

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

На правах рукописи

Сошина Мария Михайловна

**ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕРАПИИ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ
ГЛАУКОМЫ: ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД**

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

3.1.5.- Офтальмология

3.3.6 - Фармакология, клиническая фармакология

Научный руководитель:
Мошетова Лариса Константиновна,
доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

Научный руководитель:
Сычев Дмитрий Алексеевич
доктор медицинских наук, профессор,
академик РАН

Москва 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1. Патогенетические аспекты и факторы риска развития первичной открытоугольной глаукомы.....	16
1.2. Механизм действия и фармакологические эффекты бета-адреноблокаторов.....	17
1.3. Фармакокинетика и фармакодинамика тимолола малеата	20
1.4. Фармакогенетические особенности метаболизма ЛС. Персонализированный подход в практике врача-офтальмолога.....	24
1.5. Характеристика изофермента цитохрома P-450 2D6 и ассоциация его активности с полиморфизмом CYP2D6.....	28
1.6. Влияние активности цитохрома P450 2D6 на профиль эффективности и безопасности тимолола малеата.....	35
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.....	41
3.1. Клиническая характеристика обследованных больных	41
3.2. Методы обследования пациентов	48
2.2.1. Сбор данных анамнеза и клинико- диагностических данных.....	48
2.2.2. Стандартные методы офтальмологического обследования	48
2.2.3. Специальные офтальмологические методы обследования	49
2.2.4. Инструментальные методы обследования.....	49
2.2.5. Определение полиморфизмов <i>1846G>A</i> (<i>rs3892097</i>) и <i>100C>T</i> (<i>rs1065852</i>) гена <i>CYP2D6</i>	49
2.2.6. Фенотипирование CYP2D6. Определение концентрации 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-бета- карболина и пинолина в моче у обследованных больных.....	51
2.2.6.1. Подготовка проб	51
2.2.6.2. Хроматографическое исследование проб.....	52
2.2.7. Статистическая обработка результатов исследования	53
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.	55
3.1. Изучение частоты распределения генотипов по полиморфным вариантам гена <i>CYP2D6</i> (<i>1846G>A</i>) и (<i>100C>T</i>) у пациентов с ПОУГ, применяющих препараты, содержащие 0,5 % тимолола малеат.....	55
3.2. Изучение ассоциации между эффективностью и безопасностью терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и полиморфизмами <i>1846G>A</i> и <i>100C>T</i> гена <i>CYP2D6</i>	56
3.2.1. Оценка ассоциации между показателями ВГД и полиморфизмами <i>1846G>A</i> и <i>100C>T</i> гена <i>CYP2D6</i> при динамическом наблюдении у пациентов, инстиллирующих препараты содержащие 0,5% неселективные бета-адреноблокаторы в течение 6 месяцев.....	59
3.2.2. Изучение взаимосвязи между показателями тонографии С (коэффициента легкости оттока) и F (минутный объем внутриглазной жидкости) и полиморфизмами <i>1846G>A</i> и <i>100C>T</i> гена <i>CYP2D6</i> при динамическом наблюдении у пациентов, применяющих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат в течение 6 месяцев.....	63
3.2.3. Оценка ассоциации между индексами MD и PSD и полиморфизмами <i>1846G>A</i> и <i>100C>T</i> гена <i>CYP2D6</i> при динамическом наблюдении у пациентов, применяющих препараты, содержащие 0,5% неселективные бета-адреноблокаторы в течение 6 месяцев.....	64
3.2.4. Оценка ассоциации между полиморфизмами <i>1846G>A</i> и <i>100C>T</i> гена <i>CYP2D6</i> и ЧСС при динамическом наблюдении у пациентов с глаукомой, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат в течение 6 месяцев.....	68
3.2.5. Оценка ассоциации между полиморфизмами <i>1846G>A</i> и <i>100C>T</i> гена <i>CYP2D6</i> и интервалом PQ при динамическом наблюдении у пациентов с глаукомой, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат в течение 6 месяцев.....	70

3.2.6. Ассоциация между полиморфизмами 1846G>A и 100C>T гена CYP2D6 и АД (систолического и диастолического), при динамическом наблюдении у пациентов с глаукомой, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат в течение 6 месяцев.	72
3.3. Изучение взаимосвязи между параметрами эффективности и безопасности при применении лекарственных препаратов, содержащих тимолола малеат, у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и активностью CYP2D6	86
3.4. Оценка влияния полиморфизмов 1846G>A и 100C>T гена CYP2D6 на активность CYP2D6 у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой	89
3.4.1. Оценка влияния полиморфизма гена CYP2D6 (1846G>A) на активность CYP2D6 у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой	89
3.4.2. Оценка влияния полиморфизма гена CYP2D6 (100C>T) на активность CYP2D6 у пациентов, страдающих первичной открытоугольной глаукомой	90
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	93
ВЫВОДЫ	100
ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ	102
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	103
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	104

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность диссертационного исследования.

За последние годы в нашей стране глаукома стала занимать лидирующее место среди причин инвалидности вследствие офтальмопатологии. По данным Министерства здравоохранения Российской Федерации, в 2017 г. было выявлено 1 330 597 больных глаукомой, из них свыше 70 000 слепых, за последние пять лет отмечается рост первичного выхода на инвалидность вследствие глаукомы с 22,1 до 28,8% [32,52,56]. Что касается показателей общей первичной заболеваемости глаукомой, то он составляет 78,2 (55,8–105,3) случая на 100 тысяч населения [54]. По данным Всемирной организации здравоохранения, число глаукомных больных в мире колеблется от 60,5 до 105 млн человек, при этом прогнозируется увеличение числа заболевших еще на 10 млн в течение ближайших 10 лет [49].

Повышенный уровень внутриглазного давления (ВГД) является единственным модифицируемым фактором риска развития и прогрессирования глаукомы [4]. В настоящее время для лечения глаукомы используются пять основных классов лекарств: бета-блокаторы, аналоги простагландинов F_{2a}, ингибиторы карбоангидразы альфа-агонисты, и м-холиномиметики. Чаще всего их назначают учитывая сопутствующие заболевания, эффективность, стоимость и побочные эффекты [29,102]. Таким образом, подбор антиглаукоматозного препарата может занимать длительное время, что приводит к прогрессированию заболевания. На сегодняшний день препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат, являются одними из наиболее широко исполь для лечения глаукомы. Они включены в перечень стандартов специализированной медицинской помощи при лечении первичной открытоугольной глаукомы [Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 29 декабря 2012 г. № 1700н]. При фармакоэкономическом анализе одного из субъектов Российской Федерации, было выявлено, что по частоте назначений преобладали неселективные β-адреноблокаторы (тимолол – 56,2%) [26]. Кроме того, необходимо отметить, что именно неселективные бета-

адреноблокаторы входят в состав большинства комбинированных антиглаукомных препаратов.

Бета-адреноблокаторы, используемые в офтальмологической практике, включают неселективные - тимолола малеат, и β_1 - селективные препараты - бетаксолол. Неселективные бета-адреноблокаторы являются более эффективными, в сравнении с β_1 - селективными препаратами [55]. Блокируя β_1 - и β_2 - адренорецепторы цилиарного тела, препараты снижают уровень ВГД за счет уменьшения продукции внутриглазной жидкости [80]. Применение препаратов, содержащих тимолола малеат может сопровождаться рядом нежелательных лекарственных реакций (брадикардия, бронхоспазм, АВ-блокада, депрессия и др.) [10]. Кроме того, для тимолола малеата, как неселективного бета-адреноблокатора, есть обширный перечень абсолютных противопоказаний: бронхиальная астма, декомпенсированная ХСН, атриовентрикулярная блокада II-III степеней (после инфаркта миокарда), выраженная синусовая брадикардия (ЧСС менее 55), синкопальные состояния неясного генеза. В связи с этим, тимолол вызывает неоднозначное и нередко негативное отношение у врачей и пациентов, что значительно ограничивает его применение в офтальмологической практике.

Однако эффективность и безопасность препаратов содержащих тимолола малеат среди пациентов широко варьируется, что может проявляться уровнем снижения внутриглазного давления и возникновением НЛР. Данные события могут быть объяснены генетической неоднородностью пациентов [10]. В настоящее время стало очевидным, что генетические особенности пациентов могут определять до 50% всех атипичных фармакологических ответов: неэффективность лекарственных средств (ЛС) или нежелательные лекарственные реакции [24]. Эти генетические особенности обусловлены наличием полиморфных участков генов белков, участвующих в фармакокинетике или фармакодинамике ЛС, называемые полиморфными маркерами или аллельными вариантами [5,124]. Фармакогенетические исследования, направленные на их изучение, могут способствовать

индивидуализации выбора режима дозирования ЛС, что лежит в основе так называемой персонализированной медицины. Она представляет собой подход к оказанию медицинской помощи на основе индивидуальных характеристик пациента, для чего они должны быть распределены на подгруппы в зависимости от предрасположенности к болезням и ответу на то или иное вмешательство (профилактическое или лечебное) [47].

Частота возникновения и степень проявления нежелательных лекарственных реакций в значительной степени зависит от концентрации тимолола в плазме крови.

Тимолола малеат поступает в системный кровоток, минуя эффект первого прохождения через печень. Биодоступность при инстилляции в конъюнктивальную полость можно сравнить с его внутривенным введением [85]. Тимолола малеат относится к липофильным β -адреноблокаторам, что главным образом и определяет его биотрансформацию. После абсорбции в системный кровоток, тимолол на 90 % подвергается биотрансформации путем окисления изоферментом CYP2D6 и на 10 % изоферментом CYP2C19, которые локализируются в печени [121]. Период полувыведения тимолола малеата составляет около четырех часов и почти 20% от пероральной дозы препарата выводится в неизменном виде почками [66,70].

Изучение фармакогенетики антиглаукомных препаратов, в частности тимолола малеата, и внедрение фармакогенетического тестирования позволит офтальмологам подобрать рациональное, безопасное и эффективное лечение в короткие сроки. Это позволит существенно улучшить качество оказываемой помощи.

Степень разработанности проблемы

Фармакологические маркеры эффективности и безопасности местных неселективных бета-блокаторов достаточно активно изучаются в настоящее время. Проблема подбора медикаментозной терапии глаукомы изучалась во многих офтальмологических научных исследованиях (Егоров Е.А., Нестеров А.П., Алексеев И.Б., Антонов А.А., Филлимонова Е.Э., Sayoko E Moroi, и др.). Кроме того,

проводились исследования фармакогенетики местных и системных бета-адреноблокаторов (Сычев Д.А., 2006, Wuttke H. 2002, Wagenvoort A.M., 1998, Yung Y. 2009, Nieminen 2005 и др.).

Гены *CYP2D6*, кодирующие одноименные изоферменты цитохрома P450, неоднократно становились объектом изучения в аспекте фармакогенетики β-адреноблокаторов.

Наиболее часто встречаются публикации, посвященные изучению фармакокинетики метопролола-специфического субстрата изофермента *CYP2D6*- с целью установления влияния генотипа на фенотип, т.е. активность изофермента [44,62,71,126,135]. В упомянутых работах рассмотрены эффекты полиморфных вариантов генотипов на межиндивидуальные различия скорости метаболизма *CYP2D6*. Кроме того, были рассмотрены клинические эффекты метопролола в зависимости от генотипов *CYP2D6*. В мета-анализе Zhou S.F. (2009) было установлено, что фенотип существенно влияет на фармакокинетику метопролола [132]. Это в конечном счёте отражается на клинической картине, вызывая метопролол-индуцированную брадикардию и снижение АД диастолического у пациентов носителей *CYP2D6**4/*4. Кроме того, у носителей дупликаций гена *CYP2D6* при применении бета-адреноблокатора метопролола отмечаются более низкие по сравнению с носителями дикого генотипа (генотип *CYP2D6**1/*1) значения концентрации в плазме крови, а следовательно, и низкая антигипертензивная и антиангинальная эффективность у пациентов [41,132].

Что касается фармакогенетических исследований местных бета-адреноблокаторов, Yang Y. и соавт. в своём исследовании изучили ассоциацию между полиморфизмом *rs16947* гена *CYP2D6* и эффективностью (снижение ВГД) и безопасностью тимолола. Этими учеными было доказано, что люди с генотипом *CC* по аллелю гена *CYP2D6*, которые являются «быстрыми» метаболиторами, имели достоверно более низкую вероятность развития тимолол-индуцированной брадикардии, по сравнению с пациентами, имевшими генотип *TT* [46,126,38]. Через

год, эта же группа ученых опубликовала результаты своего повторного исследования, которое дало аналогичные результаты, что подтвердило ранее сделанные выводы [39,46,129].

Nieminen и соавт. опубликовали результаты своего исследования, где было отмечено, что после инстилляций капель наиболее высокие концентрации тимолола в плазме, наблюдаются у «медленных» метаболизаторов по *CYP2D6* [39,46,103]. Из этого исследователи сделали вывод, что медленные метаболизаторы имеют повышенный риск развития побочных реакций, таких как развитие брадикардии. Но исследование было не слишком показательным, так как в нем участвовали всего 38 человек [103].

При проведении фармакогенетических исследований местных бета-адреноблокаторов ученые учитывали только такие показатели эффективности как ВГД. Глаукома – это прежде всего прогрессирующая нейропатия зрительного нерва, а не только заболевание, связанное с повышением ВГД и нарушением оттока водянистой влаги (Астахов Ю.С., 2014). Необходимо отметить, что безопасность препаратов характеризовалась показателями ЧСС и АД, хотя в инструкции к топическим β -адреноблокаторам указано такое часто побочное явление, как удлинение интервала PQ (АВ-блокада). Отсутствие в опубликованных работах комплексного клинического подхода к персонализированному выбору фармакотерапии глаукомы и отсутствие данных о связи эффективности и безопасности препаратов тимолола малеата с его фармакогенетическими особенностями указало на актуальность и своевременность дальнейшего исследования, что и опередило цель и задачи данной работы.

Цель исследования

Оптимизация терапии первичной открытоугольной глаукомы препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, с использованием фармакогенетических технологий.

Задачи исследования.

1. Изучить частоту распределения генотипов по полиморфным маркерам ($1846G>A$) и ($100C>T$) гена *CYP2D6* у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.
2. Оценить взаимосвязь между эффективностью и безопасностью препаратов, содержащих 0,5 % тимолола малеата, и полиморфизмами $1846G>A$ и $100C>T$ гена *CYP2D6*, у пациентов первичной открытоугольной глаукомой.
3. Установить взаимосвязь между показателями эффективности и безопасности препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, и активностью изофермента *CYP2D6*, у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.
4. Установить степень влияния полиморфизмов $1846G>A$ и $100C>T$ гена *CYP2D6* на активность изофермента *CYP2D6*.
5. Оценить значимость фармакогенетического тестирования по *CYP2D6* для прогнозирования эффективности и безопасности применения лекарственных препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Доказано, что наличие полиморфизмов $1846G>A$ (*rs3892097*) и $100C>T$ (*rs1065852*) гена *CYP2D6* у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой не влияет на эффективность препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат.

2. Установлено, что наличие полиморфизмов $1846G>A$ (*rs3892097*) и $100C>T$ (*rs1065852*) гена *CYP2D6* у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой, применяющих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат, повышает риск развития таких системных нежелательных лекарственных реакций, как брадикардия и нарушение атриовентрикулярного проведения.

3. Активность изофермента *CYP2D6*, оцененная по отношению концентрации метаболита пинолина (6-НО-ТНВС) к концентрации пинолина в моче, у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой не ассоциирована с параметрами эффективности и безопасности препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат.

Научная новизна результатов исследования

Впервые в России проведен комплексный подход к оценке эффективности и безопасности препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, и фармакогенетическим тестированием у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.

Доказано отсутствие ассоциации между эффективностью препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, и полиморфизмами ($1846G>A$) и ($100C>T$) гена *CYP2D6* у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой.

Выявлено, что у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой, применяющих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат, вероятность возникновения тимолол –индуцированной брадикардии выше при наличии генотипов *GA CYP2D6* по полиморфному маркеру $1846G>A$ и *CT CYP2D6* по полиморфному маркеру $100C>T$.

Установлено, что у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой, применяющих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат, длительность интервала PQ выше при наличии генотипов: *GA CYP2D6* по полиморфному маркеру $1846G>A$ и *CT CYP2D6* по полиморфному маркеру $100C>T$.

Доказано отсутствие зависимости между показателями эффективности и безопасности препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, у пациентов с открытоугольной глаукомой и активностью *CYP2D6*, оцененной по отношению концентрации 6-НО-ТНВС к концентрации пинолина в моче. Установлено отсутствие влияния полиморфизмов $1846G>A$ и $100C>T$ гена *CYP2D6* на активность *CYP2D6*, оцененную по отношению концентрации 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-бета-карболина к концентрации пинолина в моче.

Теоретическая и практическая значимость работы

В процессе проведения исследований больных, с диагнозом первичная открытоугольная глаукома, были получены данные о роли изофермента *CYP2D6* в метаболизме тимолола малеата. Благодаря данным исследованиям, стало

возможным определить степень влияния фармакогенетических (полиморфизмы генов *CYP2D6*) и фармакометаболомных (активность *CYP2D6*) факторов в эффективность и безопасность терапии тимололом малеатом у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. Показано значение выполнения генотипирования *CYP2D6 1846G>A (rs3892097)* и *100C>T (rs1065852)* перед назначением препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат с целью снижения повышенного риска развития нежелательных лекарственных реакций у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой, у которых присутствует данный полиморфизм.

Предметом исследования является проблема эффективности и безопасности применения препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат.

Объект исследования: 105 пациентов (176 глаз) с впервые установленным диагнозом первичной открытоугольной глаукомой, инстиллирующие препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат.

Степень достоверности полученных результатов

Аналізу подвергнуты результаты обследования и лечения 105 больных (176 глаз) первичной открытоугольной глаукомой. Обеспечивается научной постановкой цели и задач исследования, достаточной выборкой (176 глаз), применением современных информативных методов исследования (статическая компьютерная периметрия Humphrey), лечения пациентов с использованием новейших методов оценки активности изоферментов, применением рекомендованных методов генотипирования, а также выбором и использованием адекватных методов медико-биологической статистики (для проверки на нормальность W-тест Шапиро-Уилка; однородность дисперсий оценивали с помощью двухстороннего критерия Фишера; для сравнения двух независимых переменных, подчиняющихся закону нормального распределения, использовали t-тест Стьюдента, не подчиняющихся закону нормального распределения- U-тест Манна-Уитни; для определения корреляционной связи-корреляционный анализ Спирмена).

Проведение диссертационного исследования «Оптимизация терапии первичной открытоугольной глаукомы: фармакогенетический подход» одобрено Комитетом по этике научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО (Протокол №12 от 8 ноября 2016 года).

Апробация работы

Апробация диссертации состоялась на расширенном заседании кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России протокол №8 от 10.06.2022.

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на 16-ом Ежегодном конгрессе Российского глаукомного общества (Москва, 2018 г.), на VI Ежегодном Всероссийском конгрессе «Вотчаловские чтения» (Москва, 2020г.), на VII Ежегодном Всероссийском конгрессе «Вотчаловские чтения» (Москва, 2021г.), на Российском Конгрессе по фармакогеномики (Москва, 05.02.2022), на заседании кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России и сотрудников Московского офтальмологического центра ДЗМ ГБУЗ им. С. П. Боткина Департамента здравоохранения г. Москвы

Внедрение результатов работы в практику

Формы внедрения:

- 1) Применение фармакогенетического тестирования у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой для подбора оптимальной дозы тимолола малеата.
- 2) Использование полученных данных о генетических факторах риска фармакотерапии ПОУГ с применением тимолола малеата в учебном процессе врачей-офтальмологов, врачей-терапевтов, врачей-клинических фармакологов.

Результаты диссертационной работы внедрены в клиническую практику Московского офтальмологического центра ДЗМ ГБУЗ им. С. П. Боткина (акт

внедрения от апреля 2022). Результаты научных исследований включены в раздел «Глаукома» основной профессиональной образовательной программы высшего образования – программа подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре по специальности 31.08.59 Офтальмология, в учебные планы циклов повышения квалификации врачей-офтальмологов кафедры офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (акт внедрения от мая 2022 года). Основные результаты, положения и выводы диссертации, новые научные данные, касающиеся оптимизации терапии первичной открытоугольной глаукомы препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, включены в раздел “Клиническая фармакогенетика с основами персонализированной медицины” основной профессиональной образовательной программы высшего образования – программы подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре по специальности 31.08.37 «Клиническая фармакология»; включены в учебный план циклов повышения квалификации врачей по направлению «Клиническая фармакогенетика с основами персонализированной медицины» кафедры клинической фармакологии и терапии им. академика Б.Е. Вотчала (акт внедрения от мая 2022 года).

Публикации

Опубликовано 9 печатных работ, из них 3 в научных рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ и 2 статьи в научных изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования - Scopus. Опубликовано глава в монографии «Прикладная фармакогенетика» под редакцией члена-корреспондента РАН, профессора, д.м.н. Д.А. Сычева.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Личный вклад автора в науку состоит в том, что им разработана научная идея и обосновано использование фармакогенетических технологий, позволившая прогнозировать эффективность и безопасность препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, что имеет важное значение для оптимизации лечения глаукомы. 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 работы, определении методологического подхода и методов их решения; непосредственного участия соискателя в получении исходных данных. Самостоятельно выполнена основная часть работы – офтальмологические исследования, лечение и наблюдение за пациентами, забор крови для генетического 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

Диссертация «Оптимизация терапии первичной открытоугольной глаукомы: фармакогенетический подход» соответствует формуле специальности 3.1.5. Офтальмология (Медицинские науки) и направлениям исследования: п. 5 «Совершенствование методов диспансеризации и динамического наблюдения пациентов с хроническими и прогрессирующими видами патологии глаз».

Диссертация соответствует формуле специальности 3.3.6 – Фармакология, клиническая фармакология (Медицинские науки) и направлениям исследования: п.6 «Изучения фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма лекарственных средств. Установление связей между дозами, концентрацией и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция полученных данных с биологических моделей на человека», п. 10 «Проведение фармакогенетических исследований».

Структура и объем работы

Диссертация изложена на 119 страницах машинописи и состоит из введения, обзора литературы, собственных материалов и методов исследования, результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа

иллюстрирована 40 таблицами, 15 рисунками и фотографиями. Список литературы содержит 135 источника (54 отечественных и 81 иностранных авторов).

