E. Topinková, V. Bláha et al. // *Vnitr Lek*. – 2018. – T. 64, № 11. – C.1021-1027.
60. Sirwi A. Lipid transfer proteins in the assembly of apoB-containing lipoproteins / A. Sirwi, M. Hussain. // *Journal of Lipid Research*. – 2018. – T.59., №7. – C.1094-1102.
61. Bellosta S. Statin drug interactions and related adverse reactions: an update / S. Bellosta, A. Corsini // *Expert Opin Drug Saf*. – 2017. – C.25-27.

62. Bossard M. MSc Double-Dose Versus Standard-Dose Clopidogrel According to Smoking Status Among Patients With Acute Coronary Syndromes Undergoing Percutaneous Coronary Intervention / M. Bossard 1 2, C. B. Granger, J.-F. Tanguay et. Al // J Am Heart Assoc. – 2017. – T. 6, № 11. – C.1-12.
63. Cuisset T. Benefit of switching dual antiplatelet therapy after acute coronary syndrome: the TOPIC (timing of platelet inhibition after acute coronary syndrome) randomized study / T. Cuisset, P. Deharo, J. Quilici et al. // European Heart Journal. – 2017. – № 38. – C.3070-3078
64. Gage B.F. Effect of Genotype-Guided Warfarin Dosing on Clinical Events and Anticoagulation Control Among Patients Undergoing Hip or Knee Arthroplasty: The GIFT Randomized Clinical Trial / B.F. Gage, A.R. Bass, H. Lin // GAMA. – 2017. – T. 318, № 12. – C.1115-1124.
65. Gosling R. Comparison of P2Y12 inhibitors for mortality and stent thrombosis in patients with acute coronary syndromes: Single center study of 10 793 consecutive ‘real-world’ patients / R. Gosling, M. Yazdani, Y. Parviz et al. // Taylor & Francis. – 2017. – T.28, № 37. – C.767-773.
66. Sibbing D. Guided de-escalation of antiplatelet treatment in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention (TROPICAL-ACS): a randomised, open-label, multicentre trial / D. Sibbing, D. Aradi, C. Jacobshagen et al. // Lancet. – 2017. – C.1747–1757.
67. Kirchhof P. 2016 ESC Guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS / P. Kirchhof, S. Benussi, D. Kotecha et al. // European Heart Journal. – 2016. – T. 37. – C.2893–2962.
68. Neville F. The Metabolism of Clopidogrel: CYP2C19 Is a Minor Pathway // Clin Pharmacol. – 2016. –T. 56, № 12. – C.1474-1483.
69. Vasilyev F.F. Frequency distribution of polymorphisms of CYP2C19, CYP2C9, VKORC1 and SLCO1B1 genes in the Yakut population / F.F. Vasilyev, D.A. Danilova, V.S. Kaimonov et al. // Res Pharm Sci. – 2016. – T.11, № 3. – C.259-264.

70. Canestaro W.J. Genetic factors affecting statin concentrations and subsequent myopathy: HuGENet systematic review/ W.J. Canestaro, M.A. Austin, K.E. Thummel // *Genet Med.* – 2014. – T.16, № 11. – C.810-819.
71. Flaker G. Efficacy and safety of dabigatran compared to warfarin in patients with atrial fibrillation: a RE-LY (Randomized Evaluation of Long-term Anticoagulation Therapy) trial analysis / G. Flaker, M. Ezekowitz., S. Yusuf et al. // *Circulation.* – 2014. – T.129, № 9. – C.961-970.
72. Jugrin A.V. The cost-effectiveness of dabigatran etexilate compared with warfarin in the treatment and secondary prevention of acute venous thromboembolism in the UK / A.V. Jugrin, A.V. Ustyugova, M. Urbich et al. // *Value in health.* – 2014. – T.17, № 7. – A323–A686.
73. Larsen T.B. Myocardial Ischemic Events in ‘Real World’ Patients with Atrial Fibrillation Treated with Dabigatran or Warfarin / T.B. Larsen, L.H. Rasmussen, A. Gorst-Rasmussen et al. // *Am J Med.* – 2014. – T. 127, № 4. – C.329–336.
74. Pourdeyhimi N. Warfarin - induced skin necrosis / N. Pourdeyhimi, Z. Bullard // *Hosp Pharm.* – 2014. – T. 49, № 11. – C.1044-1048.
75. Carr D.F. SLCO1B1 Genetic Variant Associated With Statin-Induced Myopathy: A Proof-of-Concept Study Using the Clinical Practice Research Datalink/ D.F. Carr, H. O’Meara, A.L. Jorgensen et al. // *Clinical Pharmacology Therapeutics.* – 2013. – T. 94, № 6. – C.695–701.
76. Dans A.L. Concomitant use of antiplatelet therapy with dabigatran or warfarin in the Randomized Evaluation of Long-Term Anticoagulation Therapy (RE-LY)/ A.L. Dans, S.J. Connolly, L. Wallentin et al. // *Circulation.* – 2013. – T. 127, №5. – C.634-640.
77. Heidbuchel H. European Heart Rhythm Association Practical Guide on the use of new oral anticoagulants in patients with non-valvular atrial fibrillation / H. Heidbuchel, P. Verhamme, M. Alings et al. // *Europace.* – 2013. – № 15. – C.625-651.