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Патогенетические аспекты и факторы риска развития первичной открытоугольной глаукомы.

Глаукома - одно из наиболее распространенных глазных заболеваний, которое может привести к серьезным необратимым изменениям и значительной потере зрения, вплоть до полной слепоты [10].

В течение многих лет глаукому считали состоянием повышенного внутриглазного давления (ВГД), приводящего к характерной глаукомной атрофии зрительного нерва с экскавацией и изменениями полей зрения [6]. В последнее время, некоторые исследователи предлагают определять глаукому как оптическую нейропатию со специфическим изменением диска зрительного нерва (ДЗН) и полей зрения, имеющую специфическую этиологию, патофизиологию, характерное начало и течение [10,33,34,37]. По мнению этих авторов, повышенное ВГД является не самой болезнью, а лишь важным фактором риска в развитии глаукомных изменений.

Основной концепцией патогенеза ПОУГ является многофакторная теория, в которой с одной стороны определяются патологии, детерминированные наследственностью (влияние факторов внешней среды сводится к минимуму), с другой стороны, основная роль в возникновении заболевания принадлежит факторам внешней среды [36,40]. Доля генетически обусловленных случаев заболевания составляет, по данным различных авторов, от 20 до 60% [38,91]. К настоящему времени найдено около 25 генов, вызывающих заболевание или связанных с ним [40]. Другие исследования [59,81] свидетельствуют о возможной идентичности глаукомы и нейродегенеративных заболеваний центральной нервной системы. Эти заболевания объединяют некоторые общие признаки: прогрессирующий характер с медленной потерей функции, селективность потери популяций ганглиозных клеток, трансинаптическая дегенерация [13].

К факторам риска развития ПОУГ относятся: возраст, раса, генетика и семейная история по глаукоме, миопия, псевдоэксфолиации, пониженное диастолическое

артериальное давление, сахарный диабет и повышенное ВГД. Но только последний фактор риска поддается влиянию [90]. Кроме того, все основные клинические исследования доказали, что снижение ВГД замедляет прогрессирование глаукомы [10,16,37,78,105].

1.2. Механизм действия и фармакологические эффекты бета-адреноблокаторов.

Консервативное лечение глаукомы подразумевает назначение местных гипотензивных препаратов в течение длительного времени для поддержания нормального уровня внутриглазного давления (ВГД) [12].

В настоящее время используются пять основных классов лекарств: блокаторы β - адренорецепторов, агонисты рецепторов F2 α простагландинов, ингибиторы карбоангидразы, агонисты α -адренорецепторов и м-холиномиметики. Механизм действия этих препаратов направлен либо на увеличение оттока водянистой влаги через трабекулярный и увеосклеральный пути, либо на уменьшение продукции влаги в цилиарном теле [30]. Эти препараты назначают, учитывая сопутствующие заболевания, эффективность, стоимость и побочные эффекты.

Появление в конце 1970-х гг. бета-адреноблокаторов в виде глазных лекарственных форм стало большим шагом вперед в лечении глаукомы [12]. При фармакоэкономическом анализе одного из субъектов Российской Федерации, было установлено, что по частоте назначений преобладали неселективные β -адреноблокаторы (тимолол – 56,2%) [26]. Бета-адренергические рецепторы имеются в составе тканей сердца, легких, почек, кровеносных сосудов, эндокринных желез, нервной системы и форменных элементов крови [51]. Кроме того, β -рецепторы широко представлены в глазу, включая трабекулярную ткань, эпителий хрусталика и цилиарные, хориоидальные и даже ретинальные артерии. Все бета-блокаторы, используемые для лечения больных глаукомой, объединяет то, что все они снижают продукцию внутриглазной жидкости (ВГЖ) и уменьшают кровоток в капиллярах цилиарных отростков [17,80]. В экспериментальных работах на изолированной

задней цилиарной артерии было обнаружено, что стимуляция β -адренергических рецепторов приводит к сокращению сосудистой стенки [23].

Бета-адреноблокаторы, используемые в офтальмологической практике, включают неселективные, тимолола малеат, и β_1 -селективные препараты, бетаксолол. Неселективные бета-адреноблокаторы имеют достоверно большую эффективность, по сравнению с β_1 -селективными препаратами [9,55,79,]. Бинарные $\alpha\beta$ -блокаторы снижают ВГД аналогичным способом, блокируя дополнительно α адренорецепторы [3].

Размер глазной капли варьируется от 30 мкл до 50 мкл. Общий объем конъюнктивального мешка вмещает 30 мкл от глазной капли. Большинство препаратов в глазных каплях всасываются в ткани роговицы, затем путем пассивной или облегченной диффузии транспортируются в переднюю камеру. Однако, эпителиальный слой роговицы считается важным барьером на пути всасывания препарата, и биодоступность внутри глаза считается менее 10% [76]. В одной капле 0,5% тимолола малеата (40 мкл), содержится 200 мкг препарата. Следовательно, концентрация тимолола, которая достигает цилиарного тела, составляет менее 20 мкг [94].

В настоящее время информация о проникновении тимолола через роговицу человеческого глаза весьма ограничена. По данным исследования на кроликах тимолол проникает через эпителиальный слой роговицы путем пассивной диффузии, а функция транспортеров считается незначительной [111]. Необходимо отметить, что проникновение тимолола малеата через роговицу, зависит в какой-то степени от консистенции используемого препарата. Концентрация тимолола в водянистой влаге больше при использовании водного раствора, чем при гелеобразной форме [120].

Было проведено рандомизированное исследование, где здоровым добровольцам вводили 0,2 мг тимолола внутривенно, либо инстиллировали в глаза. Частота

сердечных сокращений, артериальное давление и функции легких были одинаковыми после внутривенного и глазного введения тимолола, однако, ВГД было снижено больше при местном использовании тимолола [85].

В систематическом обзоре подобных исследований показано, что офтальмологический тимолол снижал ЧСС как в покое, так и уменьшал нарастание ЧСС при физической нагрузке (велоэргометрические пробы). Необходимо отметить, что ЧСС в большей мере снижалась у здоровых добровольцев, чем у пациентов с глаукомой. В среднем тимолол снижает ЧСС в покое у пациентов с глаукомой на 4-6 ударов в минуту [103,104]. Снижение ЧСС у людей с сердечно-сосудистой патологией является благоприятным фактором: по данным Фремингемского исследования оказалось, что тахикардия является фактором риска как общей, так и сердечно-сосудистой смертности пациентов [133]. Бета-адреноблокаторы — это единственная группа антиглаукомных препаратов, которая «прицельно» изучалась на предмет влияния на сердечно-сосудистую смертность пациентов с глаукомой [45]. С другой стороны, в крупномасштабном исследовании с длительностью наблюдения более 10 лет, в которое были включены 3842 пациента с глаукомой, не было установлено ассоциации между применением офтальмологических бета-адреноблокаторов (вне зависимости от длительности применения) и сердечно-сосудистой смертностью [93].

Большинство неселективных β –адреноблокаторов могут стать причиной повышения уровня холестерина в крови, что может привести к увеличению риска развития заболевания коронарных сосудов [11,16,67].

Что касается ЦНС, то β –блокаторы после длительного применения у больных глаукомой могут вызвать состояние депрессии [11,67]. Причиной этого является блокада передачи нервных импульсов в ЦНС и снижение концентрации катехоламинов и серотонина [30,67]. Данные изменения также вызывают эмоциональную лабильность, появление чувства страха, развитие усталости, нарушение ориентации в пространстве, сна и сексуальные расстройства [11, 128].

Актуальным является проблема совместного использования системных и местных бета-адреноблокаторов у пациентов с глаукомой и сердечно-сосудистой патологией [8]. Согласно литературным данным, каждый пятый пациент с глаукомой получает одновременно системный и местный бета-адреноблокаторы, при сочетании хронической сердечной недостаточности и глаукомы — уже каждый третий, а среди пациентов с глаукомой и ишемической болезнью сердца — практически каждый второй [110]. Известно, что терапия системными бета-адреноблокаторами уменьшает гипотензивное действие топического тимолола у пациентов с ПОУГ и офтальмогипертензией. Кроме того, было доказано, что совместное использование местных и системных β -блокаторов статистически достоверно повышает риск нежелательных побочных реакций в виде гипотонии, брадикардии, нарушений проводимости, бронхоспазма [51,113].

1.3. Фармакокинетика и фармакодинамика тимолола малеата

Известно, что одна капля 0,5% раствора тимолола малеата при закапывании в оба глаза эквивалентна 10 мг принятым перорально [57]. Как говорилось выше, в одной капле 0,5% тимолола содержится около 200 мкг этого лекарственного средства, из которых не менее 160 мкг (80%) поступает в большой круг кровообращения [85]. Этого можно частично избежать путем окклюзии слезных канальцев [77]. Еще в 1977 г. *Zimmerman T.J. с соавт.* заметили, что при инстилляцией 0,5% тимолола малеата в один глаз, во втором глазу также отмечалось снижение ВГД [134]. При попадании в конъюнктивальную полость, вначале препарат всасывается через слезные точки, затем проходит через слезные канальца в слезный мешок, а оттуда попадает в носослезный канал. Далее через слизистые оболочки носа и желудочно-кишечный тракт (преимущественно через его верхние отделы) тимолола малеат проникает в системный кровоток. Тимолола малеат поступает в системный кровоток, минуя эффект первого прохождения через печень. Его биодоступность при инстилляцией в конъюнктивальную полость можно сравнить с его внутривенным введением [28,85].

Исследование с рекомбинантными человеческими ферментами СУР

подтвердило, что тимолол в основном метаболизируется CYP2D6 [119,121]. Было показано, что хинидин ингибировал метаболизм тимолола в микросомах печени человека. Было обнаружено, что CYP2C19 играет незначительную роль в метаболизме тимолола. Транспортная РНК (тРНК) CYP2D6 и CYP2C19 были обнаружены в различных тканях глаза, таких как роговица и беспигментный эпителий цилиарного тела [119,131]. Однако, только очень низкие уровни двух метаболитов тимолола (метаболит гидроксиэтилглицин и 3-оксометаболит) были выявлены во внутриглазной жидкости после местного применения тимолола [120]. До конца не выяснено, были ли эти метаболиты выработаны в печени после системной абсорбции и обратно переведены из системной циркуляции или были метаболизированы в глазу [121]. Считается, что метаболизм тимолола может происходить в тканях глаза, но это не имеет клинического значения.

В гомогенате печени человека, микросомах и криоконсервированных гепатоцитах было идентифицировано всего девять метаболитов тимолола. В обоих экспериментах *in vitro* гидроксиметаболит M1 был основным метаболитом, который образуется путем гидроксилирования в морфолиновом кольце. Процентное содержание M1 среди всех метаболитов тимолола составляло почти 30 % и 70 % в гепатоцитах и микросомах печени соответственно. Было установлено, что CYP2D6 отвечает за >90 % образования M1 и M2, в то время как вклад CYP2C19 составлял <10 % [119]. Другой гидроксиметаболит M5 образовался из M1, и его доля от всех метаболитов составляла около 21 % в гепатоцитах [119]. M5 был идентифицирован как гидроксилирование морфолинового кольца с последующим раскрытием кольца. Таким образом, M1, по-видимому, является наиболее распространенным первичным метаболитом, который в дальнейшем метаболизируется в клетках и *in vivo*. У здоровых добровольцев, получивших по одной капле офтальмологического тимолола в оба глаза, были обнаружены только M6 и M7 [95], которые, как предполагается, образуются из M5 и M1 соответственно. Основными путями метаболизма бета-адреноблокаторов являются O-деметилирование, α -гидроксилирование и N-деалкилирование. [1].

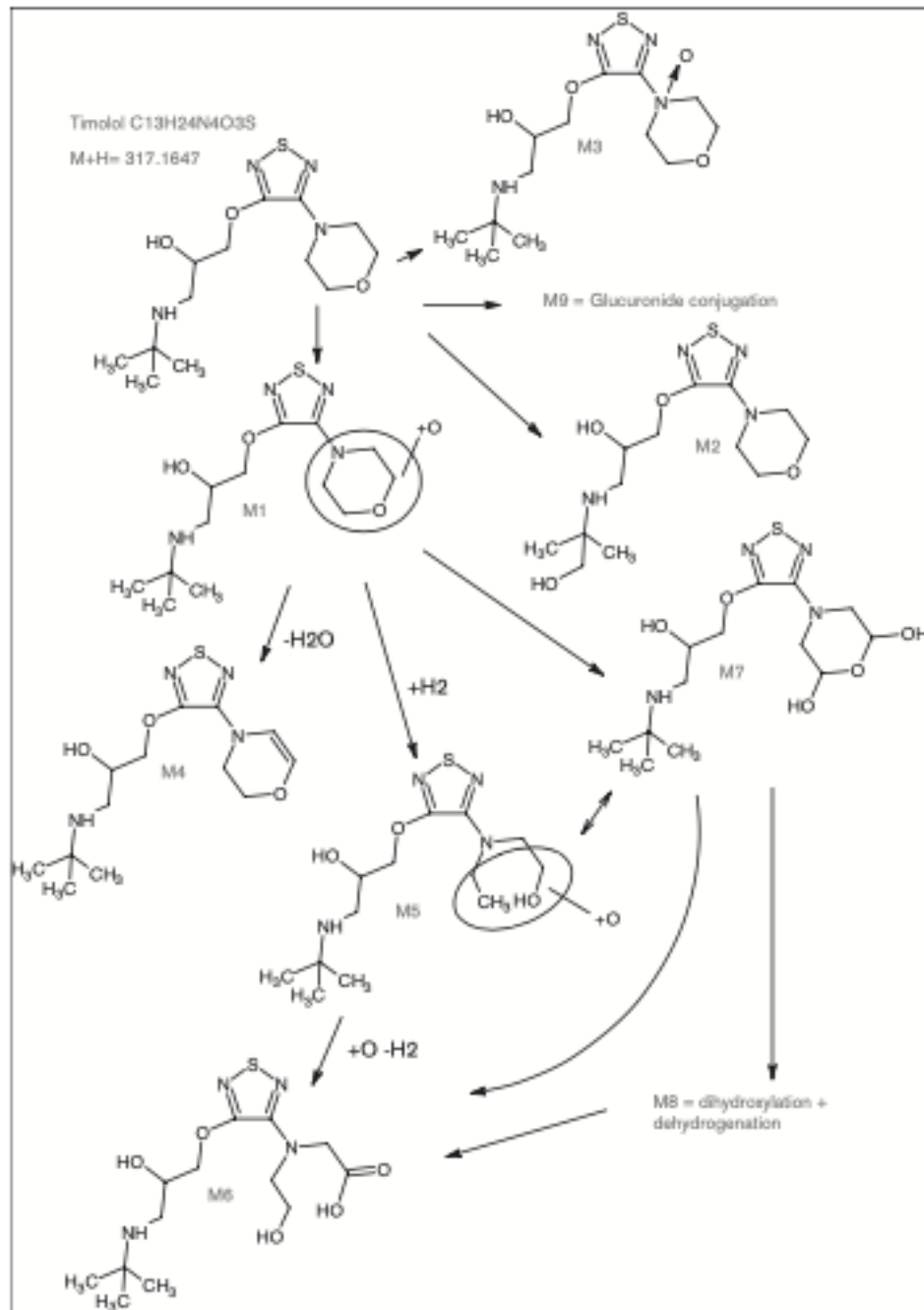


Рисунок 1.3.1. Схема метаболизма тимолола малеата в организме человека [119].

Клиническая значимость CYP2C19 в метаболизме тимолола неясна, но теоретически он может иметь значение, особенно если человек является «медленным» метаболизатором (PM) по CYP2D6. Однако CYP2C19 также является

полиморфно экспрессируемым ферментом. В редких случаях, у человека может быть фенотип РМ как для CYP2C19, так и для CYP2D6, что может привести к выраженным к побочным эффектам тимолола малеата.

Период полувыведения тимолола малеата составляет около четырех часов, и почти 20% от пероральной дозы препарата выводится в неизменном виде почками [30,66,70]. В подтверждении этого были проведены два исследования *in vitro*: в инкубаторе с микросомами печени человека и криоконсервированных гепатоцитах человека. В результате этих исследований был вычислен предположительный период полувыведения тимолола на 2,9 и 3,7 часа соответственно [70,121]. Эти результаты хорошо согласуются с результатами *in vivo*, которые показали, что период полувыведения тимолола составляет около четырех часов [66].

Фармакодинамические эффекты бета-блокаторов многообразны, поскольку клетки, содержащие β - адренергические рецепторы, широко представлены во всем организме. Тимолола малеат, блокируя бета- адренорецепторы цилиарного тела, снижает уровень ВГД за счет уменьшения продукции ВГЖ [10,80]. Данный эффект реализуется через β_1 - и β_2 адренорецепторы. В системном кровотоке тимолол конкурирует с адренергическими нейротрансмиттерами за связывание с бета-1--адренергическими рецепторами в сердце и бета-2-рецепторами в гладких мышцах сосудов и бронхов. Это приводит к снижению действия катехоламинов, которые обычно связываются с адренергическими рецепторами и оказывают симпатическое действие, приводящее к повышению артериального давления и частоты сердечных сокращений [87]. Блокада бета-1-рецепторов тимололом приводит к снижению как частоты сердечных сокращений, так и сердечного выброса во время отдыха и физических упражнений, а также к снижению как систолического, так и диастолического артериального давления [88,118]. В дополнение к этому, может также наблюдаться снижение рефлекторной ортостатической гипотензии. Блокада бета-2- рецепторов тимололом в кровеносных сосудах приводит к снижению периферического сосудистого сопротивления, снижению артериального давления [117]. Необходимо отметить, что у пациентов с ПОУГ без реактивного заболевания

дыхательных путей (астма, хронический обструктивный бронхит и др.) неселективные бета-адреноблокаторы не должны ухудшать легочную функцию [85].

Системные действия тимолола малеата принято относить к нежелательным побочным эффектам. Таким образом, знание фактического генотипа *CYP2D6* особенно ценно для пациентов, кто испытывает системные побочные эффекты при применении неселективных бета-адреноблокаторов.

1.4. Фармакогенетические особенности метаболизма ЛС. Персонализированный подход в практике врача-офтальмолога.

Эффективность ЛС среди пациентов широко варьируется, данное явление может быть объяснено генетической неоднородностью пациентов [46]. На данный момент стало ясно, что генетические особенности пациентов могут определять до 50% всех атипичных фармакологических ответов: неэффективность лекарственных средств или нежелательные лекарственные реакции [24]. Фармакогенетика относится к научной области, которая занимается исследованиями генетических аспектов, которые принимают участие в развитии фармакологического ответа организма на применение того или иного ЛС. Благодаря знанию фармакогенетики врачи большинства специальностей могут персонализированно подойти к выбору ЛС и их доз индивидуально для каждого пациента. Такой подход позволит обеспечить наиболее эффективное и безопасное лечение.

Формирование данного научного направления, произошло на базе генетики и фармакологии [42,46]. Роль наследственности в формировании индивидуального ответа на ЛС была известна уже давно, однако, понимание молекулярных механизмов влияния генетических факторов на фармакокинетические и фармакодинамические характеристики ЛС стало возможным лишь после осуществления международной программы «Геном человека» [14,42]. Такие генетические особенности обусловлены наличием полиморфных участков генов белков, участвующих в фармакокинетике или фармакодинамике ЛС, называемые

полиморфными маркерами, аллельными вариантами или однонуклеотидными полиморфизмами [5,125]. Именно изменения в таких участках могут повлечь за собой нарушения в работе генов. К таким изменения относятся: (повышение/понижение) активности белка, если однонуклеотидный полиморфизм находится в структурной части гена, изменение количества (повышение/снижение) белка, если в регуляторной части гена находится однонуклеотидный полиморфизм [14, 41]. Именно существование однонуклеотидных полиморфизмов в том или ином гене может определять генетически обусловленный вклад в индивидуальный фармакологический ответ, который можно классифицировать следующим образом [41]:

- вызывающие серьезные реакции. Например, однонуклеотидные полиморфизмы, приводящие к дефициту глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Терапия ЛС, в метаболизме которых участвует фермент с таким аллельным вариантом гена, будет противопоказана;
- вызывающие нежелательные лекарственные реакции. К примеру, носительство «медленных» аллельных вариантов гена *CYP2D6*, приводящее к фенотипу «медленного метаболизатора». Таким пациентам требуются применения ЛС в низкой дозе;
- отсутствие результативности терапии ЛС, когда не наблюдается эффективности, что вызывает необходимость увеличения стандартной дозы. Например, дубликация функциональных аллелей гена *CYP2D6*, приводящая к фенотипу «быстрого метаболизатора».

В зависимости от того, к каким последствиям для скорости биотрансформации ЛС приводит носительство (гетерозиготное/гомозиготное) или неносительство («дикий» генотип) однонуклеотидного полиморфизма, пациенты могут быть разделены на следующие группы [41].

- Распространенные метаболизаторы (*extensivemetabolism*, *EM*) – группа пациентов, обладающих обычным метаболизмом и стандартной скоростью

биотрансформации определенных ЛС. Они не обладают аллельными вариантами гена, которые кодируют фермент биотрансформации. Такие пациенты имеют «дикий» генотип. На основании данных факторов, этим пациентам назначают стандартные (регламентированные инструкцией) режимы дозирования в виде средних доз.

- Медленные метаболизаторы (*poor metabolism, PM*) – группа пациентов со сниженной скоростью биотрансформации конкретных ЛС. В основном такие пациенты являются гомозиготами или гетерозиготами (*intermedium metabolism, IM*) по аллельному варианту того или иного гена, который кодирует фермент биотрансформации. В данном случае наблюдается формирование фермента с дефектом или же данный фермент вообще отсутствует, что приводит к снижению ферментативной активности (гетерозиготное носительство), либо к отсутствию (гомозиготное носительство). Это может привести к последствиям в зависимости от особенностей биотрансформации ЛС, которые перечислены ниже:

- Если ЛС изначально являются активными соединениями, у пациентов из группы «медленных» метаболизаторов ЛС накапливаются в организме в высоких концентрациях, что может стать причиной возникновения серьезных НЛР, вплоть до интоксикации. Поэтому для «медленных» метаболизаторов должен быть выполнен тщательный подбор дозы ЛС, которая должна быть меньше, чем для экстенсивных метаболизаторов.

- В том случае, когда ЛС является пролекарством (действующим веществом считается именно активный метаболит ЛС, который образуется из исходного ЛС в процессе биотрансформации), у «медленных» метаболизаторов образуется меньше активного метаболита, что может привести к неэффективности лечения. Решить эту проблему возможно путем увеличения дозы препарата или применения иных ЛС, метаболизм которых протекает без участия данного фермента.

- Сверхактивные или быстрые метаболизаторы (*ultraextensive metabolism, UM*) – пациенты с увеличенной скоростью биотрансформации определенных ЛС. Пациенты, относящиеся к этой группе метаболизаторов, различаются:
 - Однонуклеотидный полиморфизм, приводящий к синтезу фермента с высокой активностью.
 - Дубликации (удвоения) или даже мультипликации (умножения) функционально нормальных аллелей (в которых нет никаких однонуклеотидных полиморфизмов). У данной группы пациентов будет отмечаться низкий уровень концентраций ЛС. Это приводит к тому, что концентрация ЛС, которые изначально были активными соединениями, в крови недостаточная для достижения терапевтического эффекта. Для сверхактивных метаболизаторов доза ЛС должна быть выше, чем для распространенных метаболизаторов – максимально допустимая доза или необходимо замену ЛС, на другое ЛС, в метаболизме которого данный изофермент не участвует [41].

Фармакогенетические исследования, которые направлены на изучение полиморфизмов, помогают разрабатывать более эффективные схемы терапии, рассчитывать подходящие дозы ЛС в каждом конкретном случае, что лежит в основе так называемой персонализированной медицины. Она представляет собой подход к оказанию медицинской помощи на основе индивидуальных характеристик пациента для чего они должны быть распределены на подгруппы в зависимости от предрасположенности к болезням и ответу на то или иное вмешательство (профилактическое или лечебное) [8]. Разработка и внедрение технологий персонализированной медицины регламентированы в Стратегии развития медицинской науки в РФ до 2025 г. [48].

В настоящее время имеется лишь ограниченное число фармакогенетических исследований, касающихся терапии ПОУГ. Однако, установлен ряд генов, способных оказать влияние на фармакологический ответ при использовании антиглаукомных препаратов. Гипотензивный эффект латанопроста зависит от

полиморфизма генов простагландин-эндопероксид синтазы 1 (PTGS1), простагландин-F(2альфа) рецепторов (PTGFR), генов белков множественной лекарственной устойчивости (MRP4) [112,75]. Гипотензивный эффект тимолола зависит от полиморфизма генов цитохрома CYP2D6 и β - адренорецепторов [96,103,104,114,126]. К примеру, при применении тимолола, у пациентов с гомозиготным носительством полиморфного маркера *rs1801252 (Gly49Ser, A145G)* гена β 1-адренорецептора (*ADRB1*) вероятность развития брадикардии выше, а уровень систолическое и диастолическое давление при пробе с наклоном головы был ниже [103].

Очевидно, что дальнейшее накопление подобных знаний с последующим использованием фармакогенетических тестов позволит заранее прогнозировать фармакологический ответ на ЛС, а значит, индивидуализированно подойти к выбору тактики местной гипотензивной терапии [22].

Использование фармакогенетического тестирования и изучение фармакогенетики других антиглаукомных препаратов поможет офтальмологам подобрать рациональное, безопасное и эффективное лечение в короткие сроки, что позволит существенно улучшить качество оказываемой помощи.

1.5. Характеристика изофермента цитохрома P-450 2D6 и ассоциация его активности с полиморфизмом CYP2D6

Изофермент CYP2D6 представляет собой белок, массой 55 кДа, в структуру которого входит 497 аминокислотных остатков. В печени взрослого человека CYP2D6 составляет около 2-4% от общего количества изоферментов группы цитохрома P-450 [132] и относится к подсемейству CYP1D [1,132]. Ген, кодирующий синтез CYP2D6 располагается в 22 хромосоме, локусе *22q13.1. CYP2D6* участвует в метаболизме около 25% всех известных на сегодняшний день ЛС, в том числе β - адреноблокаторов, антипсихотиков, антидепрессантов, статинов и других препаратов [14]. Субстраты изофермента CYP2D6 [14]:

- Антигипертензивные препараты (карведилол, небиволол, метопролол, тимолол, дебрисохин, алпренолол, буфуралол, пропранолол (альтернативный путь метаболизма CYP2C19))
- Антиангинальные препараты (паргексалин и др.)
- Антиаритмические препараты (пропафенон, спартеин, флекаинид, мексилетин, энкаинил)
- Анестетики (лидокаин и др.)
- Нестероидные противовоспалительные средства (фенацетин – альтернативный путь метаболизма CYP1A2)
- Амфетамины (фенформин, метоксиамфетамин и др.)
- Антидепрессанты (кломипрамин, дезипрамин, нортриптилин, амитриптилин (альтернативные пути метаболизма – CYP1A2, CYP2C19) и др.)
- Антипсихотические препараты (хлорпромазин, рисперидон, арипразол, тиоридазин, галоперидол (альтернативные пути метаболизма – CYP1A2, CYP2C19) и др.)
- Опиатные анальгетики (оксикодон, трамадол и др.)
- Антигистаминные препараты (хлорфенираин)
- Противокашлевые средства (декстрометорфан)
- Противорвотные средства (метоклопрамид и др.)
- Противоопухолевые средства (тамоксифен – альтернативный путь метаболизма CYP1A2)

Совместное применение субстратов CYP2D6 с ингибиторами CYP2D6 приводит к угнетению метаболизма субстратов, следствием чего может быть повышение концентрации лекарственных средств в организме и их длительной циркуляции, возникновение побочных эффектов, связанных с применением лекарственных средств – субстратов, вплоть до интоксикации за счёт замедления их клиренса [28,54] CYP2D6 в отличие от других изоферментов цитохрома P450 не имеет индукторов [41]. В исследованиях на микросомах печени человека было показано,

что хинидин (антиаритмическое средство), флуоксетин и пароксетин (антидепрессанты), которые являются ингибиторами CYP2D6, ингибируют метаболизм тимолола малеата. [60,95,119]. Местное применения тимолола может вызвать серьезные нарушения функции сердца, особенно у пожилых пациентов, у которых отсутствует функциональный фермент CYP2D6.

Филимонова Е.Э. с соавт. в исследовании на 112 пациентах страдающих ПОУГ на фоне хронических заболеваний сердечно-сосудистой системы, показала, что одновременное применение местных и системных β -блокаторов статистически достоверно повышает риск нежелательных побочных реакций в виде гипотонии, брадикардии, нарушений проводимости, бронхоспазма [51]. В другом зарубежном исследовании отмечали, что сочетание местных и системных бета-блокаторов было наибольшей у больных 75-84 лет, которые имели высокий риск к возникновению таких побочных эффектов, как брадикардия и другие нарушения проводимости сердца. Это особенно выражено в случае одновременного использования офтальмологического тимолола малеата и другого субстрата CYP2D6 метопролола у пациентов, являющихся «медленными» метаболиторами [132].

Особенность CYP2D6 – значительная вариабельность его активности в популяции. Основная причина вариабельности – генетический полиморфизм, т. е. существование различных форм (аллелей) гена CYP2D6 в результате мутаций. На сегодняшний день известны около 100 аллельных варианта гена. Некоторые из этих аллелей функционально полноценны, активность других значительно снижена [53]. В зависимости от функционального уровня, выделяют 4 основные группы аллелей: с нормальной, сниженной, промежуточной и повышенной активностью [14,61,63,64], что соответствует группам носителей CYP2D6: распространенные (аллели *1/*1, *1/*2, *2/*2, *1/*9, *1/*41, *41/*41), медленные (аллели *4/*4, *3/*4, *5/*5, *5/*6), промежуточные (аллели *4/*41, *5/*9, *4/*10), сверхактивные метаболиторы ((*1/*1) \times N, (*1/*2) \times N, (*2/*2) \times N).

К примеру, носительство «медленных» аллельных вариантов *CYP2D6*3* (*rs35742686*), *CYP2D6*4* (*rs3892097*), *CYP2D6*5* (делеция гена), *CYP2D6*6* (*rs5030655*), *CYP2D6*7* (*rs5030867*), *CYP2D6*9* (*rs5030656*), *CYP2D6*10* (*rs1065852*), *CYP2D6*41* (*rs28371725*) ассоциируется с низкой скоростью биотрансформации метопролола в печени, более высокими его концентрациями в плазме крови, более высоким риском развития НЛР (в первую очередь брадикардии) [126], что продемонстрировано в т.ч. и в российской популяции пациентов [50].

Таблица 1.5.1.

Ассоциации между полиморфизмом гена, кодирующего CYP2D6 и неблагоприятными фармакологическими ответами [41]

Аллельный варианты	Изменение активности фермента	Лекарственные средства	Изменение фармакологического ответа
Медленные аллельные варианты: <i>CYP2D6*3</i> , <i>CYP2D6*4</i> , <i>CYP2D6*5</i> , <i>CYP2D6*6</i> , <i>CYP2D6*7</i> , <i>CYP2D6*8</i> , <i>CYP2D6*9</i> , <i>CYP2D6*10</i> , <i>CYP2D6*41</i>	Снижение активности изофермента цитохрома Р-450 2D6 (CYP2D6)	Бета-адреноблокаторы (Метопролол/ тимолол)	Бронхоспазм, гипотония, брадикардия, АВ-блокада, асистолия
		Флекаинид	Желудочковые тахиаритмии
		Пропафенон	Нейротоксичность, бронхоспазм
		Трициклические антидепрессанты	Гипотония, агитация, сонливость

		(нортриптилин)	
		Галоперидол	Экстрапирамидные расстройства
		Дексфенфлурамин	Тошнота, рвота, головная боль
		Симвастатин	Повышение уровня трансаминаз, миалгии
		Пергекселина малеат	Гепатотоксичность
		Прокаинамид	Снижение риска развития волчаноч-ноподобного синдрома
		Трамадол	Недостаточное анальгетическое действие
		Кодеин	Недостаточное анальгетическое действие
		Арипипразол	Высокая эффективность при эпилепсии (снижение эпилептической активности по ЭЭГ)
		Донепизил	Высокая эффективность при болезни Альцгеймера
Копии функцио-	Повышение активности	Миртазапин	Гипотония
		Трициклические	Отсутствие

нальных аллелей <i>CYP2D6*1</i> , <i>CYP2D6*2</i>	изофермента цитохрома P- 450 2D6 (<i>CYP2D6</i>)	антидепрессанты	антидепрессивного действия
		Антидепрессанты группы ингибиторов обратного захвата серотонина	Отсутствие антидепрессивного действия
		Симвастатин	Отсутствие гиполипидемического действия
		Ондансетрон	Отсутствие противорвотного действия

Носительство аллельных вариантов гена *CYP2D6* демонстрирует значительную вариабельность среди различных популяций по миру [72,92]. В глобальном масштабе помимо аллели *CYP2D6*1*, преобладающей аллелью является *CYP2D6*2* (19,93%), за которой следуют *CYP2D6*10* (19,05%) и *CYP2D6*4* (11,32%). Наиболее изученной на настоящий момент является *CYP2D6*4* в связи с ее высокой распространенностью среди представителей европеоидной расы, которая составляет в среднем ~21%. Вместе с тем даже в пределах Европы вариабельность остается высокой: от 10% у финнов до 24% у литовцев и жителей Великобритании [107]. Наиболее высокая частота определяется у скандинавских народов – 26%. И наоборот, в монголоидных популяциях среди тайванцев, японцев и китайцев распространенность *CYP2D6*4* падает до 1% [86]. Частота полиморфизма *CYP2D6*4* среди русских составляет в среднем 17,56%. Среди кавказских народов России частота данного полиморфизма также варьирует от 12,77% у аварцев до 20,8% у карачаевцев. Наиболее редко аллель *CYP2D6*4* встречается среди этнических групп, относящихся к монголоидной расе: якуты – 10,19%, ненцы – 7 и

1,4% среди нанайцев [101]. В Поволжском регионе России распространенность *CYP2D6*4* составляет 11,34% среди чувашей и 8,98% среди марийцев [100].

Другим примером широкой межэтнической variability может являться аллельный вариант *CYP2D6*10*, кодирующий сниженную активность фермента. Так, *CYP2D6*10* преобладает среди жителей Восточной Азии (45%), но крайне редко встречается среди популяций европеоидного происхождения (3–7%) [72,92]. Дублирования/мультипликации активных вариантов *CYP2D6* наиболее распространен среди жителей Ближнего Востока (6,72%) и популяций, населяющих Южное Средиземноморье (3,85%) [41,92].

Yang Y. и соавт. в своём исследовании изучили ассоциацию между полиморфизмом *rs16947* гена *CYP2D6* и эффективностью (снижение ВГД) и безопасностью тимолола. Эти ученые выявили, что люди с генотипом *CC* по полиморфизму гена *CYP2D6*, которые являются «быстрыми» метаболиторами, вероятность развития тимолол-индуцированной брадикардии была достоверно ниже, по сравнению с пациентами, имевшими генотип *TT* [127]. Через год, эта же группа ученых опубликовала результаты своего повторного исследования, которое дало аналогичные результаты, что подтвердило ранее сделанные выводы [130].

На сегодняшний день существует множество фармакогенетических тестов для определения генотипа пациента. Методы генотипирования получили достаточно широкое применение, поскольку были определены гены, кодирующие последовательность аминокислот основных изоферментов печени. В связи с этим, врачи могли выбрать среди вариантов лечения лекарства и дозировки с наибольшей эффективностью и наименьшими побочными эффектами для каждого пациента, которые основываются на генетическом профиле. Однако текущий функциональный статус пациента (т.е. фенотип) может быть более значимым, чем генотип пациента. Таким образом, применение персонализированной медицины требует рассмотрения вовлечения соответствующих негенетических факторов (включая окружающую среду и персональную изменчивость) в дополнение к генетическим факторам [1].

1.6. Влияние активности цитохрома P450 2D6 на профиль эффективности и безопасности тимолола малеата

В последнее время, исследователи всё чаще отмечают такое явление, как модификационная (фенотипическая) изменчивость. При модификационной изменчивости происходит изменение клинического ответа на лекарственное средство под действие факторов окружающей среды, или при сопутствующем приёме лекарств, которые являются субстратами (ингибиторами, индукторами) соответствующих изоферментов. Генотип при этом остается неизменным [1].

Иностранные исследователи реализовали проект, сутью которого, была научная работа, направленная на изучение изменений фенотипа. В исследовании принимало участие 900 пациентов, которым был поставлен диагноз депрессия и назначена терапия [108]. На первой стадии исследования проводили генотипирование, которое определило, что чуть менее 4% больных являлись «медленными» метаболиторами, а остальная часть пациентов относилась к «распространенным», «быстрым» и «ультрабыстрым» метаболиторам. В ходе проведения второй части исследования, фенотипирования, выявили, что около 27 % больных являлись «медленными» метаболиторами, остальная часть (около 73 %), «не медленными» метаболиторами. По итогам проведенного анализа полученных данных, было обнаружено, что модификационная изменчивость до фенотипа «медленного» метаболитора наблюдалась у 23% пациентов, изначально обладающих генотипом «не медленного» метаболитора. Это указывает на то, что при проведении генотипирования значительно не учитывается активность метаболизма (фенотип), что особенно важно у пациентов, которым назначают одновременно несколько препаратов. Они подчёркивают важное ограничение генотипирования: генотипирование устанавливает генетический потенциал индивида, но не обязательно функциональные возможности в данный момент [1,108].

Для определения индивидуального клинического ответа на приём ЛС

необходимо оценить активности изоферментов цитохрома P450. Для того, чтобы получить наиболее точные сведения об активности изоферментов, применяются методы генотипирования и фенотипирования. Субстратная специфичность определённых ферментов метаболизма ЛС позволила разработать методы их фенотипирования. Активность того или иного фермента метаболизма определяется по фармакокинетике его специфического субстрата, называемого «маркерным» субстратом, путём измерения его концентрации и концентрации его метаболита в плазме крови или в моче [18]. При помощи этих данных рассчитывается «метаболический» индекс, который определяется по отношению концентрации ЛС к концентрации его метаболита [1].

Современные исследователи занимаются поиском эндогенных веществ, в ходе метаболизма которых, участвует всего один изофермент. Для этого было проведено исследование множества эндогенных веществ, которые могли бы быть специфическими субстратами для CYP2D6 [129]. Было установлено, что индолметиламин 5-метокси-N,N-диметилтриптамин (5-MDMT) и пинолин (6-метокси-1,2,3,4-тетрагидро-β-карболин) показали относительно высокое сродство к CYP2D6 и O-деметилировались только под действием CYP2D6. При добавлении к исходным веществам моноклональных антител против CYP2D6, O-деметилирование 5-MDMT и пинолина не наблюдалось. Специфичность пинолина по отношению к изоферменту CYP2D6 высока, около 99% относительно других изоферментов цитохрома P450 [129]. Пинолин подвергается O-деметилированию с образованием метаболита 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-β-карболина (Рисунок 1.6.1.) [1].

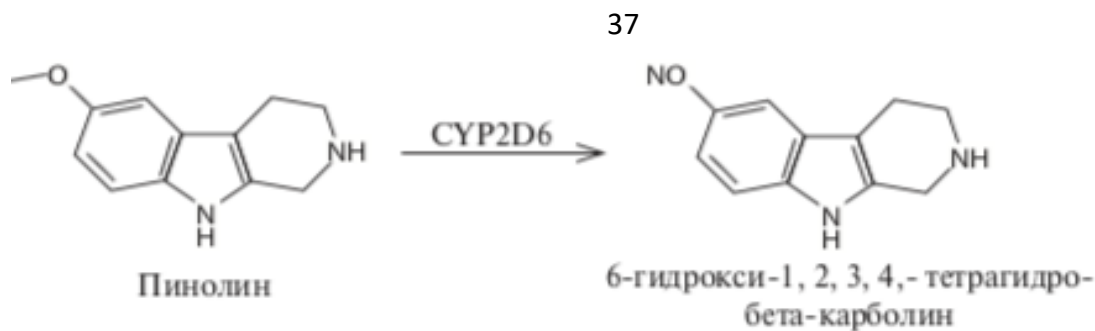


Рисунок 1.6.1. Метаболизм пинолина посредством изофермента CYP2D6

Исследователи американского университета изучили возможности применения пинолина для определения активности CYP2D6 и изучили *in vitro*, как степень воздействия вышеуказанного изофермента на O-деметилирование пинолина. Дополнительно было проведено изучение функциональных различий между однонуклеотидными полиморфизмами CYP2D6*1, CYP2D6*2, CYP2D6*10. Для определения роли изофермента CYP2D6 в биотрансформации вышеуказанного эндогенного субстрата проводились исследования ингибирования, фармакокинетики и корреляции. Исследования дали результаты, свидетельствующие, что изоформа со сниженной функцией, CYP2D6*10, не активна по отношению к пинолину. Однако, при воздействии изоформ с нормальной функцией, CYP2D6*1 и CYP2D6*2, происходило образование 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-бета-карболина. Необходимо отметить, что каталитическая активность была выше у полиморфизма CYP2D6*1, чем у CYP2D6*2 [84,131]. Кроме того, факт селективности изофермента к субстрату доказывает блокировка O-деметилирования пинолина при добавлении хинидина (ингибитора CYP2D6) [1].

Проведенные позже испытания *in vivo* на мышах [69] реализовывалось для контроля и подтверждения итогов исследования *in vitro* для сравнения активности изофермента CYP2D6 у мышей дикого типа и Tg-CYP2D6 («медленные» метаболизаторы). Полученные данные *in vitro* получились аналогичными. Основываясь на полученных результатах, был сделан вывод, что у подопытных животных O-деметилирование реализуется на фоне воздействия изофермента CYP2D6. В данном случае, моча подходит как биообъект для пробы. Причина в том, что данная биологическая жидкость выводит большую часть метаболита пинолина

из организма [84]. У мышей Tg-CYP2D6 активность изофермента была ниже, чем у мышей дикого типа [1].

Известно, что маркерными субстратами, которые используются для фенотипирования цитохрома CYP2D6, считаются дебризохин, декстрометорфан и спартеин.

Alvan G и соавт. [58] сообщили о пациенте, который имел очень высокую концентрацию тимолола малеата в плазме крови после системного применения препарата. Кроме того, у этого пациента также был отмечен дефицит фермента катализирующего дибризохин, это указывало на то, что пациент был «медленным» метаболитом. Спустя несколько лет этот вывод был подтвержден в двух клинических исследованиях у здоровых добровольцев [89, 97].

Тимолол используется при лечении глаукомы у беременных. Он проникает через плацентарный барьер довольно легко, потому что является липофильным соединением [66]. В двух ретроспективных исследованиях не было установлено никаких изменений со стороны беременных или их плодов [65,99]. *Wagenvoort с соавторами* [123] сообщили о беременной женщине, которая использовала офтальмологический 0,5% тимолола малеат. Она не практиковала окклюзию слезных канальцев после инстилляций тимолола. У плода, как сообщается, развилась брадикардия - 74 удара в минуту (ЧСС в норме 130 ударов в минуту) на 21 неделе беременности. После чего концентрация тимолола малеата была снижена до 0,25%, затем препарат был отменен, и частота сердечных сокращений плода нормализовалась. Новорожденному было проведено генотипирование по гену CYP2D6, он оказался «быстрым» метаболитом. Тем не менее, авторы предполагают, что способность плода к метаболизму тимолола может происходить только в течение последнего триместра беременности [82,116]

В последнее время возросло местное применение тимолола малеата для лечения младенческих гемангиом [68,109]. *Weibel L. с соавторами* [125] обнаружили, что у 3 младенцев (из 40 пациентов) гемангиома продолжает расти, несмотря на местное

лечение тимололом. У этих пациентов был зафиксирован низкий уровень тимолола в плазме крови (0,16 нг/мл). Это может указывать на то, что эти дети относились к группе «быстрых» метаболизаторов тимолола. Кроме того сообщалось, что в этом исследовании ни у одного младенца не была зафиксирована брадикардия, что может свидетельствовать о том, что риск сердечных побочных эффектов является довольно низким у данной группы пациентов.