78. Heidbuchel H. Practical guide dabigatran. Guidance for use in particular situations / H. Heidbuchel, V. Thijs, P. Verhamme et al. – 2013.
79. Mancia G. ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension / G. Mancia, R. Fagard, K. Narkiewicz, J. Redon // *European Heart Journal*. – 2013. – № 34. – С.2159-2219.
80. European Medicines Agency. European Medicines Agency updates patient and prescriber information for Pradaxa [press release] [Электронный ресурс]. – 2012. Режим доступа: <https://www.ema.europa.eu/en/news/european-medicines-agency-updates-patient-prescriber-information-pradaxa>
81. Jneid H. 2012 ACCF/AHA focused update of the guideline for the management of patients with unstable angina. Non-ST-elevation myocardial infarction (updating the 2007 guideline and replacing the 2011 focused update): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on practice guidelines / H. Jneid, J.L. Anderson, R.S. Wright et al. // *Circulation*. – 2012. – Т. 126, № 7. – С.875-910.
82. Mega J.L. Dosing clopidogrel based on CYP2C19 genotype and the effect on platelet reactivity in patients with stable cardiovascular disease / J.L. Mega, W. Hochholzer, A.L. Frelinger 3rd [et al.] // *JAMA*. – 2011. – Т. 306, № 20. – С.2221-2228.
83. Oldgren J. Dabigatran vs. placebo in patients with acute coronary syndromes on dual antiplatelet therapy: a randomized, double-blind, phase II trial / J. Oldgren, A. Budaj, C.B. Granger et al. // *Eur Heart J*. – 2011. – Т. 32. – С.2781-2789.
84. Sørensen R. Dabigatran use in Danish atrial fibrillation patients in 2011: a nationwide study / R. Sørensen, G. Gislason, C. Torp-Pedersen et al. // *BMJ Open*. – 2013. – Т.3, № 5. – С.1-9.
85. Becquemont L. Practical recommendations for pharmacogenomics-based prescription: 2010 ESF-UB Conference on Pharmacogenetics and Pharmacogenomics / L. Becquemont, A. Alfirevic, U. Amstutz et al. // *Pharmacogenomics*. – 2011. – Т. 12, №1. – С.113-124.