Nieminen T. с соавторами [103], оценивали фармакогенетику и фармакокинетику пациентов (генотип и фенотип) волонтеров и пациентов с ПОУГ, принимающих тимолола малеат. В результате своего исследования ученые установили, что после инстилляций данных антиглаукомных капель, большие концентрации тимолола в плазме, наблюдаются именно у «медленных» метаболизаторов (CYP2D6*3, CYP2D6*4, CYP2D6*5). Они сделали вывод, что пациенты, относящиеся к «медленным» метаболизаторам, имеют повышенный риск развития побочных реакций, таких как развитие брадикардии. Так же, эти исследователи установили, что ЧСС достоверно коррелируется с концентрацией тимолола в крови пациентов. Но исследование было не слишком репрезентативно, потому что в нем участвовали всего 38 человек.

Очевидно, что эффективность и безопасность терапии тимололом зависят от индивидуальных особенностей пациента, в связи чем его использование требует персонального подхода к каждому больному. Такой персонализированный подход к назначению лекарственных средств поможет спрогнозировать терапевтический эффект препарата и уменьшить риск развития нежелательных лекарственных реакций. Местное применение тимолола может вызвать серьезные нарушения функции сердца, особенно у пожилых пациентов, у которых отсутствует функциональный фермент CYP2D6, особенно при одновременном применении ингибиторов CYP2D6 [94]. При проведении фармакогенетических исследований антиглаукомных препаратов ученые ориентировались только на показатели ВГД. Глаукома- это прежде всего прогрессирующая нейропатия зрительного нерва, а не только заболевание, связанное с повышением ВГД и нарушением оттока водянистой

влаги [31]. Исследования, которые проводились в данной области, имеют неоднозначные результаты, которые не дают полного описания всем сложным метаболическим процессам, которые проходит тимолола малеат в организме человека. Кроме того, существует множество неизученных полиморфных маркеров гена *CYP2D6*, которые могут потенциально влиять на показатели эффективности и безопасности тимолола малеата. Опубликованные ранее исследования в этой области не описывают цельную картину взаимосвязи между однонуклеотидными полиморфизмами *CYP2D6* и значениями показателей фармакокинетических характеристик тимолола малеата. В связи с этим, необходимо проведение дальнейших исследований для более подробного изучения влияния полиморфизмов *CYP2D6* на фармакокинетику и фармакодинамику тимолола малеата.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Клинические исследования проводились на кафедре офтальмологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава Российской Федерации, в Московском городском офтальмологическом центре ГБУЗ ГКБ им С.П. Боткина ДЗМ. Фармакогенетические исследования были выполнены сотрудниками сектора молекулярно-биологических исследований НИИ Молекулярной и Персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ к.б.н., заведующей сектором Гришиной Е.А., м.н.с. Созаевой Ж.А., м.н.с. Качановой А.А., м.н.с. Акмаловой К.А. Фенотипирование проведено в лаборатории клинической фармакологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России заведующим лабораторией, к. фарм. н. Смирновым В.В.

3.1. Клиническая характеристика обследованных больных

Клинические исследования выполнены у 105 больных (176 глаз) с впервые выявленной открытоугольной глаукомой, находившихся на обследовании и лечении в ГБУЗ "Городская клиническая больница им. С.П. Боткина ДЗМ" с 2016 по 2019 года. Пациенты подразделялись по стадиям заболевания, виду лечения и по виду полиморфизма. В исследовании приняли участие 57 (54%) женщин и 48 (46%) мужчин. Возраст пациентов составлял от 43 до 81 год, в среднем $66,17 \pm 7,17$ лет. Возрастная структура пациентов распределена на подгруппы согласно классификации ВОЗ (Таблице 2.1.1).

Таблица 2.1.1.

Возрастная структура пациентов, включенных в исследование.

Возраст (лет)	Средний возраст (M±m)	Количество пациентов	Количество пациентов (%)
18-44	42,5±0,7	2	1,9
45-59	56,2±4	12	11,4
60-74	66,9±3,7	81	77,14
75-90	78,3±2,5	10	9,5

Практически 68 % пациентов 61-70 лет, что соответствует выявлению первичной открытоугольной глаукомы в среднем в популяции.

Все пациенты с первичной открытоугольной глаукомой были разделены на стадии глаукомы: начальная у 98 пациентов (93,3%), развитая у 7 пациентов (6,7%) (Рисунок 2.1.1.). Терминальная стадия глаукомы включена в исследование не была ввиду редкой встречаемости при первичной постановке диагноза и низкий зрительный функциях.

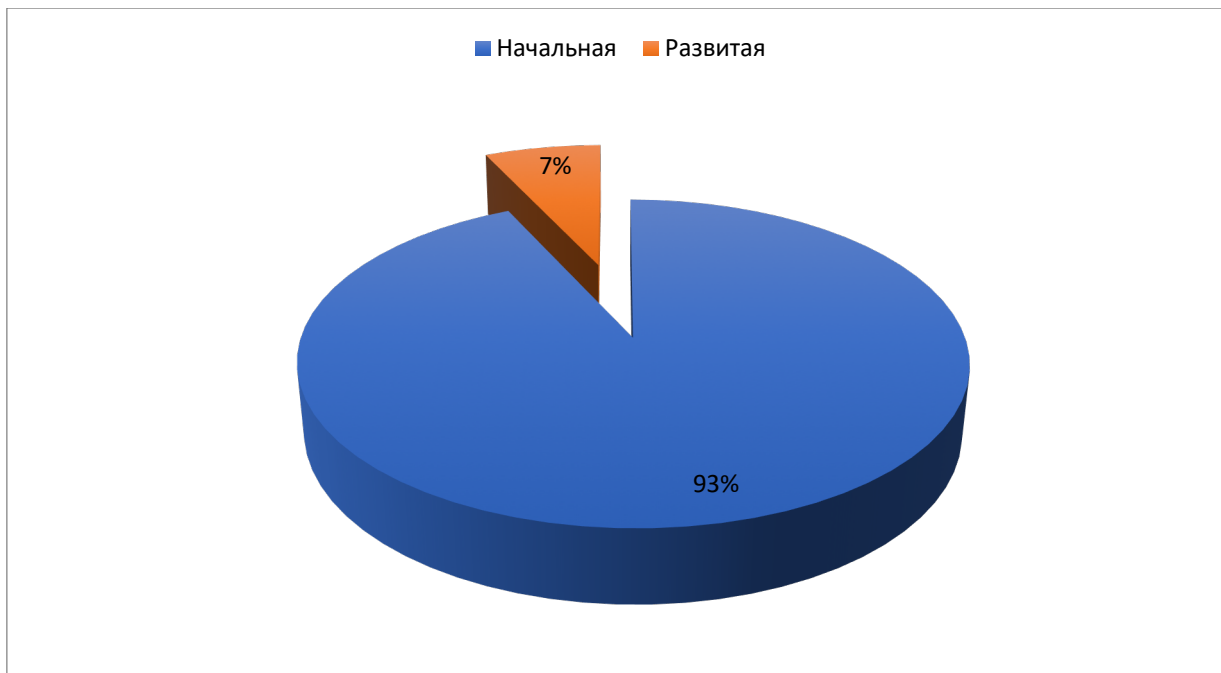


Рисунок 2.1.1. Распределение пациентов в зависимости от стадии глаукомы.

Критерии включения:

1. Подтвержденный диагноз первичной открытоугольной глаукомы.
2. Возраст пациентов старше 40 лет.

Критериями невключения являлись:

1. Острота зрения ниже 0,1, вследствие невозможности проведения исследования статической периметрии Humphrey.
2. Далекозашедшая и терминальные стадии глаукомы.
3. Выраженная системная патология (патология печени, почек, сердечно-сосудистой, нервной системы).
4. Психические расстройства (деменция, шизофрения, депрессивное расстройство, эпилепсия, биполярное расстройство и т.п.).
5. Продукты ингибирующих изофермент CYP2D6 (грейпфрутовый сок и др.) исключены из рациона питания пациентов.
6. Наличие противопоказаний к применению тимолола малеата (регламентированы в утвержденной МЗ РФ инструкции по медицинскому применению) бронхиальная астма, синусовая брадикардия, АВ-блокада II и III степени, острая и хроническая сердечная недостаточность, кардиогенный шок, дистрофические заболевания роговицы, ринит, повышенная чувствительность к компонентам лекарства.
7. Наличие противопоказаний к применению биматопроста (регламентированы в утвержденной МЗ РФ инструкции по медицинскому применению): бронхиальная астма, ХОБЛ, синусовая брадикардия, АВ-блокада II и III степени, острая и хроническая сердечная недостаточность, кардиогенный шок, повышенная чувствительность к компонентам лекарства, беременность и период

кормления грудью.

8. Наличие противопоказаний к применению бринзоламида (регламентированы в утвержденной МЗ РФ инструкции по медицинскому применению): бронхиальная астма, ХОБЛ, синусовая брадикардия, АВ-блокада II и III степени, острая и хроническая сердечная недостаточность, кардиогенный шок, повышенная чувствительность к компонентам лекарства, беременность и период кормления грудью, почечная недостаточность тяжелой степени (клиренс креатинина менее 30 мл/мин).
9. Одновременный прием препаратов, ингибиторов CYP2D6 (амиодарон, пароксетин, флуоксетин, кломипрамин, хинидин, пропafenон).
10. Одновременный прием системных бета-адреноблокаторов, препаратов урежающих ЧСС (блокаторы кальциевых каналов (верапамил, дилтиазем), сердечные гликозиды и др.) и удлиняющих интервал PQ (сердечные гликозиды и др.).

Таблица 2.1.3.

Сопутствующие заболевания у пациентов, инстиллирующих неселективный бета-адреноблокатор при лечении ПОУГ.

Сопутствующие заболевания	Количество пациентов	
	Абсолютное число	%
Гипертоническая болезнь	84	80
Ишемическая болезнь сердца (ИБС)	50	47,6
Сахарный диабет II типа	14	13,3
Дисциркуляторная энцефалопатия	54	51,4
Хроническая варикозная болезнь нижних конечностей	57	54,2
Хронический гастрит	20	19

Таблица 2.1.4.

Лекарственные препараты, применяемые пациентами с ПОУГ при сопутствующих заболеваниях

Сопутствующая лекарственная терапия	Количество пациентов	
	Абсолютное число	%
Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ)	83	79
Статины	50	47,6
Блокаторы рецепторов ангиотензина II (БРА)	5	4,8
Гипогликемическое средство группы бигуанидов	14	13,3
Антиагреганты	61	58
Флеботропные средства (флавоноиды)	20	19
Ингибиторы протонного насоса	15	14,2

Таблица 2.1.5.

Дизайн исследования

Вид исследования	Время исследования			
	1 день	14 дней	1 месяц	6 месяцев
Тонометрия по методу Маклакова	+	+	+	+
Пневмотонометрия	+	+	+	+
Статическая периметрия Humphrey	+		+	+
Тонография	+		+	+
Визометрия	+			
Гониоскопия	+			
Пахиметрия	+			
Биомикроскопия переднего отрезка и глазного дна	+			+
ЭКГ	+		+	+
Забор крови для проведения генотипирования <i>CYP2D6*4 (1846G>A)</i> и <i>CYP2D6*10 (100 C>T)</i>		+		
Сбор мочи для проведения фенотипирования <i>CYP2D6</i>		+		

Всем пациентам был назначен в качестве гипотензивной терапии 0,5% тимолола малеат. Через 2 недели при не достижении целевого уровня индивидуального давления соответственно стадии, препарат заменяли на ФК, содержащую 0,5% тимолола малеат. К этим препаратам относились: ФК биматопрост 0,003%/тимолол 0,5%, ФК бринзоламид 1%/тимолол 0,5%. (Таблица 5). Препарат назначался, учитывая сопутствующие заболевания, аллергоanamнез, внутриглазное давление и показатели тонографии (Таблица 2.1.4., Рисунок 2.1.4.).

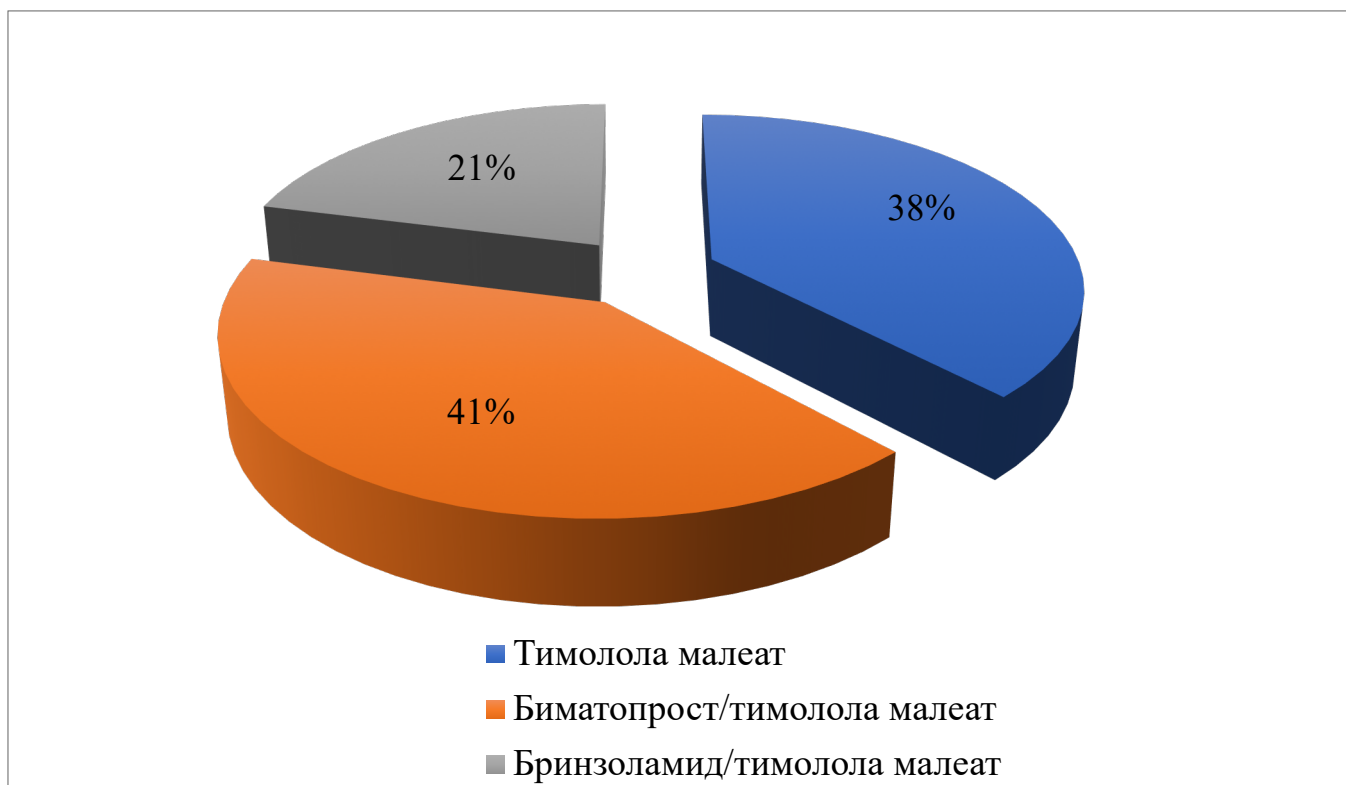


Рисунок 2.1.2. Распределение пациентов в зависимости от назначаемых препаратов.

Таблица 2.1.6.

Распределение назначаемых антиглаукомных препаратов между пациентами с ПОУГ.

Название препарата	Абсолютное число (количество глаз)	Процентное соотношение (%)
Тимолола малеат	66	38
ФК биматопрост/тимолола малеат	73	41
ФК бринзоламид/тимолола малеат	37	21

2.2. Методы обследования пациентов

2.2.1. Сбор данных анамнеза и клинико- диагностических данных

Сбор анамнестических и клинико-диагностических данных проводился с анализом сопутствующих заболеваний и факторов риска развития ПОУГ. У пациентов учитывалась следующие факторы: отягощенный по ПОУГ семейный анамнез, миопия высокой степени, тонкая роговица, курение, длительный прием стероидов, гипертоническая болезнь, сахарный диабет, гипертоническая болезнь, курение, высокий индекс массы тела, мигрень.

2.2.2. Стандартные методы офтальмологического обследования

При обследовании пациентов применяли стандартные офтальмологические методы, применяемы для диагностики и динамическом наблюдении пациентов с глаукомой:

1. Рефрактометрия «Canon» (Full Auto Refkeratometer RK-F1),
2. Визометрию проводили по стандартной методике с использованием проектора знаков опто типов "Tomey (TCP-1000)" и стандартного набора стекол.
3. Тонометрию осуществляли пневмотонометром «Huvitz» (HNT-7000)
4. Биомикроскопию переднего отдела проводили на щелевой лампе «Carl Zeiss» (SL-115 Classic). Биомикроскопию стекловидного тела, офтальмоскопию сетчатки и зрительного нерва выполняли с помощью бесконтактной линзы +60 D (Volk) на щелевой лампе.
5. Гониоскопия, исследование угла передней камеры глаза, проводилась по стандартной методике с использованием трехзеркальной линзы Гольдмана (Volk, США) при 10-кратном увеличении щелевой лампы «Carl Zeiss» (SL-115 Classic).
6. Пахиметрия проводилась на аппарате Ultrasonic A/B Scanner UD – 6000 TOMЕУ.

2.2.3. Специальные офтальмологические методы обследования

Тонография была проведена при помощи тонометра ТНЦ-100 (НПО «СПЕЦМЕДПРИБОР», Россия. Прибор позволяет оценить истинное внутриглазное давление и гемодинамику глаза путем определения величины перемещения роговицы под действием прикладываемой массы подвижного плунжера датчика. Основным показателем гемодинамики глаза, который анализировался был С (коэффициент легкости оттока).

Статическая автоматическая периметрия проводилась при помощи периметра Humphrey Field Analyzer II 750i (Carl Zeiss, Германия), признанный «золотым стандартом» периметрии. Для исследования поля зрения использовался режим 30-2. В соответствии со стандартами, яркость поверхности полусферы, служащей для предъявления тестовых объектов, составляет 31,5 апостильба, яркость тестового объекта (стимула) - изменяется в диапазоне от 0,08 до 10 000 апостильбов, а его размер (диаметр) – от 1 до 5 мм (I-V).

2.2.4. Инструментальные методы обследования

Электрокардиография осуществлялась на приборе «АКСИОН» (ЭКЗТЦ-3/6-04), акцент делали на измерение частоты сердечных сокращений и интервала PQ.

Измерение **артериального давления** выполнялось при помощи прибора AND (UA-777).

2.2.5. Определение полиморфизмов *1846G>A (rs3892097)* и *100C>T (rs1065852)* гена *CYP2D6*

Фармакогенетические исследования были выполнены сотрудниками сектора молекулярно-биологических исследований НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ д.б.н., директор, ведущий научный сотрудник отдела молекулярной медицины Гришиной Е.А., м.н.с. Созаевой Ж.А., м.н.с. Качановой А.А., м.н.с. Акмаловой К.А.

Биологическим материалом, для экстракции геномной ДНК, являлось 4-6 мл венозной крови, забор которой осуществлялся через 14 дней после начала терапии из локтевой вены в вакуумную пробирку VACUETTE® (GreinerBio-One, Австрия), содержащую ЭДТА-К2 или ЭДТА-К3. Образцы хранились при -80°C вплоть до момента экстракции ДНК. Выделение геномной ДНК из цельной крови осуществлялось с помощью коммерческого набора «S-Сорб» для выделения ДНК на кремниевом сорбенте (ООО «НПФ Синтол», Россия). Выделенная ДНК была заморожена при -80 С и в дальнейшем использована для генотипирования. Количество и качество экстрагированной ДНК тестировалось с помощью спектрофотометра для микрообъемов NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, США).

В исследовании было осуществлено определение носительства полиморфных маркеров *CYP2D6*4* (*G1846A*, *rs3892097*), *CYP2D6*10* (*C100T*, *rs1065852*) с помощью коммерческих наборов реагентов для определения соответствующих полиморфизмов (ООО «НПФ Синтол», Россия). Каждый набор реагентов включал в себя положительные контроли на каждый генотип и отрицательный контроль. Определение однонуклеотидных генетических полиморфизмов проводилось методом аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени на детектирующем амплификаторе CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США). Согласно инструкции производителя в каждую пробу вносилось: 2.5×Реакционная смесь – 10 мкл, 2.5×Разбавитель – 10 мкл, Taq ДНК-полимераза, 5 Е/мкл – 0,5 мкл и по 5 мкл ДНК исследуемого образца. Программа амплификации включала в себя этап инкубации при 95°C в течение 3 минут, затем денатурация при 95°C - 15 секунд и отжиг при 63°C - 40 секунд в течение 39 циклов. Сигнал флуоресценции развивался по соответствующему каналу: FAM и HEX.

Результаты анализа по определению однонуклеотидного генетического полиморфизма *1846G>A* гена *CYP2D6* (*rs3892097*), позволяют сделать следующие выводы: нормальная гомозигота с генотипом *GG* («дикий» генотип), гетерозиготное носительство однонуклеотидного полиморфизма с генотипом *GA*, гомозиготное

носительство однонуклеотидного полиморфизма с генотипом *AA*. Результаты анализа по определению однонуклеотидного генетического полиморфизма *100C>T* гена *CYP2D6* (*rs1065852*), позволяют сделать следующие выводы: нормальная гомозигота с генотипом *CC* («дикий» генотип), гетерозиготное носительство однонуклеотидного полиморфизма с генотипом *CT*, гомозиготное носительство однонуклеотидного полиморфизма с генотипом *CC*. В зависимости от этих результатов пациенты были отнесены к группе «быстрых», «медленных», «промежуточных» или «распространенных» метаболизаторов.

2.2.6. Фенотипирование CYP2D6. Определение концентрации 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-бета- карболина и пинолина в моче у обследованных больных

Фенотипирование проведено в лаборатории клинической фармакологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России заведующим лабораторией, к. фарм. н. Смирновым В.В. Эндогенное вещество пинолин подвергается О-деметилированию микросомами печени с образованием метаболита 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-бета-карболина (6-НО-ТНВС). Эта биотрансформация преимущественно катализируется изоферментом цитохрома P450 2D6. Активность CYP2D6 оценивали по отношению концентрации метаболита пинолина (6-НО-ТНВС) к концентрации пинолина в моче пациентов [1]. Так как пинолин считается специфическим субстратом CYP2D6, то становится возможным с помощью расчета метаболического отношения концентраций его и его метаболита (С6-НО-ТНВС/СР) оценить активность CYP2D6: высокие значения показателя отношения означают высокую активность изофермента, низкие – низкую активность.

2.2.6.1. Подготовка проб

Процесс подготовки был проведен стандартным способом, методом твердофазной экстракции (ТФЭ), для чего использовалась целая серия проб, в которых было заранее известно содержание исследуемого вещества. Затем активировали сорбент, далее переносили пробы в специальное оборудование –

картридж C18 для ТФЭ, соединенный с насосом, работающим по принципу вакуума. Был использован метанол в объеме 2 мл, а также чистый дистиллят, 1 мл и боратный буфер, 2 мл, с рН 9,6.

В уже активированный картридж поэтапно начали добавлять: 500 мкл пробы, 1 мл воды, 1 мл смеси ацетонитрил (пропорции с водой 10 : 90). Процесс элюирования реализовывался смесью триэтиламина в метаноле 0,5 мл 0.1 %. Вещество, которое в итоге получалось – элюат, подвергалось выпариванию до сухого остатка, который далее был смешан в муравьиной кислоте 1 %, в количестве 100 мл и водной среде.

2.2.6.2 Хроматографическое исследование проб

Для исследования был выбран метод обращеннофазной высокоэффективной жидкостной хроматографии с квадрупольным масс-спектрометрическим детектором, поскольку является достаточно чувствительным и специфичным.

Вещества, которые подвергаются изучению, относятся к полярным, ароматическим и проявляют основные свойства. При их исследовании, определили, что в данном случае наиболее селективны колонки с сорбентом C18. Для проведения исследования применялась предколонка Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 12,5 x 2,1 мм, 5 мкм и колонку Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 RRHD 100 x 2,1 мм, 1,8 мкм.

Были подобраны следующие хроматографические условия: Хроматограф: Agilent 1290 Infinity. Предколонка: Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 12,5 x 2,1 мм, 5 мкм. Колонка: Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 RRHD 100 x 2,1 мм, 1,8 мкм

Температура колонки: (50 ± 1) °C.

Скорость потока: 0,4 мл/мин

Детектирование: метод ионизации – электроспрей (ESI) в положительной полярности

Объем пробы: 5 мкл

Ориентировочные времена удерживания:

- 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-β-карболин – 1,1 мин
- пинолин – 5,0 мин

– галантамин – 2,4 мин

Время хроматографирования: 14 мин

Подвижная фаза: Элюент А: 5 мМ аммония формиата и 0,01 % муравьиной кислоты в воде. Элюент В: 0,01 % муравьиной кислоты в ацетонитриле.

2.2.7. Статистическая обработка результатов исследования

Расчет размера выборки производился с использованием пакета `rwt` языка статистического программирования R, в варианте сборки от Microsoft R Application Network R версии 3.3.2 (2016-10-31) с установленным пакетом `checkpoint` для контроля версий используемых статистических пакетов. Для программирования использовалась среда разработки R Studio версии 1.0.136. Расчет производился на основе данных, полученных в ранее проведенном исследовании [127,129].

Когда происходил подбор метода статистической обработки результатов исследования, принималась во внимание нормальность распределения выборок, которую оценивали с помощью W-теста Шапиро-Уилка (Shapiro-Wilk's W-test) и однородность дисперсий с помощью двухстороннего критерия Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ (при статистической мощности $> 80\%$). Доверительный интервал представляет собой интервал значений, в пределах которого с вероятностью 95% находится ожидаемое значение рассматриваемого параметра. Для сравнения двух выборок количественных данных использовали t-тест Стьюдента и его непараметрический аналог U-тест Манна-Уитни (Mann-Whitney U- test).

Сравнение качественных признаков производилось с использованием критерия χ^2 Фишера (Fisher's Chi-square test). Для определения корреляции между количественными характеристиками вычисляли коэффициент ранговой корреляции Спирмена (Spearman rank R). Значение коэффициента корреляции r от 0,3 до 0,7 при

$p < 0,05$ означал положительную умеренную, но достоверную корреляцию между признаками; $r > 0,7$ при $p < 0,05$ – сильную и достоверную связь; обратной корреляции соответствовало отрицательное значение r .

Анализ мощности показал, что размер выборки в 105 пациентов (176 глаз) является достаточным для минимизации ошибки 2-го рода ($< 0,2$).

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.

3.1. Изучение частоты распределения генотипов по полиморфным вариантам гена *CYP2D6* (1846G>A) и (100C>T) у пациентов с ПОУГ, применяющих препараты, содержащие 0,5 % тимолола малеат

По итогам проведенного генотипирования *CYP2D6* по полиморфному маркеру *1846G>A* у 105 пациентов с диагнозом ПОУГ, было получено следующее распределение:

- Число пациентов, с генотипом *GG* - 64 (61,0%);
- Число пациентов, с генотипом *GA* - 41 (39,0%);
- Пациенты с генотипом *AA* не выявлены.

Распределение генотипов не соответствовало закону Харди-Вайнберга (результат теста $\chi^2 = 6,20$; $p\text{-value} = 0,01$). Вероятно, причина этого в том, что в исследуемой группе, довольно высокая степень этнической гетерогенности.

По итогам проведенного генотипирования *CYP2D6* по полиморфному маркеру *100C>T* у 105 пациентов с диагнозом ПОУГ, было получено следующее распределение:

- Число пациентов, с генотипом *CC* - 65 (62,0%);
- Число пациентов, с генотипом *CT* составило - 40 (38,0%);
- Пациенты с генотипом *TT* не выявлены.

Распределение генотипов соответствовало закону Харди-Вайнберга (результат теста $\chi^2 = 0,008$; $p\text{-value} = 0,92$).

3.2. Изучение ассоциации между эффективностью и безопасностью терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6*

Сопоставив данные оценки эффективности и безопасности при терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6*, с помощью непараметрического U-теста Манна-Уитни, можно сказать, что по клиническим характеристикам исследуемых пациентов данные группы являются сопоставимыми до начала терапии, включающей неселективные бета-адреноблокаторы (Таблица 3.2.1.а и 3.2.1.б).

Таблица 3.2.1.а

Данные офтальмологического обследования пациентов, с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* до начала антиглаукомной терапии

Показатель	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	р	Группа <i>CYP2D6</i> <i>100C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>100C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	р
ВГД (P0), мм рт ст	26,55±1,99	26,32±2,05	0,63	26,52±1,98	26,32±2,08	0,752
MD,dB	-3,98±1,88	-4,07±2,45	0,805	-3,95±1,90	-4,11±2,46	0,968
PSD,dB	3,67±1,59	3,72±1,95	0,665	3,64±1,61	3,81±1,94	0,915
С, ммЗ/мин/мМ	0,09±0,031	0,09±0,037	0,832	0,09±0,03	0,09±0,02	0,984

Таблица 3.2.1.б

Данные инструментальных методов обследования, с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* до начала антиглаукомной терапии

Показатель	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	р	Группа <i>CYP2D6 100</i> <i>C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	Группа <i>CYP2D6 100C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	р
PQ, с.	0,14±0,02	0,14±0,01	0,667	0,14±0,02	0,14±0,01	0,591
ЧСС, уд. в мин.	75,28±7,5	76,83±7,05	0,287	75,23±7,51	77,15±6,92	0,188
АД систол., мм рт ст	132,27±8,77	134,15±10,54	0,359	132,34±8,77	134,38±10,45	0,349
АД диастол., мм рт ст	78,44±5,7	76,59±5,96	0,17	78,52±5,68	76,38±5,99	0,098

Анализ этих же переменных, но через 1 и 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии, выявил статистически значимые различия между двумя генотипами в отношении интервала PQ (р value <0,05) (Таблицы 3.2.2.а, 3.2.2.б, 3.2.3.а и 3.2.3.б).

Таблица 3.2.2.а

Данные оценки эффективности при терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6 A* через месяц после начала антиглаукомной терапии

Показатель	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	р	Группа <i>CYP2D6</i> <i>100C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>100C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	р
ВГД (P0), мм рт ст	18,64±2,24	18,68±2,10	0,847	18,66±2,26	18,68±2,10	0,813
MD, dB	-3,72±2,06	-3,93±2,47	0,895	-3,71±2,06	-3,94±2,49	0,886
PSD, dB	3,59±1,63	3,54±1,87	0,474	3,56±1,63	3,62±1,87	0,794
С, ммЗ/мин/м м	0,14±0,04	0,14±0,03	0,578	0,14±0,04	0,14±0,03	0,578

Таблица 3.2.2.б

Данные оценки безопасности (системных эффектов) при терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, с полиморфизмами

**1846G>A и 100C>T гена CYP2D6 через месяц после начала антиглаукомной
терапии**

Показатель	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	p	Группа <i>CYP2D6</i> <i>100C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>100C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	p
РQ, с.	0,15±0,021	0,16±0,023	0,004	0,15±0,022	0,16±0,024	0,013
ЧСС, уд.в мин.	72,41±7,65	70,39±7,04	0,170	72,30±7,64	70,72±7,10	0,289
АД систол., мм рт ст	129,35±7,29	132,20±9,69	0,172	130,16±7,6 6	132,38±9,4 7	0,537
АД диастол., мм рт ст	73,89±5,50	73,54±5,27	0,955	77,38±5,58	77,00±5,41	0,766

Таблица 3.2.3.а

Данные оценки эффективности при терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* через 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии

Показатель	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	p	Группа <i>CYP2D6 10</i> <i>0C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	Группа <i>CYP2D6 10</i> <i>0C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	p
ВГД (P0), мм рт ст	17,16±2,67	17,05±2,28	0,458	17,11±2,66	17,12±2,32	0,707
MD,dB	-3,83±2,03	-3,85±2,46	0,670	-3,83±2,03	-3,85±2,49	0,624
PSD,dB	3,48±1,63	3,46±1,90	0,552	3,48±1,63	3,46±1,90	0,552
С, мм3/мин/мм	0,16±0,042	0,16±0,045	0,833	0,16±0,041	0,16±0,043	0,819

Таблица 3.2.3.б

Данные оценки безопасности при терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, с полиморфизмами 1846G>A и 100C>T гена CYP2D6 через 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии

Показатель	Группа CYP2D6 1846G>A (генотип GG) N=64 (61%)	Группа CYP2D6 1846G>A (генотип GA) N=41(39%)	p	Группа CYP2D6 100C>T (генотип CC) N=65 (62%)	Группа CYP2D6 100C>T (генотип CT) N=40(38%)	p
РQ, с.	0,15±0,021	0,15±0,025	0,004	0,15±0,023	0,16±0,021	0,016
ЧСС, уд.в мин.	71,25±7,58	68,95±6,02	0,089	71,14±7,57	69,30±6,06	0,176
АД систол., мм рт ст	130,00±7,66	132,56±9,30	0,348	129,35±7,29	132,50±9,61	0,115
АД диастол., мм рт ст	77,30±5,51	77,20±5,48	0,980	73,89±5,50	73,38±5,24	0,831

В доступной нам литературе не были найдены работы, в которых отмечались статистически значимые различия между полиморфизмами 1846G>A и 100C>T гена CYP2D6 и показателем PQ. Yang Y. и соавт. дважды проводили исследования, в которых было установлено, что чувствительность к тимололу малеату зависит от полиморфизма rs16947 гена CYP2D6. Этими исследователями было доказано, что у пациентов с генотипом TT, которые являются «медленными» метаболиторами, вероятность развития тимолол-индуцированной брадикардии выше, чем у пациентов с генотипом CC («быстрые» метаболиторы) [127,129]. Исходя из описания их исследований, оценка длительности интервала PQ не была проведена.

3.2.1. Оценка ассоциации между показателями ВГД и полиморфизмами 1846G>A и 100C>T гена CYP2D6 при динамическом наблюдении у пациентов, инстиллирующих препараты содержащие 0,5% неселективные бета-адреноблокаторы в течение 6 месяцев.

Для выявления ассоциации между уровнем снижения ВГД и генотипами *rs3892097* и *rs1065852* пациенты были разделены на группы по уровню снижения ВГД. Первая группа- пациенты, уровень ВГД, у которых снизился больше, чем на 20% от исходного на глазах с глаукомой. Вторая группа-пациенты, у которых уровень ВГД не достиг снижения 20%. Необходимо отметить, что в случае, когда у пациента были поражены глаукомой оба глаза, и хотя бы на одном из них ВГД не снижалось до вышеуказанного значения, этот человек причислялся ко второй группе. Анализ вышеуказанных данных не выявил статистически значимой разницы между группами сравнения (таблица 3.2.1.1).

Таблица 3.2.1.1

Распределение пациентов с ПОУГ в зависимости от полиморфизмов *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6*, разделенных на две группы по степени снижения ВГД.

Генотип	Через 1 месяц			Через 6 месяцев		
	Пациенты, у которых уровень ВГД снизился >20%, N (%)	Пациенты, у которых уровень ВГД снизился <20%, N (%)	p	Пациенты, у которых уровень ВГД снизился >20%, N (%)	Пациенты, у которых уровень ВГД снизился <20%, N (%)	p
GG	57(54,2%)	7(6,6%)	0,352	62(59%)	2(1,9%)	0,793
GA	35(33,3%)	6(5,7%)		39(37,1%)	2(1,9%)	
CC	57(54,2%)	8(7,6%)	0,424	63(60%)	2(1,9%)	0,816
CT	35(33,3%)	5(4,8%)		38(36,2)	2(1,9%)	

Было проведено сравнение разности между средними значениями уровня ВГД в группах пациентов с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* с помощью непараметрического метода Манна-Уитни (Таблица 3.2.1.2). Анализ средних значений переменных через месяц и шесть месяцев после назначенной терапии не выявил статистически значимой разницы между группами (Таблица 3.2.1.2).

Таблица 3.2.1.2

Ассоциация между средним уровнем снижения ВГД у пациентов с открытоугольной глаукомой, получавших препараты, содержащие 0,5%

**тимолола малеат, с генотипами по полиморфным маркерам генов *CYP2D6*
(1846G>A) и (100C>T)**

Гено-тип	Через 1 месяц				Через 6 месяцев			
	Уровень снижения ВГД, N	p	Уровень снижения ВГД, (%)	p	Уровень снижения ВГД, N	p	Уровень снижения ВГД, (%)	p
GG	8,17±2,8	0,381	30,61±9,23	0,393	9,43±3,14	0,802	35,35±10,35	0,784
GA	7,79±2,59		29,44±8,51		9,30±2,64		35,31±9,26	
CC	8,14±2,80	0,387	30,50±9,26	0,438	9,44±3,13	0,983	35,38±10,30	0,918
CT	7,76±2,59		29,42±8,55		9,24±2,68		35,17±9,44	

Была проанализирована взаимосвязь между уровнем снижения ВГД, назначаемым препаратом и полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* с помощью непараметрического метода Манна-Уитни (Таблица 3.2.1.3).

Таблица 3.2.1.3

**Ассоциация уровня снижения ВГД у пациентов с открытоугольной
глаукомой, получавших препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат, с
полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6*, через 1 и 6 месяцев после
начала лечения**

Препарат		Уровень снижения ВГД через месяц, абсолютн. значение	p	Уровень снижения ВГД через месяц, %	p	Уровень снижения ВГД через 6 месяцев, абсолютн. значение	p	Уровень снижения ВГД через 6 месяцев, %	p
Тимолола малеат	<i>G</i>	6,56±2,09	0,468	25,52±7,56	0,246	7,60±2,06	0,566	29,70±7,69	0,339
	<i>G</i>	6,83±1,30		26,98±4,33		7,83±1,50		31,07±5,88	
	<i>A</i>								
	<i>C</i>	6,56±2,09	0,468	25,52±7,56	0,246	7,60±2,06	0,566	29,70±7,69	0,339
<i>C</i>	6,83±1,30	26,98±4,33		7,83±1,50		31,07±5,88			
ФК Биматопрост/Тимолола малеат	<i>G</i>	9,95±2,98	0,051	36,26±9,34	0,030	11,82±3,25	0,073	43,12±10,16	0,067
	<i>G</i>	8,56±3,08		31,54±10,35		10,38±2,88		38,47±10,30	
	<i>A</i>								
	<i>C</i>	9,83±3,04	0,087	35,85±9,6	0,030	11,78±3,22	0,089	43,01±10,06	0,109
<i>C</i>	8,59±3,15	31,71±10,59		10,34±3,03		38,46±10,84			
ФК Бринзоламид/Тимолола малеат	<i>G</i>	8,10±1,37	0,744	30,26±5,43	0,735	8,62±1,40	0,098	32,13±5,05	0,117
	<i>G</i>	7,6±2,53		28,79±8,37		9,25±2,52		35,10±9,00	
	<i>A</i>								
	<i>C</i>	8,10±1,37	0,744	30,26±5,43	0,735	8,62±1,40	0,098	32,13±5,05	0,117
<i>C</i>	7,62±2,53	28,79±8,37		9,25±2,52		35,10±9,00			
	<i>T</i>								

Полученные данные демонстрируют отсутствие статистически значимой связи между полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* и уровнем снижения ВГД при антиглаукомной терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат. Опираясь на данные таблицы 3.2.1.3, можно утверждать, что комбинация топического неселективного бета-адреноблокатора с другими препаратами, не влияет на статистическую связь между динамическим показателем ВГД и полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6*. Последнее утверждение еще раз доказывает, что простамины и ингибиторы карбоангидразы не метаболизируются ферментом *CYP2D6*, поэтому полиморфизм этого гена не будет влиять на их эффективность, т.е. на изменение ВГД.

3.2.2. Изучение взаимосвязи между показателями тонографии С (коэффициента легкости оттока) и F (минутный объем внутриглазной жидкости) и полиморфизмами 1846G>A и 100C>T гена CYP2D6 при динамическом наблюдении у пациентов, применяющих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат в течение 6 месяцев.

Мы сравнили показатель С до лечения, через месяц и через 6 месяцев полиморфизмами 1846G>A и 100C>T гена CYP2D6.

Таблица 3.2.2.1

Ассоциация между коэффициентом легкости оттока (С) у пациентов с ПОУГ и полиморфизмами 1846G>A и 100C>T гена CYP2D6, получавших препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат

Генотип		Через 1 месяц		Через 6 месяцев	
		С, ммЗ/мин/мм	р	С, ммЗ/мин/мм	р
rs3892097	GG	0,09±0,038	0,832	0,16±0,046	0,833
	GA	0,09±0,033		0,16±0,041	
rs1065852	CC	0,09±0,03	0,984	0,16±0,047	0,819
	CT	0,09±0,02		0,16±0,041	

Таблица 3.2.2.2

Ассоциация между разностью средних значений С и полиморфизмами 1846G>A и 100C>T гена CYP2D6 у пациентов с глаукомой через 1 и 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат

Генотип	Через 1 месяц		Через 6 месяцев	
	Уровень изменения С, ммЗ/мин/мм	р	Уровень изменения С, ммЗ/мин/мм	р
GG	0,06±0,04	0,451	0,07±0,043	0,563
GA	0,07±0,08		0,07±0,051	
CC	0,05±0,04	0,357	0,07±0,042	0,558
CT	0,07±0,08		0,07±0,054	

Таблица 3.2.2.3

Ассоциация между минутным объемом внутриглазной жидкости (F) у пациентов с ПОУГ и полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6*, получавших препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат

Генотип		Через 1 месяц		Через 6 месяцев	
		F, мм3/мин	p	F, мм3/мин	p
<i>rs3892097</i>	GG	1,05±0,050	0,846	0,91±0,46	0,519
	GA	1,07±0,36		0,97±0,45	
<i>rs1065852</i>	CC	1,03±0,48	0,432	0,90±0,46	0,405
	CT	1,11±0,39		1,00±0,44	

Сопоставление показателей тонографии, коэффициента легкости оттока и минутного объема внутриглазной жидкости, при проведении антиглаукомной терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, у пациентов с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6*, показало отсутствие статистически значимой разницы между группами сравнения.

3.2.3. Оценка ассоциации между индексами MD и PSD и полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* при динамическом наблюдении у пациентов, применяющих препараты, содержащие 0,5% неселективные бета-адреноблокаторы в течение 6 месяцев.

Мы сравнили индексы светочувствительности (MD и PSD) до лечения, через месяц и через 6 месяцев и разность их значений в динамике, с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6*.

Таблица 3.2.3.1

Взаимосвязь периметрического индекса MD при терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* до начала, через месяц и через 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии

Показатель	Уровень МД до лечения, dB	Уровень МД через месяц после начала лечения, dB	Уровень МД через 6 месяцев после начала лечения, dB
Группа <i>CYP2D6 1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	-3,98±1,88	-3,72±2,06	-3,83±2,03
Группа <i>CYP2D6 1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	-4,07±2,45	-3,93±2,47	-3,85±2,46
p	0,805	0,895	0,670
Группа <i>CYP2D6 100C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	-3,95±1,90	-3,71±2,06	-3,83±2,03
Группа <i>CYP2D6 100C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	-4,11±2,46	-3,94±2,49	-3,85±2,49
p	0,968	0,886	0,624

Таблица 3.2.3.2

Ассоциация между разностью средних значений периметрического индекса МД и полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* и у ПОУГ через 1 и 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат

Показатель	Через 1 месяц		Через 6 месяцев	
	Уровень изменения MD, dB	Уровень изменения MD, (%)	Уровень изменения MD, dB	Уровень изменения MD, (%)
Группа <i>CYP2D6 1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	-0,26±1,06	2,89±6,23	-0,22±1,25	4,53±6,89
Группа <i>CYP2D6 1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	-0,14±0,57	3,91±9,41	-0,22±0,61	6,12±9,45
p	0,950	0,823	0,410	0,530
Группа <i>CYP2D6 100C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	-0,24±1,09	1,55±3,39	-0,18±1,28	6,12±7,60
Группа <i>CYP2D6 100C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	-0,17±0,51	5,78±6,41	-0,26±0,53	8,54±9,46
p	0,731	0,910	0,253	0,331

Таблица 3.2.3.3

Взаимосвязь индекса PSD при терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* до начала, через 1 и через 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии

Показатель	Уровень PSD до лечения, dB	Уровень PSD через месяц после начала лечения, dB	Уровень PSD через 6 месяцев после начала лечения, dB
Группа <i>CYP2D6 1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	3,67±1,59	3,59±1,63	3,48±1,63
Группа <i>CYP2D6 1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	3,72±1,95	3,54±1,87	3,46±1,90
p	0,665	0,474	0,552
Группа <i>CYP2D6 100C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	3,64±1,61	3,56±1,63	3,46±1,63
Группа <i>CYP2D6 100C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	3,81±1,94	3,62±1,87	3,52±1,91
p	0,915	0,794	0,741

Таблица 3.2.3.4

Ассоциация между разностью средних значений индекса PSD с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* и у пациентов с ПОУГ через 1 и 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат

Показатель	Через 1 месяц		Через 6 месяцев	
	Уровень изменения PSD, dB	Уровень изменения PSD, (%)	Уровень изменения PSD, dB	Уровень изменения PSD, (%)
Группа <i>CYP2D6 1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	0,09±0,98	-0,34±4,33	0,20±1,12	2,16±6,09
Группа <i>CYP2D6 1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	0,18±0,56	3,03±4,96	0,26±0,59	5,78±6,57
p	0,130	0,166	0,366	0,402
Группа <i>CYP2D6 100C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	0,08±0,98	-0,75±0,50	-0,18±1,12	1,38±3,60
Группа <i>CYP2D6 100C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	0,20±0,56	3,56±0,50	0,29±0,57	6,91±4,83
p	0,066	0,98	0,196	0,246

По результатам анализа данных, статистической связи между изменениями показателей светочувствительности (MD и PSD) и полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* выявлено не было.