86. Berger P.B. Bleeding complications with dual antiplatelet therapy among patients with stable vascular disease or risk factors for vascular disease: results from the Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management, and Avoidance (CHARISMA). / P.B. Berger, D.L. Bhatt, V. Fuster et al. // *Epub.* – 2010. – T. 121, № 23. – C.2575–2583.
87. Camm A.J. ESC Committee for Practice Guidelines. Guidelines for the management of atrial fibrillation: the Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC)/ A.J. Camm, P. Kirchhof, G.Y. Lip et al // *Europace.* – 2010. – T. 12, № 10. – C.1360-1420.
88. Connolly S.J. Newly Identified Events in the RE-LY Trial / S.J. Connolly, M.D. Ezekowitz, S. Yusuf, et al. // *N Engl J Med.* – 2010. – T 363, № 19. – C.1875–1876.
89. CTT Collaboration. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials // *Lancet.* – 2010. – T. 376. – C.1670-1681.
90. Gurbel P.A. Response to ticagrelor in clopidogrel non-responders and responders and effect of switching therapies: the RESPOND study / P.A. Gurbel, K.P. Bliden, K. Butler et al. // *Circulation.* – 2010. – T. 121. – № 1188–1199.
91. Owen R.P. VKORC1 Pharmacogenomics summary / R. P. Owen, L. Gong, H. Sagreiya et al. // *Pharmacogenet Genomics.* – 2010. – T. 20, № 10. – C.642-44
92. Roskell N. Treatments for stroke prevention in atrial fibrillation: A network metaanalyses and indirect comparisons versus dabigatran etexilate / N. Roskell, G. Lip, H. Noack et al. // *Thromb Haemost.* – 2010. – T. 104, №6. – C.1106-1115.
93. Yang G.P. Lack of effect of genetic polymorphisms of SLCO1B1 on the lipid-lowering response to pitavastatin in Chinese patients / G.P. Yang, H. Yuan, B. Tang et al. // *Acta Pharmacol Sin.* – 2010. – T. 31, № 3. – C.382–386.
94. Mega J.L. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel / J.L. Mega, S.L. Close, S.D. Wiviott et al. // *N Engl J Med.* – 2009. – T. 360, № 4. – C.354-362

95. Bijl M.J. Genetic variation in the CYP2D6 gene is associated with a lower heart rate and blood pressure in beta-blocker users / M.J. Bijl, L.E. Visser, J.A. Kors et al. // *Clin Pharmacol Ther.* – 2009. – T. 85, № 1. – C.45-50
96. Zhou S-F. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance/ S.F. Zhou // *Clin Pharmacokinet.* – 2009. – T. 48, № 11)+. – C.689-723
97. Arnold M.L. Pharmacogenetic testing for guiding de novo phenprocoumon therapy in stroke patients. / M.L. Arnold, C. Grond-Ginsbach, M. Kloss et al.// *Cerebrovasc Dis.* 2009. – T. 28, № 5. – C.468-71
98. Collet J. Cyto-chrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study / J. Collet, J. Hulot, A. Pena et al. // *Lancet.* – 2009. – T. 373. – C.309–317.
99. Conen D. Epidemiology of atrium fibrillation / D. Conen, S. Osswald, C. Albert // *Swiss Medical Weekly.* – 2009. – T. 39, № 16. – C.346–352.
100. Giusti B. Relation of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism to occurrence of drug-eluting coronary stent thrombosis / Giusti B., Gori A.M., R. Marcucci et al. // *Am J Cardiol* 2009. – T. 103, №6. – C.806-811.
101. Mega J. Cytochrome P450 genetic polymorphisms and the response to pra-sugrel: relationship to pharmacokinetic, pharmacodynamic, and clinical outcomes / J. Mega, S.L. Close, S.D. Wiviott et al. // *Circulation.* – 2009. – T. 119, № 19. – C.2553-2560.
102. Bonello L. Adjusted clopidogrel loading doses according to vasodila-tor-stimulated phosphoprotein phosphorylation index decrease rate of major adverse cardiovascular events in patients with clopidogrel resistance: a multicenter randomized prospective study / L. Bonello, L. Camoin-Jau, L. Arques et al. // *J Am Coll Cardiol.* – 2008. – T. 51, № 14. – C.1404-1411.
103. Faergeman O., Sosef F., Duffield E. Efficacy and tolerability of rosuvastatin and atorvastatin when force-titrated in high-risk patients: Results from the ECLIPSE Study / O. Faergeman, F. Sosef, E. Duffield // *Atheroscler Suppl.* – 2008. – T.111, № 4. – C.219-228.