3.2.4. Оценка ассоциации между полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* и ЧСС при динамическом наблюдении у пациентов с глаукомой, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат в течение 6 месяцев.

Мы сопоставили величину ЧСС до лечения, через месяц и через 6 месяцев, с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6*. Полученные данные

демонстрируют наличие статистически значимой связи между вышеуказанными полиморфизмами и величиной снижения ЧСС через 1 и 6 месяцев после инстилляций препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат у пациентов с ПОУГ (Таблица 3.2.4.1, Таблица 3.2.4.2).

Таблица 3.2.4.1

Ассоциация ЧСС при терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* и ЧСС до начала, через месяц и через 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии

Показатель	Генотип					
	<i>rs3892097</i>			<i>rs1065852</i>		
	Группа <i>CYP2D6 1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	Группа <i>CYP2D6 1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	p	Группа <i>CYP2D6 100 C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	Группа <i>CYP2D6 100 C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	p
Уровень ЧСС до начала лечения, уд. в мин.	75,28±7,5	76,83±7,05	0,287	75,23±7,51	77,15±6,92	0,188
Уровень ЧСС через месяц после начала лечения, уд. в мин.	72,41±7,65	70,39±7,04	0,170	72,30±7,64	70,72±7,10	0,289
Уровень ЧСС через 6 месяцев после начала лечения, уд. в мин.	71,25±7,58	68,95±6,02	0,089	71,14±7,57	69,30±6,06	0,176

Таблица 3.1.2.4.2

Ассоциация между полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* и разностью значений ЧСС в динамике у пациентов с глаукомой через 1 и 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат

Показатель		Генотип					
		<i>rs3892097</i>			<i>rs1065852</i>		
		Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	р	Группа <i>CYP2D6</i> <i>100C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	Группа <i>CYP2D6 10</i> <i>0C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	р
Уровень изменения ЧСС через 1 месяц после лечения	Уд. в мин.	2,88±4,68	6,44±5,57	<0,001	2,94±4,65	6,34±5,66	<0,001
	%	3,70±6,16	8,18±6,84	<0,001	3,78±6,12	8,05±6,98	<0,001
Уровень изменения ЧСС через 6 месяцев после начала лечения	Уд. в мин.	5,14±8,93	7,88±5,64	<0,001	5,20±8,90	7,78±5,75	<0,001
	%	6,93±13,5 5	9,95±6,89	0,001	7,02±13,52	9,82±7,03	<0,001

Необходимо отметить, что у всех пациентов наблюдалось снижение ЧСС, вне зависимости от генотипа. У пациентов с гетерозиготным носительством по вышеуказанным полиморфным вариантам гена урежение ЧСС более выражено. Возможно, это связано со снижением активности изофермента *CYP2D6*, замедлением скорости биотрансформации тимолола малеата и его элиминацией, что приводит к повышению уровня его концентрации в плазме.

3.2.5. Оценка ассоциации между полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* и интервалом PQ при динамическом наблюдении у пациентов с глаукомой, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат в течение 6 месяцев.

При сопоставлении значений интервала PQ с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* с помощью непарметрического U-теста Манна-Уитни, была выявлена статистически значимая связь через 1 и 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии (таблица 3.2.5.1).

Таблица 3.2.5.1

Ассоциация между интервалом PQ у пациентов, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат, с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* до начала, через месяц и через 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии

Показатель	Генотип					
	<i>rs3892097</i>			<i>rs1065852</i>		
	Группа <i>CYP2D6 1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	Группа <i>CYP2D6 1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	p	Группа <i>CYP2D6 100C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	Группа <i>CYP2D6 100C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	p
Уровень PQ до лечения, с.	0,14±0,022	0,14±0,12	0,667	0,14±0,023	0,15±0,012	0,538
Уровень PQ через месяц после начала лечения, с.	0,15±0,021	0,16±0,022	0,004	0,15±0,02	0,16±0,025	0,009
Уровень PQ через 6 месяцев после начала лечения, с.	0,15±0,022	0,16±0,024	0,004	0,15±0,02	0,16±0,022	0,011

При анализе ассоциаций между средними значениями изменения интервала PQ и полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* была выявлена статистически значимая связь через 1 и 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии препаратами, содержащими тимолола малеат (Таблица 3.2.5.2).

Таблица 3.2.5.2

Ассоциация между полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* и разностью средних значений интервала PQ у пациентов с глаукомой через месяц и 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат

Показатель		Генотип					
		<i>rs3892097</i>			<i>rs1065852</i>		
		Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	р	Группа <i>CYP2D6</i> <i>100C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>100C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	р
Уровень изменения PQ через 1 месяц после лечения	с.	0,01±0,031	0,02±0,022	0,003	0,01±0,032	0,02±0,021	0,014
	%	5,81±17,77	13,48±1,29	0,009	6,25±17,98	12,78±11,21	0,034
Уровень изменения PQ через 6 месяцев после начала лечения	с.	0,01±0,032	0,02±0,024	0,003	0,01±0,033	0,02±0,022	0,014
	%	5,81±17,77	13,48±1,29	0,009	6,25±17,98	12,78±11,21	0,034

У пациентов при гетерозиготном носительстве вышеуказанных полиморфизмов увеличение интервала PQ более выражено, следовательно выше риск развития атриовентрикулярной блокады.

3.2.6. Ассоциация между полиморфизмами 1846G>A и 100C>T гена *CYP2D6* и АД (систолического и диастолического), при динамическом наблюдении у пациентов с глаукомой, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат в течение 6 месяцев.

При сопоставлении значений АД (систолического и диастолического) до лечения, через 1 и через 6 месяцев с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* с помощью непарметрического метода Манна-Уитни, было выявлено отсутствие статистически значимой разницы между вышеуказанными показателями (таблицы 3.2.6.1, 3.2.6.2).

Таблица 3.2.6.1

Ассоциация показателя систолического АД (САД) у пациентов, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат, с

полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* до начала, через месяц и через 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии

Показатель	Генотип					
	<i>rs3892097</i>			<i>rs1065852</i>		
	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	р	Группа <i>CYP2D6 100</i> <i>C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	Группа <i>CYP2D6 100</i> <i>C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	р
Уровень САД до лечения, мм рт ст	132,27±8,77	134,15±10,54	0,359	132,34±8,77	134,38±10,45	0,349
Уровень САД через месяц после начала лечения, мм рт ст	130,0±7,66	132,56±9,3	0,348	130,16±7,66	132,38±9,47	0,537
Уровень САД через 6 месяцев после начала лечения, мм рт ст	129,35±7,29	132,2±9,69	0,172	129,37±7,28	132,50±9,61	0,115

Таблица 3.2.6.2

Ассоциация между полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* и разностью средних значений показателя АД систолического у пациентов с глаукомой через месяц и 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат

Показатель		Генотип					
		<i>rs3892097</i>			<i>rs1065852</i>		
		Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	р	Группа <i>CYP2D6</i> <i>100C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	Группа <i>CYP2D6 10</i> <i>0C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	р
Уровень изменения САД через 1 месяц после лечения	Мм рт ст	2,27±5,84	1,59±7,11	0,967	2,23±5,80	1,92±7,04	0,717
	%	1,57±4,34	0,97±5,36	0,899	1,55±4,31	1,24±5,27	0,856
Уровень изменения САД через 6 месяцев после начала лечения	Мм рт ст	2,91±5,94	1,95±6,31	0,662	2,94±5,90	1,92±6,45	0,625
	%	2,04±4,40	1,30±4,64	0,481	2,06±4,37	1,27±4,74	0,451

Таблица 3.2.6.3

Ассоциация между показателем АД диастолического (ДАД) у пациентов, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат, и полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* до начала, через месяц и через 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии

Показатель	Генотип					
	<i>rs3892097</i>			<i>rs1065852</i>		
	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	р	Группа <i>CYP2D6</i> <i>100C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	Группа <i>CYP2D6 10</i> <i>0C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	р
Уровень ДАД до лечения, мм рт ст	78,44±5,70	76,59±5,96	0,170	78,52±5,68	76,38±5,99	0,098
Уровень ДАД через месяц после начала лечения, мм рт ст	77,30±5,51	77,20±5,48	0,980	77,38±5,58	77,00±5,41	0,766
Уровень ДАД через 6 месяцев после начала лечения, мм рт ст	73,89±5,50	73,54±5,27	0,955	73,89±5,50	73,38±5,24	0,831

Таблица 3.2.6.4

Ассоциация между полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* и разностью средних значений показателя АД диастолического у пациентов с глаукомой через 1 и 6 месяцев после начала антиглаукомной терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат

Показатель		Генотип					
		<i>rs3892097</i>			<i>rs1065852</i>		
		Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GG</i>) N=64 (61%)	Группа <i>CYP2D6</i> <i>1846G>A</i> (генотип <i>GA</i>) N=41(39%)	р	Группа <i>CYP2D6</i> <i>100C>T</i> (генотип <i>CC</i>) N=65 (62%)	Группа <i>CYP2D6 100</i> <i>C>T</i> (генотип <i>CT</i>) N=40(38%)	р
Уровень изменения ДАД через 1 месяц после лечения	Мм рт ст	1,14±6,90	-0,61±6,73	0,383	1,05±6,88	-0,51±6,86	0,502
	%	1,06±8,68	-1,23±9,03	0,373	0,95±8,66	-1,13±9,23	0,471
Уровень изменения ДАД через 6 месяцев после начала лечения	Мм рт ст	4,61±7,58	3,05±7,74	0,244	4,69±7,55	2,95±7,84	0,197
	%	5,43±9,30	3,44±9,84	0,203	5,54±9,27	3,30±9,97	0,159

Клинический пример 1

Пациент К., 70 год.

Диагноз: OS Первичная открытоугольная I b глаукома.

Сопутствующие заболевания и факторы риска: Гипертоническая болезнь III ст, 3 ст., риск ССО 2

Острота зрения: OD=0,5 cyl-1,5D ax 85=0,8-0,9;

OS=0,5 cyl-2,0D ax 89=1,0

Угол передней камеры:

OU средней ширины, OD слабая пигментация (1 балл), OS интенсивная пигментация задней части (2 балла).

Пахиметрия OD=530 мкм, OS=535 мкм.

**Результаты офтальмологического и инструментального обследования
пациента К.**

Показатель	До начала лечения	Через 1 месяц	Через 6 месяцев
ВГД, мм рт ст	19	18	17
	26	20	18
С, ммЗ/мин/мм	0,12	0,18	0,2
	0,09	0,17	0,19
F, ммЗ/мин	1,76	1,64	1,70
	1,54	1,40	1,32
MD, dB	-1,59	-1,61	-1,98
	-2,27	-2,15	-2,1
PSD, dB	2,07	1,98	1,89
	1,71	2,09	1,97
ЧСС, уд. в мин.	78	68	66
PQ, с	0,13	0,15	0,17
САД, мм рт ст	140	150	140
ДАД, мм рт ст	80	80	80

Лечение: Тимолола малеат 0,5%

Генотип: *GA (1846G>A), CT (100C>T)*

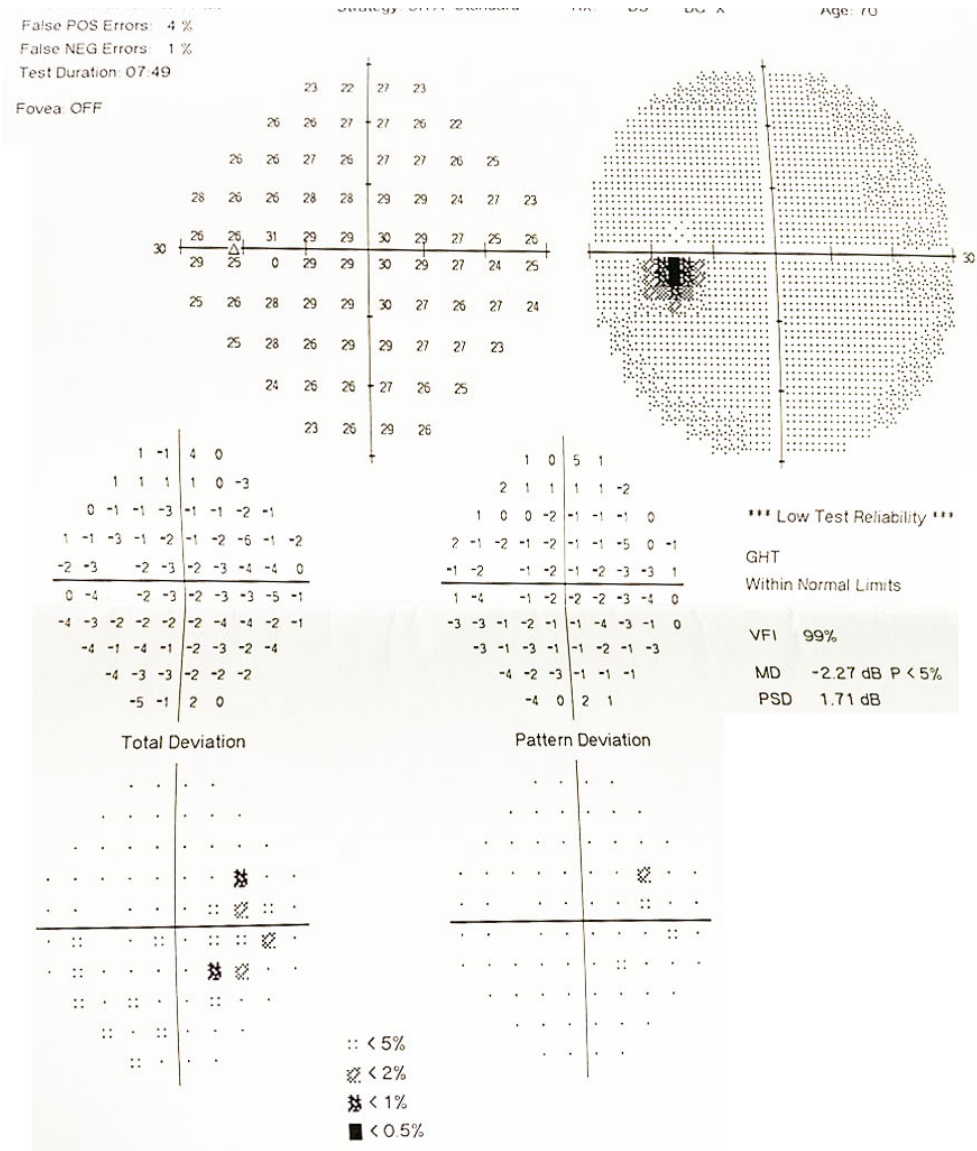


Рисунок 3.2.6.1. Результаты исследований поля Зрения OS (статическая автоматическая периметрия Humphrey) до начала лечения

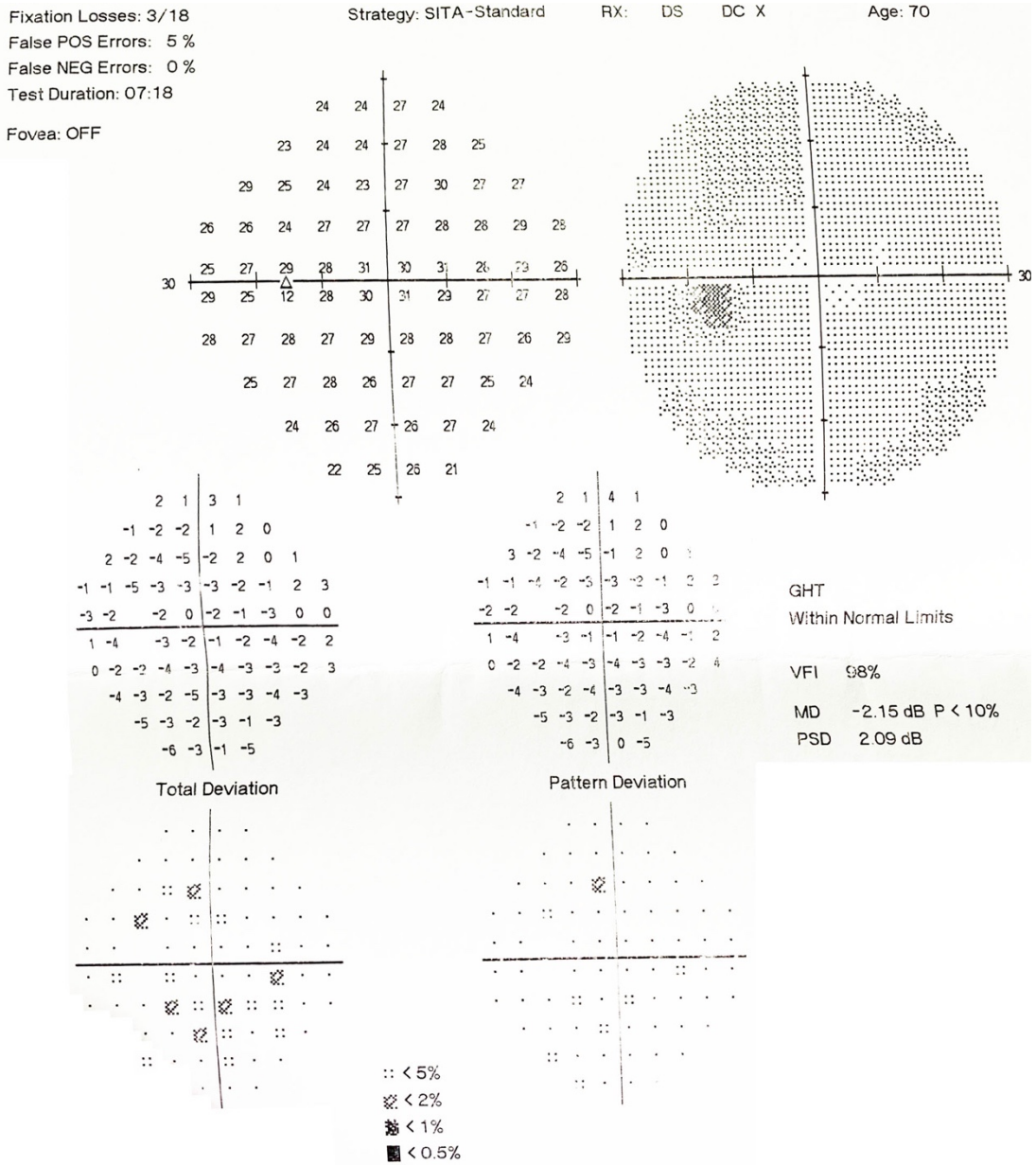


Рисунок 3.2.6.2. Результаты исследований полей Зрения OS (статическая автоматическая периметрия Humphrey) через 6 месяцев после начала лечения