104. Hermosillo A.J. Aspirin, clopidogrel, and warfarin: is the combination appropriate and effective or inappropriate and too dangerous? / A.J. Hermosillo, S.A. Spinler // *Ann Pharmacother.* – 2008. – T. 42, №6. – C.790–805.
105. Prescription Drug Sales Up Just 4 Percent In 2007 – IMS Health Report // *The Pink Sheet Daily.* – 2008.
106. Van de Werf F. Management of acute myocardial infarction in patients presenting with persistent ST-segment elevation: the Task Force on the Management of ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction of the European Society of Cardiology / F. Van de Werf, J. Bax, A. Betriu et al. // *Eur Heart J.* – 2008. – T. 29, № 23. – C.2909–2945.
107. Anderson J.L. ACC/AHA 2007 guidelines for the management of patients with unstable angina/non-ST-Elevation myocardial infarction: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Revise the 2002 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction) developed in collaboration with the American College of Emergency Physicians, the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and the Society of Thoracic Surgeons endorsed by the American Association of Cardiovascular and Pulmonary Rehabilitation and the Society for Academic Emergency Medicine./ J.L. Anderson, C.D. Adams, E.M. Antman et al. // *Journal of the American College of Cardiology.* – 2007. – T. 50, № 7. – C.1-157.
108. Hohnloser S. Incidence of stroke in paroxysmal versus sustained atrial fibrillation in patients taking oral anticoagulation or combined antiplatelet therapy: an ACTIVE W Substudy / S. Hohnloser, D. Pajitnev, J. Pogue et al. // *J Am Coll Cardiol.* – 2007. – T. 50, № 22. – C.2156–2161.
109. Leiter L.A. Efficiency and safety of rosuvastatin 40 mg versus atorvastatin 80 mg in high-risk patients with hypercholesterolaemia: early results of the POLARIS study / L.A. Leiter, M. Palmer, D. Kallend // *Atherosclerosis.* – 2007. – T. 194, № 2. – C.154-164.

110. Sewright K.A. Statin myopathy: incidence, risk factors, and pathophysiology / K.A. Sewright, P.M. Clarkson, P.D. Thompson // *Curr Atheroscler Rep.* – 2007. – № 9. – C.389–396.
111. Wadelius M. Pharmacogenetics of warfarin: current status and future challenges / M. Wadelius, M. Pirmohamed // *Pharmacogenomics J.* – 2007. – T.7, №2. – C.99-111.
112. Aquilante C.L. Influence of coagulation factor, vitamin K epoxide reductase complex subunit 1, and cytochrome P450 2C9 gene polymorphisms on warfarin dose requirements / C.L. Aquilante, T.Y. Langae, L.M. Lopez et al. // *Clin Pharmacol Ther.* – 2006. – T. 79, № 4. – C.291-302.
113. Ballantyne C.M. Achieving LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, and apolipoprotein B target levels in high-risk patients: Measuring Effective Reductions in Cholesterol Using Rosuvastatin therapy (MERCURY) II. / C.M. Ballantyne, M. Bertolami, H.R. Hernandez Garcia et al. // *American Heart Journal.* – 2006. – T. 151, №5. – C.1-9.
114. Bays H. Statin safety: an overview and assessment of the data – 2005 // *American Journal of Cardiology.* – 2006. – T. 97 № 8A. – C.6–26.
115. Binbrek A.S. TR Rosuvastatin versus atorvastatin in achieving lipid goals in patients at high risk for cardiovascular disease in clinical practice: a randomized, open-label, parallel-group, multicenter study (DISCOVERY Alpha Study) / A.S. Binbrek, A. Elis, M. Al-Zaibag et al. // *Curr Ther Res Clin Exp.* – 2006. – T. 67, № 1. – C.21–43.
116. Hulot J.S. Cytochrome P450 2C19 loss-of function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects / J.S. Hulot, A. Bura, M. Azizi et al. // *Blood.* – 2006. – T. 108, № 7. – C.2244-2247.
117. Pitt B. Acute coronary syndromes do not lower lipid levels / B. Pitt, J. Loscalzo, J. Ycas et al. // *J Am Coll Cardiol.* – 2006. – T. 47. – 323 c.
118. Chen Z.M. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial / Z.M. Chen, L.X. Jiang, Y.P. Chen // *Lancet.* – 2005. – T. 366. – C.1607-1621.