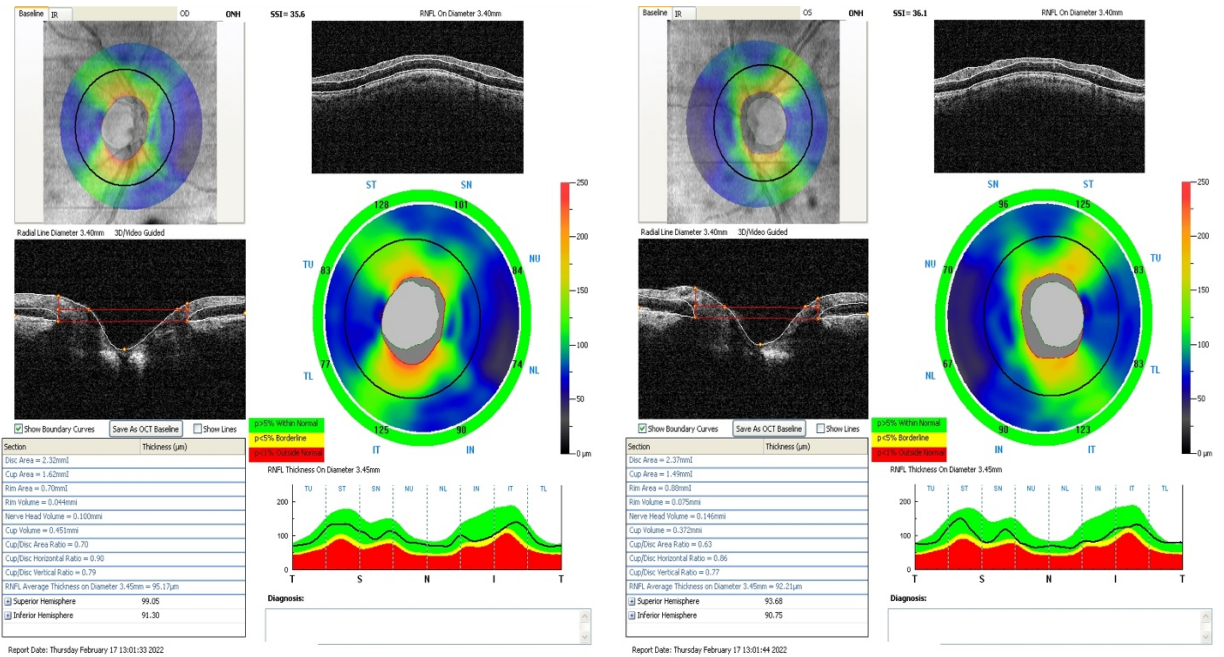
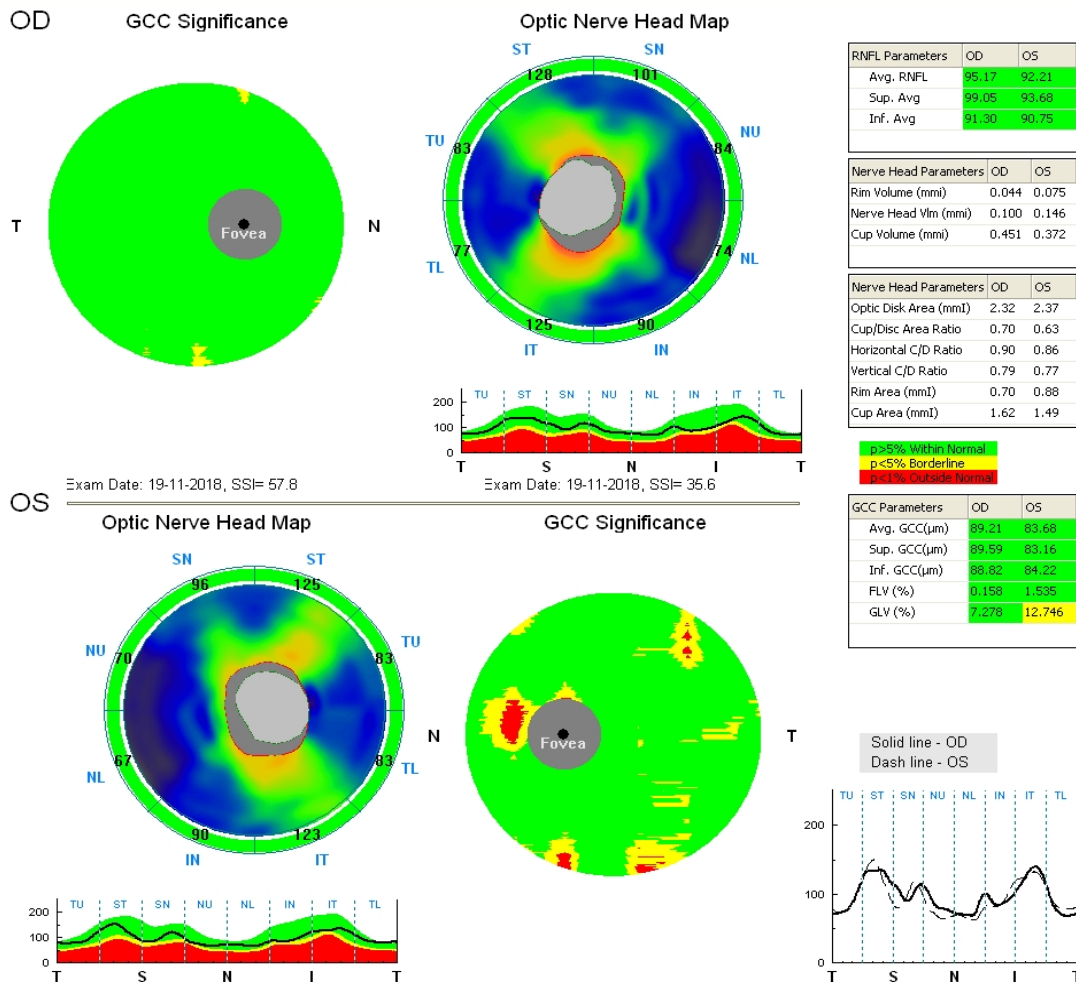


Рисунок 3.2.6.3. Комплексный анализ морфометрических параметров ДЗН и толщины слоя нервных волокон перепапиллярной сетчатки OD (справа) и OS (слева) по ОКТ



RNFL Parameters		
	OD	OS
Avg. RNFL	95.17	92.21
Sup. Avg	99.05	93.68
Inf. Avg	91.30	90.75
Nerve Head Parameters		
	OD	OS
Rim Volume (mm ³)	0.044	0.075
Nerve Head Vlm (mm ³)	0.100	0.146
Cup Volume (mm ³)	0.451	0.372
Nerve Head Parameters		
	OD	OS
Optic Disk Area (mm ²)	2.32	2.37
Cup/Disc Area Ratio	0.70	0.63
Horizontal C/D Ratio	0.90	0.86
Vertical C/D Ratio	0.79	0.77
Rim Area (mm ²)	0.70	0.88
Cup Area (mm ²)	1.62	1.49

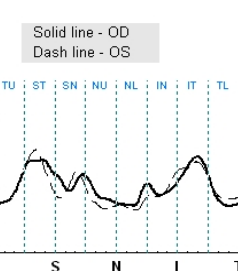


Рисунок 3.2.6.4. Сравнительный анализ толщины ганглиозного комплекса и слоя нервных волокон перепапиллярной сетчатки OD и OS по ОКТ

Для исключения снижения толщины ганглиозного комплекса, связанного с изменением толщины сетчатки при дистрофии в центральной зоне, проведено соответствующее ОКТ ML, с определением толщины слоя нервных волокон (Рисунок 3.2.6.5).

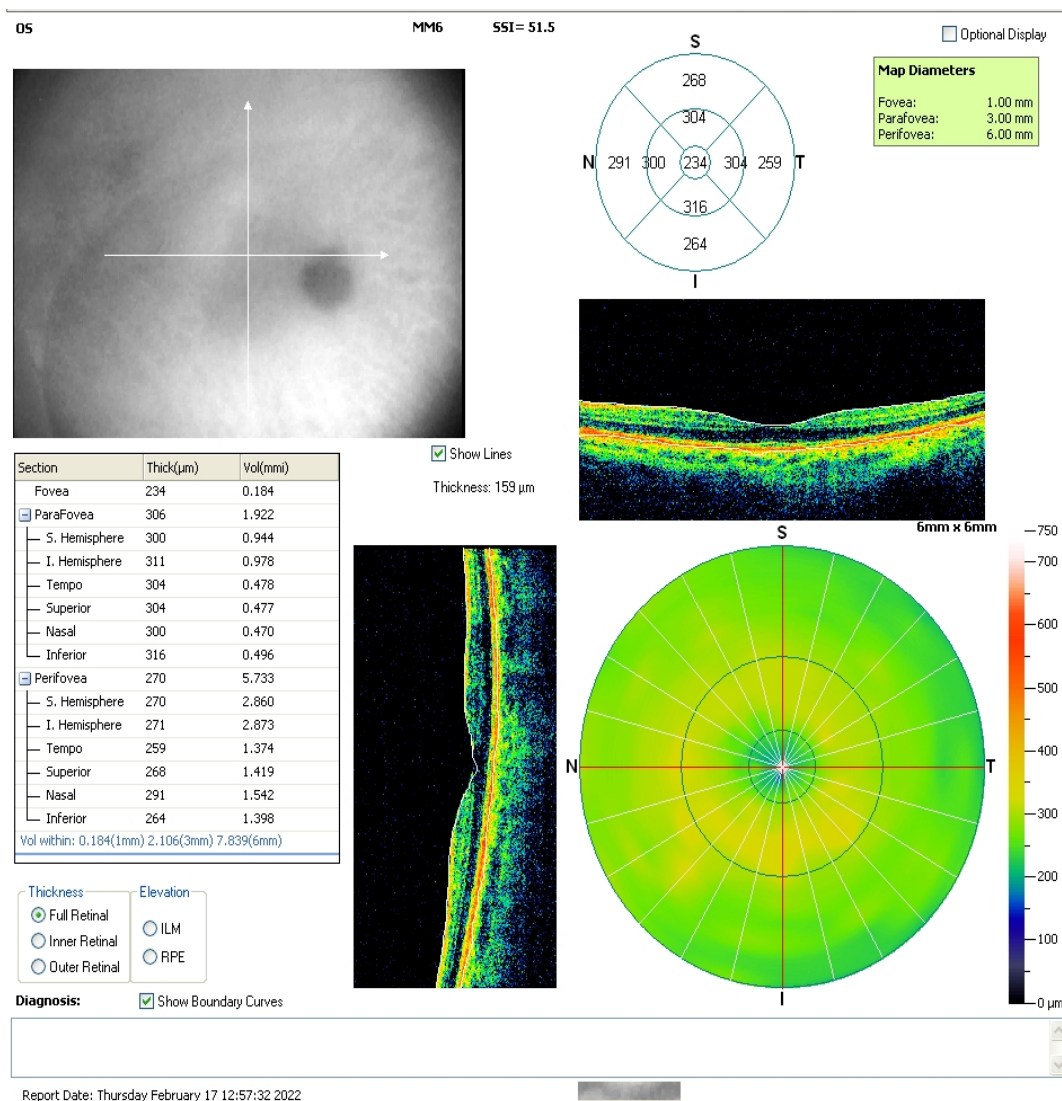


Рисунок 3.2.6.5. Анализ толщины сетчатки макулярной зоны по ОКТ.

Клинический пример демонстрирует эффективность препарата (снижение ВГД OS 25% за 6 месяцев). При этом у данного пациента с гетерозиготным генотипом по полиморфизмам $1846G>A$ и $100C>T$ гена *CYP2D6* отмечено

выраженное снижение ЧСС (15,4%) и удлинение PQ (30,8%), что свидетельствует о тенденции к возникновению у него системных НЛР.

Клинический пример 2.

Пациент У., 68 год.

Диагноз: ОУ Первичная открытоугольная I b глаукома.

Сопутствующие заболевания и факторы риска: тонкая роговица

Острота зрения: OD=0,9 н/к;

OS=0,6 sph+1,0=1,0

Угол передней камеры:

ОУ средней ширины, интенсивная пигментация задней части (2 балла).

Пахиметрия OD=507 мкм, OS=501 мкм.

Таблица 3.2.6.6

Результаты офтальмологического и инструментального обследования пациента У.

Показатель	До начала лечения	Через 1 месяц	Через 6 месяцев
ВГД, мм рт ст	27	17	16
	29	27	17
С, ммЗ/мин/мм	0,11	0,22	0,25
	0,09	0,12	0,16
F, ммЗ/мин	1,87	1,54	1,5
	1,71	0,84	1,1
MD, dB	-2,51	-2,47	-1,36
	-4,35	-4,37	-4,44
PSD, dB	2,12	2,05	2,08
	3,60	3,58	2,70
ЧСС, уд. в мин.	80	82	79
PQ, с	0,13	0,14	0,14
САД, мм рт ст	130	135	140
ДАД, мм рт ст	70	75	75

Лечение: ФК биматопрост 0,003%/тимолола малеат 0,5%

Генотип: GG(1846G>A), CC (100C>T)

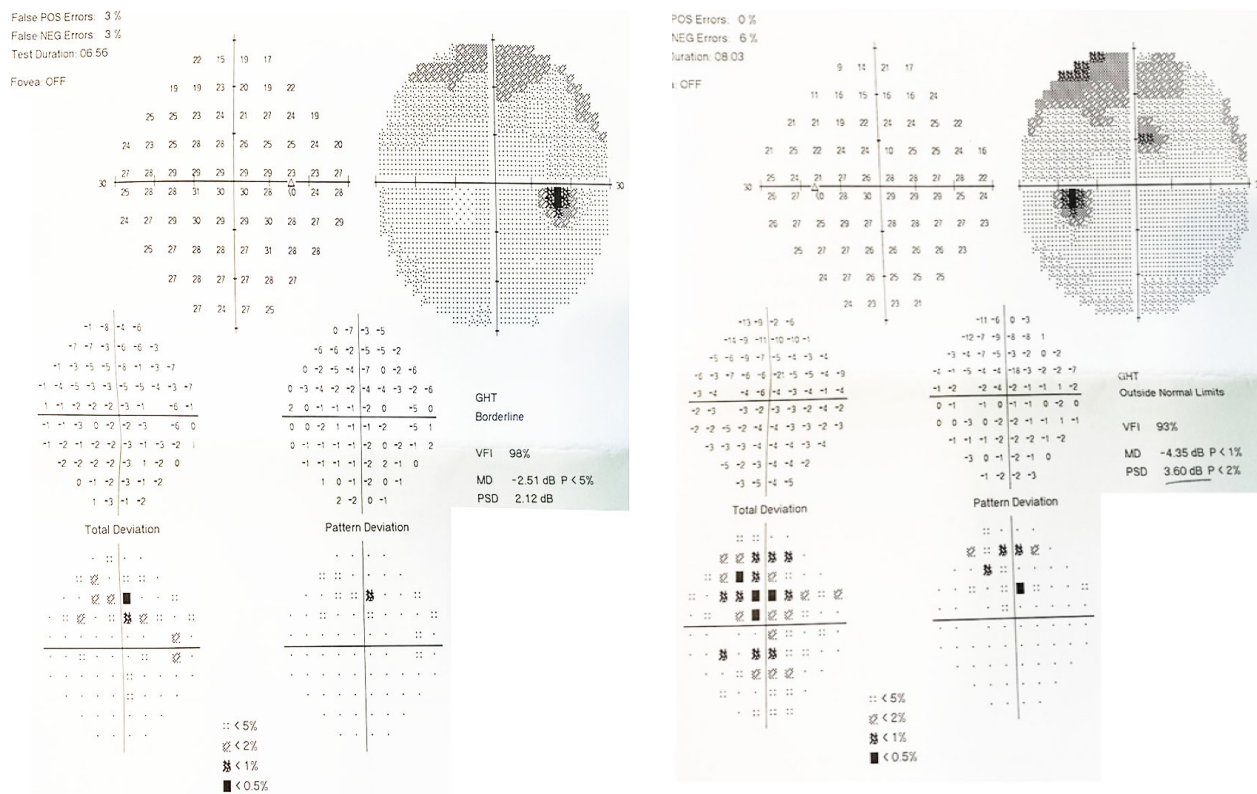


Рисунок 3.2.6.6. Результаты исследований полей зрения OD (слева) OS (справа) (статическая автоматическая периметрия Humphrey) до начала лечения

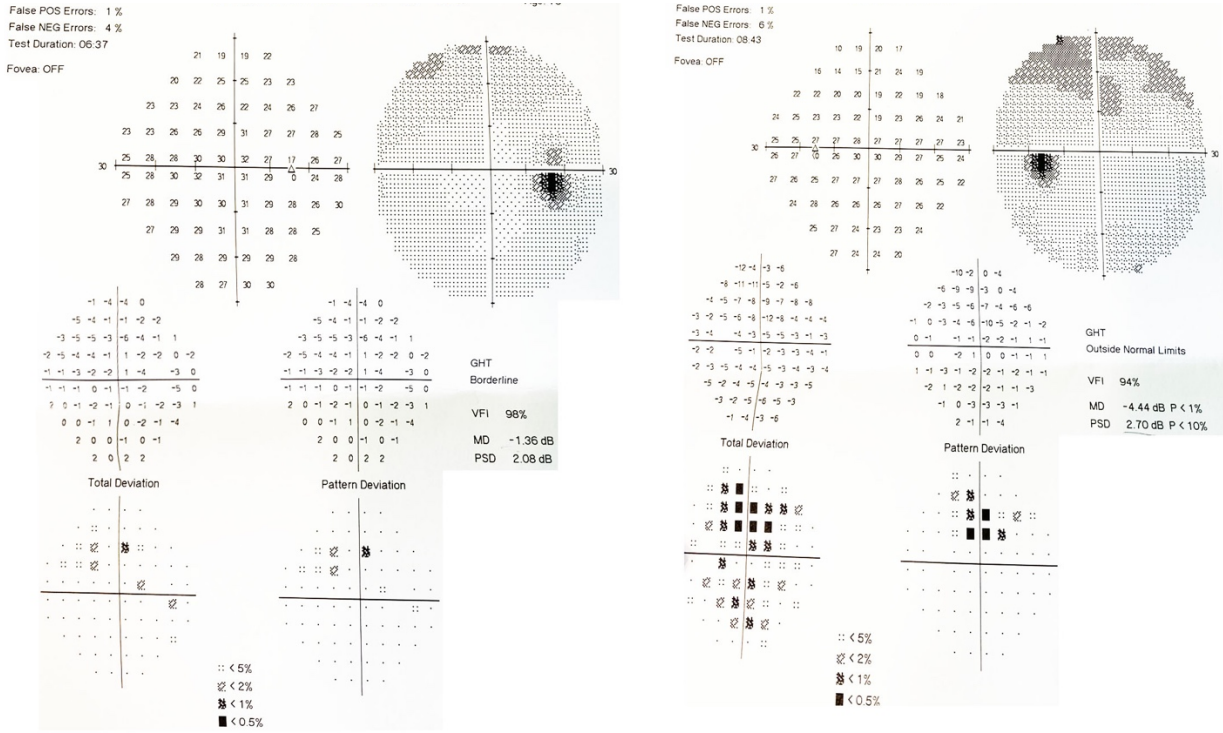


Рисунок 3.2.6.7. Результаты исследований полей зрения OD (слева) OS (справа) (статическая автоматическая периметрия Humphrey) через 6 месяцев после начала лечения

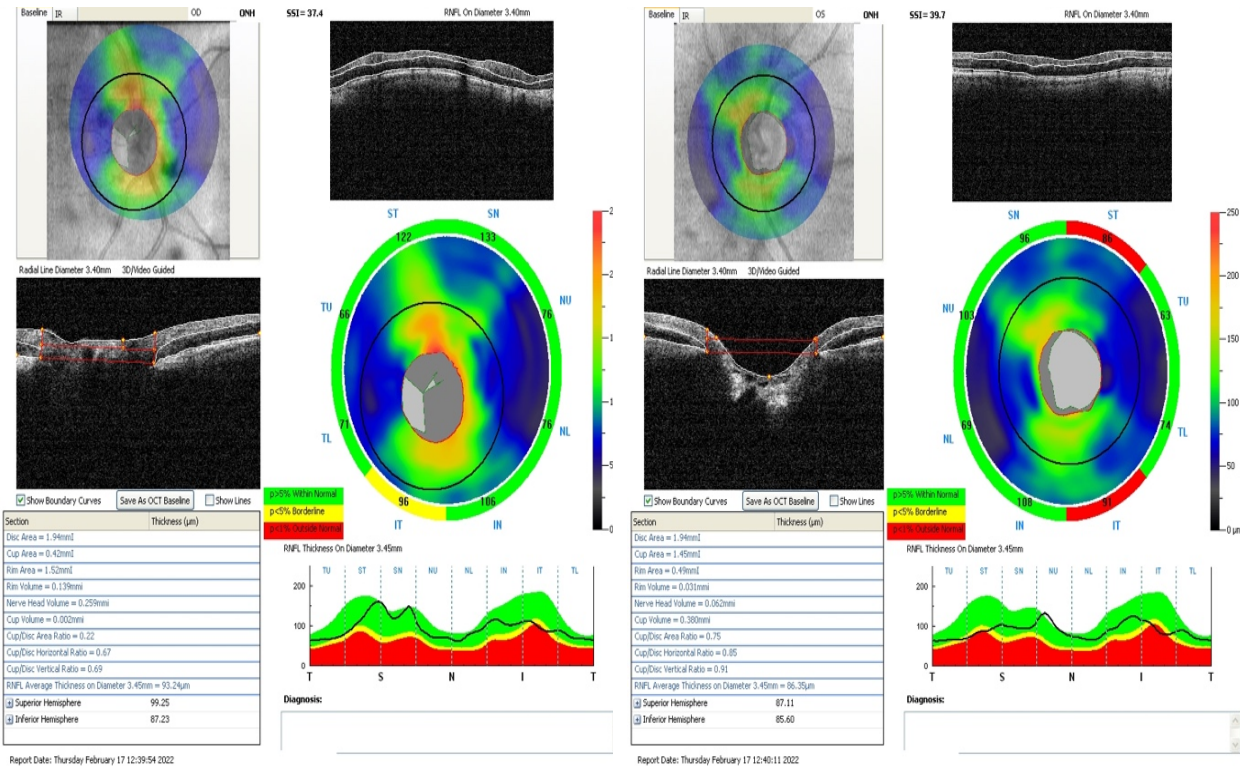


Рисунок 3.2.6.8. Комплексный анализ морфометрических параметров ДЗН и толщины слоя нервных волокон перепаялярной сетчатки OD (справа) и

OS (слева) по ОКТ

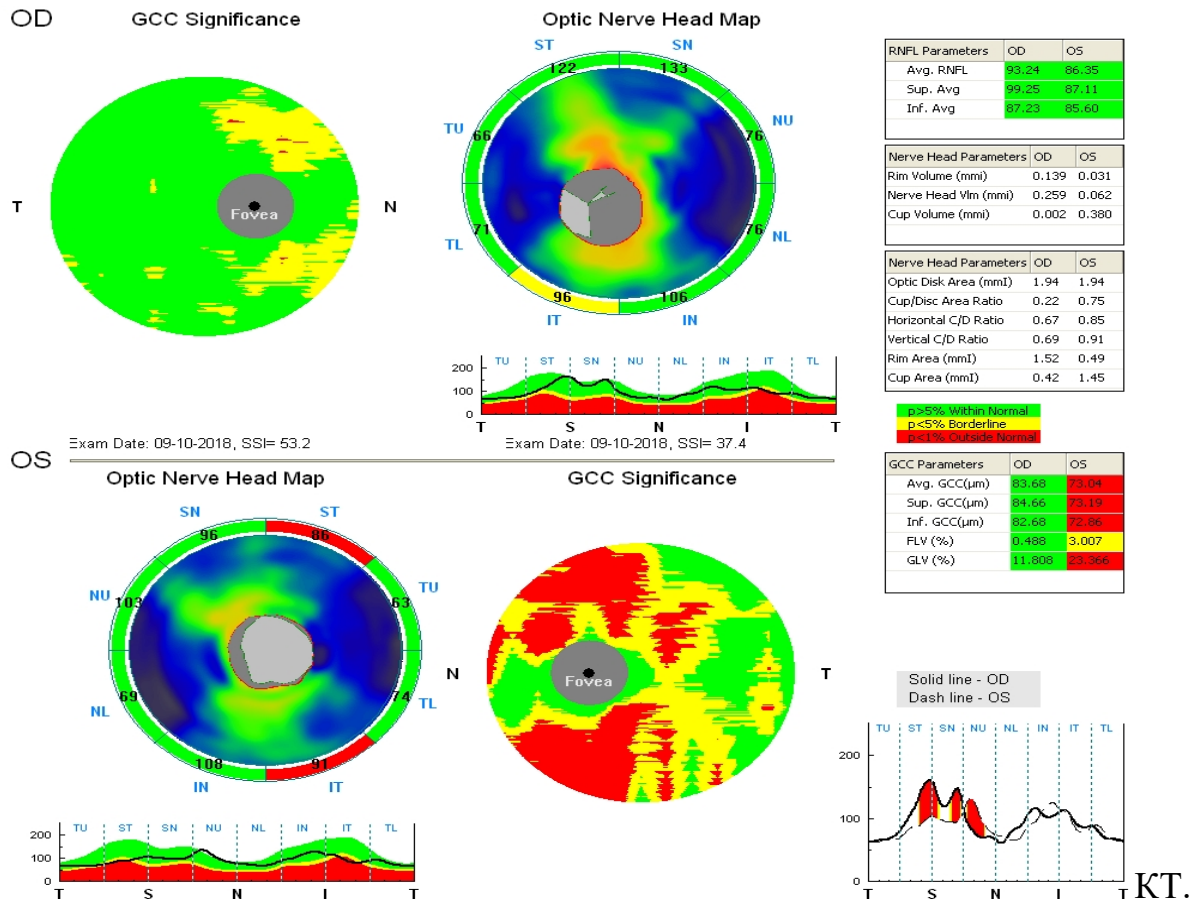


Рисунок 3.2.6.9. Сравнительный анализ толщины ганглиозного комплекса и слоя нервных волокон перепапиллярной сетчатки OD и OS по ОКТ

Клинический пример демонстрирует эффективность препарата (снижение ВГД OD 40,7%, OS 41,4% за 6 месяцев). При этом у данного пациента с гомозиготным генотипом по указанным генотипам показатели безопасности, ЧСС и PQ, оставались стабильны.