119. Fellström B. Effect of rosuvastatin on outcomes in chronic haemodialysis patients – design and rationale of the AURORA study / B. Fellström, F. Zannad, R. Schmieder, et al. and the AURORA Study Group // *Curr Control Trials Cardiovasc Med.* – 2005. – T. 6, № 1. – C.6-9.
120. Geisen C. VKORC1 haplotypes and their impact on the inter- and individual and inter-ethnic variability of oral anticoagulation / C. Geisen, M. Watzka, K. Sittinger et al. // *Thromb Haemost.* – 2005. – T. 94, № 4. – C.773- 779.
121. Herman D. Influence of CYP2C9 polymorphisms, demographic factors and concomitant drug therapy on warfarin metabolism and maintenance dose. / D. Herman, I. Locatelli, I. Grabnar et al. // *Pharmacogenomics.* – 2005. – T. 5, № 3. – C.193-202.
122. Kjeldsen S. A statin in the treatment of heart failure? Controlled rosuvastatin multinational study in heart failure (CORONA): study design and baseline characteristics / J. Kjeldsen, P. Dusselmann, M. Blomstrom et al. // *European Heart Journal.* – 2005. – T. 7, № 6. – C.1059-1069.
123. Nissen S.E. Statin Therapy, LDL Cholesterol, C-Reactive Protein, and Coronary Artery Disease / S.E. Nissen, E. Tuzcu, P. Schoenhagen et al. // *N Engl J Med.* – 2005. – T. 352, № 1. – C.29-38.
124. Ridker P.M. C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy / P.M. Ridker, C.P. Cannon, D. Morrow et al. // *N Engl J Med.* – 2005. – T. 352, № 1. – C.20-28.
125. Sabatine M.S. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation / M.S. Sabatine, C.P. Cannon, C.M. Gibson et al // *N Engl J Med.* – 2005. – T. 352, № 12. – C.1179-89
126. Sirotkina O.V. Clinical value of allelic variants of cytochrome CYP2C9 gene for anticoagulation therapy with warfarin / O.V. Sirotkina, A.S. Ulitina, A.E. Taraskina et al. // *Kardiologiya.* – 2005. – T. 45, № 4. – C.61-63
127. Fux R. Rationale and methods of the UNAMET study (dose- and CYP2D6-genotype-dependent adverse drug reactions of metoprolol) – a contribution to quality improvement in

- pharmacotherapy. / R. Fux, C. Meisner, M. Shwab et al. // *Z Arztl Fortbild Qualitatssich.* – 2004. – T. 98, № 8. – C.689–694
128. Isaacs D. Clopidogrel – haemorrhage and haematological disorder / D. Isaacs, C. Lander, J. McNeil et al. // *The Australian Adverse Drug Reactions.* – 2004. –T. 23, № 4. – C.14-15.
129. Mukherjee D. Impact of combination evidence-based medical therapy on mortality on patients with acute coronary syndromes / D. Mukherjee, J. Fang, S. Chetcuti et al. / *Circulation.* – 2004. – T. 109, № 6. – C.745-749.
130. Waters D.D. Treating to New Targets (TNT) study: does lowering low-density lipoprotein cholesterol levels below currently recommended guidelines yield incremental clinical benefit? Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease / D.D. Waters, J.R. Guyton, D.M. Herrington et al. // *Am J Cardiol.* – 2004. – T. 93, № 2. – C.154–158.
131. Willich S.N. Economic evaluation of a compliance-enhancing intervention in patients with hypercholesterolemia: design and baseline results of the Open Label Primary Care Study: Rosuvastatin Based Compliance Initiatives To Achievements of LDL Goals (ORBITAL) study / S.N. Willich, J. Miller-Nordhorn, F. Sonntag et al. // *Am Heart J.* – 2004. – T. 148, № 6. – 1060-1067.
132. Evans W. Pharmacogenomics drug disposition, drug targets, and side effects / W. Evans, H. McLeod // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – T. 348, № 6. – C.538–549.
133. Evans W.E. Pharmacogenomics: marshalling the human genome to individualise drug therapy // *Gut.* – 2003. – T. 52. – C.10-18.
134. Jones P.H. Comparison of the efficacy and safety of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin across doses / P.H. Jones, M.H. Davidson, E.A. Stein et al. // *American Journal Cardiology.* – 2003. – T. 92, № 2. – C.152-160.
135. Schuster H. Effects of switching to rosuvastatin from atorvastatin or other statins on achievement of international low-density lipoprotein cholesterol goals: MERCURY I trial. Effects of switching statins on achievement of lipid goals: Measuring Effective Reductions in Cholesterol Using Rosuvastatin therapy

- (MERCURY I) study / H. Schuster, P.J. Barter, S. Stender et al. // *J Am Coll Cardiol.* – 2003. – T. 147, № 4. – C.705-713.
136. Taguchi M. Effect of CYP2D6*10 on pharmacokinetic variability of routinely administered metoprolol in middle-aged and elderly Japanese patients / M. Taguchi, T. Nozawa, T. Kameyama et al. // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* – 2003. – T.59 №5-6. – C.385-388.
137. Yusuf S. Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events Trial Investigators. Early and late effects of clopidogrel in patients with acute coronary syndromes / S. Yusuf, S.R. Mehta, F. Zhao et al.// *N Engl J Med.* – 2003. –T. 107, № 7. – C.966-972.
138. Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial. Major Outcomes in Moderately Hypercholesterolemic, Hypertensive Patients Randomized to Pravastatin vs Usual Care: The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT-LLT) / ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group *JAMA.* – 2002. – T. 288, № 23. – C.2998-3007.
139. Wuttke H., Rau T., Heide R. et al. Increased frequency of cytochrome P450 2D6 polymetabolizers among patients with meto-prolol-associated adverse effects. // *ClinPharmacol Ther.* – 2002. – T. 72, № 4. – 429-437.
140. Byington R.P The Prospective Pravastatin Pooling (PPP) Project / R.P. Byington, B.R. Davis, J.F. Plehn et al. // *Circulation.* – 2001. – T. 103, № 3. – C.387-92.
141. Mhairi Copland “Oral Anticoagulation and Hemorrhagic Complications in an Elderly Population With Atrial Fibrillation”/ Walker I.D., Campbell R. // *ArchInter Med.* – 2001. – T. 161, №17. – C.2125-2128.
142. Priori S.G. Task Force on Sudden Cardiac Death of the European Society of Cardiology. / S.G. Priori, E. Aliot, C. Blomstrom-Lundqvist et al. // *Eur Heart J.* – 2001. – T. 22, № 16. – C.1374–1450.
143. Bhatt D.L. Reduction in the need for hospitalization for recurrent ischemic events and bleeding with clopidogrel instead of aspirin. CAPRIE investigators / D.L.

- Bhatt, A.T. Hirsch, P.A. Ringleb et al. // *Am Heart J.* – 2000. – Т. 140, № 1. – С.67–73.
144. Hart R. Stroke with intermittent atrial fibrillation: incidence and predictors during aspirin therapy. Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators / R. Hart, L. Pearce, R. Rothbart et al. // *J Am Coll Cardiol.* – 2000. – Т.35, № 1. – С.183–187.
145. Murray C. Global mortality, disability and the contribution of risk factors: global burden of disease study / C. Murray, A. Lopez // *Lancet.* – 1997. – Т. 349. – С.1436–1442.
146. Savonitto S. Combination therapy with metoprolol and nifedipine versus monotherapy in patients with stable angina pectoris. Results of the International Multicenter Angina Exercise (IMAGE) Study / S. Savonitto, D. Ardissiono, K. Egstrup et al. // *J Am Coll Cardiol.* – 1996. – Т. 27, № 2. – С.311-316.
147. Pollare T. Effects of antihypertensive treatment on insulin sensitivity with special reference to ACE inhibitors / Pollare T., Lithell H. // *Diabetes Care.* – 1991. – Т. 14. – С.39–47.
148. Hjalmarson A. The Göteborg metoprolol trial. Effects on mortality and morbidity in acute myocardial infarction / A. Hjalmarson, J. Herlitz, S. Holmberg et al. // *Circulation.* – 1983. – Т.67, № 6, ч.2. – С.126-132.

БЛАГОДАРНОСТИ:

Моему научному руководителю, д.м.н., профессору, академику РАН Сычеву Дмитрию Алексеевичу, за внимательное отношение и внедрение фармакогенетического тестирования в Республике Саха (Якутия), по данным которого написано диссертационное исследование. Научному консультанту, д.м.н. Мирзаеву Карину Бадавиевичу за помощь в организации написания работы, а также всему научному коллективу по изучению фармакогенетики: д.м.н. профессору М.И. Савельевой, Е.Ю. Маловой, Г.Н. Шуеву, Д.С.Федоринову, к.м.н. Абдулаеву Ш. М. за помощь в проведении исследований, коллективу Центра персонализированной медицины за проведение генотипирования, главному врачу Луцкану И.П.