Данные клинические примеры демонстрируют, что пациенты с гетерозиготным носительством полиморфизмов $1846G>A$ и $100C>T$ гена *CYP2D6* более склонные к замедлению частоты сердечных сокращений и удлинению интервала PQ.

3.3. Изучение взаимосвязи между параметрами эффективности и безопасности при применении лекарственных препаратов, содержащих тимолола малеат, у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и активностью CYP2D6

В результате проведенного исследования ВЭЖХ-МС/МС, получены значения показателей концентрации пинолина и 6-НО-ТНВС в моче (таблица 3.3.1).

Таблица 3.3.1

Результаты проведенного ВЭЖХ-МС/МС по определению в моче концентрации пинолина и 6-НО-ТНВС

Концентрации	Медиана	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение
Пинолин (пг/мл)	1945,180	1366,290	2565,870	675,419
6-НО-ТНВС (пг/мл)	2050,100	1053,480	3273,080	3808,350
С6-НО-ТНВС/СР (усл.ед.)	1,041	0,521	2,151	2,521

Корреляционный анализ Спирмена показал отсутствие статистически значимой разницы между показателями эффективности (ВГД, С, MD, PSD) и безопасности (ЧСС, PQ, САД, ДАД) оцененных по разнице средних значений через 1 и 6 месяцев после начала антиглаукомного лечения, и показателем активности CYP2D6, оцененной по отношению концентрации 6-НО-ТНВС к концентрации пинолина в моче (Таблица 3.3.2, Таблица 3.3.3, Таблица 3.3.4, Таблица 3.3.5).

Таблица 3.3.2.

Взаимосвязь между разностью средних значений офтальмологических параметров до и через месяц после начала лечения и концентрациями пинолина, 6-НО-ТНВС и их отношением у пациентов с ПОУГ, применяющих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат

Показатель	r_s^*					
	Пиолин	p	6-НО-ТНВС	p	С6-НО-ТНВС/СР	p
ВГД (P ₀), мм рт ст	-0,053	0,485	-0,060	0,433	-0,023	0,759
MD, dB	-0,015	0,842	-0,054	0,464	0,195	0,008
PSD, dB	0,130	0,078	-0,022	0,770	-0,108	0,145
С, мм ³ /мин/мм	0,037	0,623	-0,275	0,001	-0,205	0,006

*-коэффициент корреляции Спирмена

Таблица 3.3.3.

Взаимосвязь между разностью средних значений параметров безопасности до и через месяц после начала лечения и концентрациями пиолина, 6-НО-ТНВС и их отношением у пациентов с ПОУГ, применяющих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат

Показатель	r_s^*					
	Пиолин	p	6-НО-ТНВС	p	С6-НО-ТНВС/СР	p
PQ, с.	-0,013	0,893	-0,038	0,689	-0,014	0,888
ЧСС, уд.в мин.	-0,038	0,695	0,135	0,159	0,161	0,092
АД систол., мм рт ст	0,032	0,749	-0,059	0,547	-0,088	0,370
АД диастол., мм рт ст	-0,022	0,822	0,117	0,233	0,076	0,440

*-коэффициент корреляции Спирмена

Таблица 3.3.4

Взаимосвязь между разностью средних значений офтальмологических параметров до и через 6 месяцев после начала лечения и концентрациями пиолина, 6-НО-ТНВС и их отношением у пациентов с ПОУГ, применяющих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат

Показатель	r_s^*					
	Пинолин	р	6-НО-ТНВС	р	С6-НО-ТНВС/СР	р
ВГД (P ₀), мм рт ст	-0,016	0,834	-0,054	0,482	-0,029	0,699
MD, dB	0,007	0,926	0,142	0,054	0,104	0,162
PSD, dB	-0,020	0,791	0,009	0,900	0,006	0,939
С, мм ³ /мин/мм	-0,024	0,756	-0,025	0,001	-0,144	0,058

*-коэффициент корреляции Спирмена

Таблица 3.3.5

Взаимосвязь между разностью средних значений параметров безопасности до и через 6 месяцев после начала лечения и концентрациями пинолина, 6-НО-ТНВС и их отношением у пациентов с ПОУГ, применяющих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат

Показатель	r_s^*					
	Пинолин	р	6-НО-ТНВС	р	С6-НО-ТНВС/СР	р
РQ, с.	-0,093	0,330	-0,015	0,879	0,050	0,603
ЧСС, уд.в мин.	-0,089	0,354	0,112	0,244	0,152	0,112
АД систол., мм рт ст	-0,085	0,391	0,039	0,693	0,065	0,512
АД диастол., мм рт ст	-0,097	0,323	0,098	0,319	0,111	0,262

3.4. Оценка влияния полиморфизмов *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* на активность *CYP2D6* у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

3.4.1. Оценка влияния полиморфизма гена *CYP2D6* (*1846G>A*) на активность *CYP2D6* у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой

Активность изофермента *CYP2D6*, измеренная методом ВЭЖХ-МС/МС, по отношению к концентрации в моче пинолина, его метаболита (6-НО-ТНВС) и их отношения, была сопоставлена с генотипами *GA* и *GG* гена *CYP2D6* по полиморфному маркеру *1846G>A*. В результате этого, установлено отсутствие статистически значимых связей между вышеуказанными полиморфизмами и показателями активности *CYP2D6*: концентрация пинолина ($p=0,101$), 6-НО-ТНВС ($p=0,285$), а также их отношения ($p=0,060$), у пациентов с глаукомой, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат (Таблица 3.4.1, Рисунок 3.4.1). Это означает, что генотипирование полиморфизма гена *CYP2D6* (*1846G>A*) не способна точно прогнозировать активность изофермента *CYP2D6* у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой, инстиллирующих препараты, содержащие неселективные бета-адреноблокаторы.

Таблица 3.4.1.1

Ассоциация между полиморфизмом *1846G>A* гена *CYP2D6* и результатами исследования ВЭЖХ-МС/МС по определению в моче концентрации пинолина и 6-НО-ТНВС у пациентов с ПОУГ, инстиллирующие препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат

Подгруппа пациентов	Концентрация пинолина (нг/мл) М [Q1;Q3]	р	Концентрация 6-НО-ТНВС (нг/мл) М [Q1;Q3]	р	С6-НО-ТНВС/СР (усл.ед.) М [Q1;Q3]	р
Все пациенты	1945,18 [1366,29;2565,87]		2050,10 [1053,48;3273,08]		1,041 [0,521;2,521]	
<i>GG</i>	1981,68 [1515,65;2565,87]	0,101	2014,09 [1027,27;3051,87]	0,285	0,90[0,48;1,82]	0,060
<i>GA</i>	1644,04 [1801,84;723,34]		2153,01 [1408,49;3348,41]		1,26 [0,60;2,39]	

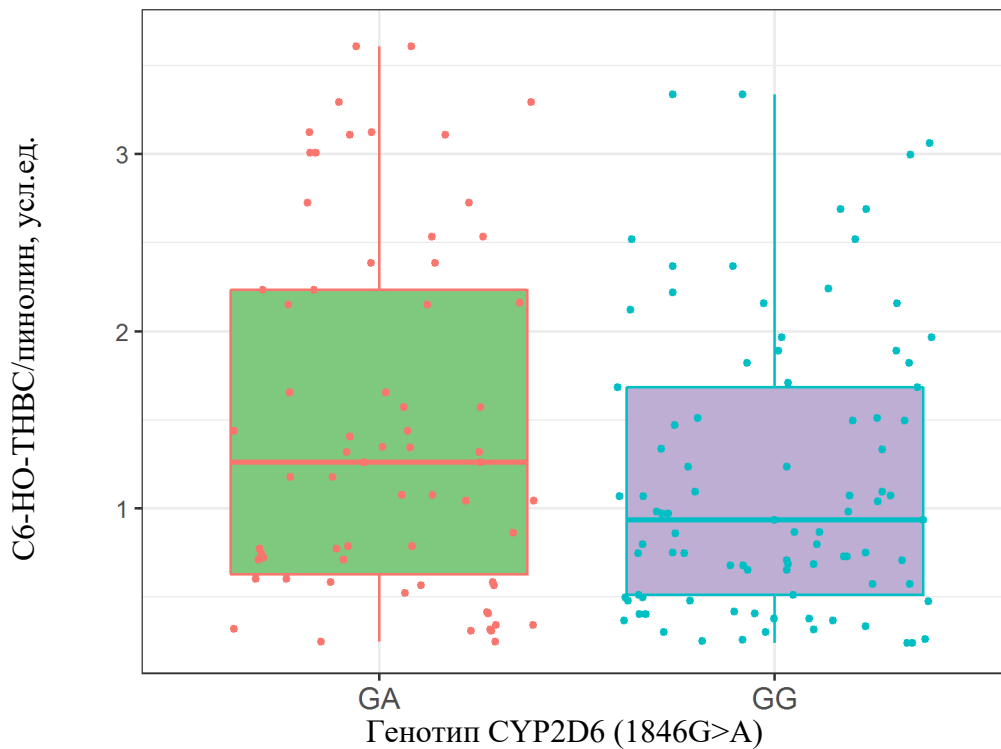


Рисунок 3.4.1.1. Разница в значениях С6-НО-ТНВС/СР у пациентов с ПОУГ, применяющих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат, с генотипами GG (справа) и GA (слева) гена CYP2D6 по полиморфному маркеру 1846G>A

Необходимо отметить наличие тенденции к различиям данных показателей отношения С6-НО-ТНВС/пинолин ($p=0,060$), в зависимости от генотипа CYP2D6 по полиморфному маркеру 1846G>A.

3.4.2. Оценка влияния полиморфизма гена CYP2D6 (100C>T) на активность CYP2D6 у пациентов, страдающих первичной открытоугольной глаукомой

Активность изофермента CYP2D6, измеренная методом ВЭЖХ-МС/МС, по концентрации пинолина в моче пациентов, его метаболита (6-НО-ТНВС) и их отношению, была сопоставлена с генотипами CT и CC гена CYP2D6 по полиморфному маркеру 100C>T. В результате этого, установлено отсутствие статистически значимых связей между генотипами CC и CT гена CYP2D6 по

полиморфному маркеру *100C>T* и показателями активности CYP2D6: концентрация пинолина ($p=0,146$), 6-НО-ТНВС ($p=0,205$), а также их отношения ($p=0,062$), у пациентов с глаукомой, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат (таблица 3.4.1, рисунок 3.4.1). Это означает, что генотипирование полиморфизма гена *CYP2D6* (*100C>T*) не способна точно прогнозировать активность изофермента CYP2D6 у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой, инстиллирующих препараты, содержащие неселективные бета-адреноблокаторы.

Таблица 3.4.2.1

Ассоциация между полиморфизмом *100C>T* гена *CYP2D6* и результатами исследования ВЭЖХ-МС/МС по определению в моче концентрации пинолина и 6-НО-ТНВС у пациентов с ПОУГ, инстиллирующие препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат

Подгруппа пациентов	Концентрация Пинолина (нг/мл) М [Q1;Q3]	р	Концентрация 6-НО-ТНВС (нг/мл) М [Q1;Q3]	р	С6-НО-ТНВС/СР (усл.ед.) М [Q1;Q3]	р
<i>CC</i>	1976,83 [1497,03;2552,82]	0,146	2014,09 [974,86;3055,14]	0,250	0,90 [0,47;1,82]	0,062
<i>CT</i>	1668,74 [1248,95;2562,35]		2153,01 [1490,53;3315,58]		1,26 [0,65;2,39]	

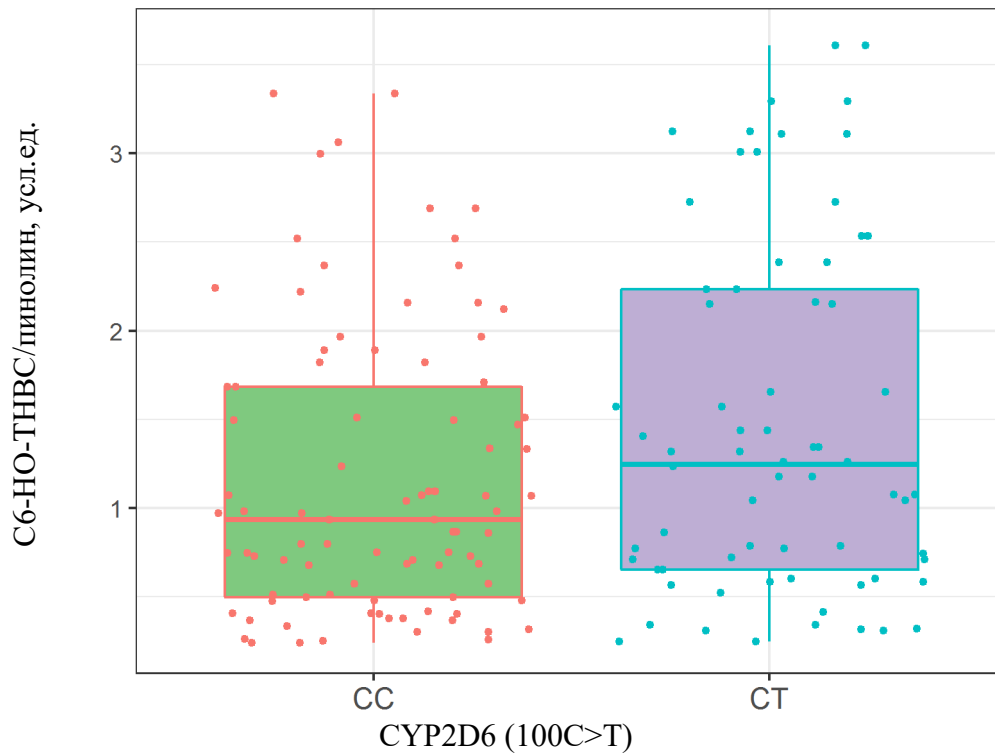


Рисунок 3.4.2.1. Ассоциация между генотипами *CC* (слева) и *CT* (справа) гена *CYP2D6* по полиморфному маркеру *100C>T* и разницей в значениях С6-НО-ТНВС/СР у пациентов с ПОУГ, применяющих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат

Анализ полученных данных позволяет утверждать, что полиморфизм гена *CYP2D6* в нашем исследовании не оказывал влияние на активность изофермента *CYP2D6* (оцененную с помощью метода ВЭЖХ-МС/МС по содержанию в моче эндогенного субстрата пинолина и 6-НО-ТНВС) у пациентов страдающих первичной открытоугольной глаукомой, применявших препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат. Необходимо отметить наличие тенденции к различиям данных показателей отношения С6-НО-ТНВС/пинолин ($p=0,062$) в зависимости от генотипа *CYP2D6* по полиморфному маркеру *1846C>T*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Глаукома представляет серьезную проблему для общественного здравоохранения, поскольку почти во всех регионах России занимает 1-е место среди причин инвалидности вследствие офтальмопатологии [32,52,56]. По данным Министерства здравоохранения Российской Федерации, в 2017 г. было выявлено 1 330 597 больных глаукомой, из них свыше 70 000 слепых, за последние пять лет отмечается рост первичного выхода на инвалидность вследствие глаукомы с 22,1 до 28,8% [32,52,56]. Во всём мире 57,5 миллиона человек страдают ПОУГ [56]. По оценкам специалистов, эта цифра может вырасти до 111,8 миллиона человек к 2040 году [56].

Актуальной остается проблема терапии глаукомы, прежде всего – проблема эффективности и безопасности терапии, используемой для снижения повышенного офтальмотонуса до индивидуального безопасного для конкретного пациента уровня внутриглазного давления.

Цель данной работы заключалась в оценке вклада однонуклеотидных полиморфизмов гена *CYP2D6*, а также активности изоферментов биотрансформации *CYP2D6* на эффективность и безопасность тимолола малеата у пациентов, страдающих ПОУГ.

В процессе работы над данным исследованием, была определена частота встречаемости генотипов по полиморфным вариантам гена *CYP2D6* (*1846G>A*, *rs3892097* и *100C>T*, *rs1065852*) у больных, с диагнозом ПОУГ. Все результаты были сопоставлены с распределением по закону Харди-Вайнберга. Выявлено, что распределение генотипов *CYP2D6* (*1846G>A*) не соответствует вышеуказанному закону (точный критерий Фишера $\chi^2 = 6,20$; $p = 0,01$). Вероятно, причина этого в том, что в исследуемой группе, довольно высокая степень этнической гетерогенности, таким образом, невозможностью применения данных о

распределении в европейской популяции для нашей выборки. Распределение генотипов *CYP2D6* ($100C>T$) соответствовало закону Харди-Вайнберга (точный критерий Фишера $\text{Chi}^2 = 0,08$; $p = 0,092$).

Сопоставление показателей эффективности изучаемых препаратов с полиморфизмом $1846G>A$ гена *CYP2D6* показало отсутствие статистически значимой разницы: средний уровень снижения ВГД через месяц ($8,17 \pm 2,8$ vs $7,79 \pm 2,59$, $p=0,381$) и 6 месяцев ($9,43 \pm 3,14$ vs $9,30 \pm 2,64$, $p=0,802$), коэффициент легкости оттока через месяц ($0,09 \pm 0,038$ vs $0,09 \pm 0,033$, $p=0,832$) и 6 месяцев ($0,16 \pm 0,046$ vs $0,16 \pm 0,041$, $p=0,883$), минутный объем внутриглазной жидкости через месяц ($1,05 \pm 0,50$ vs $1,07 \pm 0,36$, $p=0,846$) и 6 месяцев ($0,91 \pm 0,46$ vs $0,97 \pm 0,45$, $p=0,519$), индекс MD ($-3,72 \pm 2,06$ vs $-3,93 \pm 2,47$, $p=0,895$) и 6 месяцев ($-3,83 \pm 2,03$ vs $-3,85 \pm 2,46$, $p=0,670$), индекс PSD ($3,59 \pm 1,63$ vs $3,54 \pm 1,87$, $p=0,474$) и 6 месяцев ($3,48 \pm 1,63$ vs $3,46 \pm 1,90$, $p=0,552$), после терапии у пациентов с генотипами *GG* и *GA* гена *CYP2D6* ($1856G>A$).

Сопоставление показателей эффективности изучаемых препаратов с полиморфизмом $100C>T$ гена *CYP2D6* показало отсутствие статистически значимой разницы: средний уровень снижения ВГД через месяц ($8,14 \pm 2,8$ vs $7,76 \pm 2,59$, $p=0,387$) и 6 месяцев ($9,44 \pm 3,13$ vs $9,24 \pm 2,68$, $p=0,983$), коэффициент легкости оттока через месяц ($0,09 \pm 0,03$ vs $0,09 \pm 0,02$, $p=0,984$) и 6 месяцев ($0,16 \pm 0,047$ vs $0,16 \pm 0,041$, $p=0,819$), минутный объем внутриглазной жидкости через месяц ($1,03 \pm 0,48$ vs $1,11 \pm 0,39$, $p=0,432$) и 6 месяцев ($0,9 \pm 0,46$ vs $1,00 \pm 0,44$, $p=0,405$), индекс MD ($-3,71 \pm 2,06$ vs $-3,94 \pm 2,49$, $p=0,886$) и 6 месяцев ($-3,83 \pm 2,03$ vs $-3,85 \pm 2,49$, $p=0,624$), индекс PSD ($3,56 \pm 1,63$ vs $3,62 \pm 1,87$, $p=0,794$) и 6 месяцев ($3,46 \pm 1,63$ vs $3,52 \pm 1,91$, $p=0,741$), после терапии у пациентов с генотипами *CC* и *CT* гена *CYP2D6* ($100C>T$).

Исходя из полученных данных можно сделать вывод, что на эффективность препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, полиморфизмы $1846G>A$ и $100C>T$ гена *CYP2D6* не будут иметь влияние. Это будет означать, что для прогнозирования

эффективность препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат данные фармакогенетические исследования не подходят.

Данные, полученные при анализе ассоциации между уровнем снижения ВГД, с полиморфизмами *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* и с препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, свидетельствуют об отсутствии статистически значимой связи между вышеуказанными показателями. Таким образом, можно утверждать, что полиморфизмы *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* не будут иметь влияние на эффективность данных комбинированных препаратов. Это утверждение еще раз указывает на то, что в метаболизме простаминов и ингибиторов карбоангидразы изофермент *CYP2D6* участие не принимает.

Соотнесение данных оценки безопасности терапии изучаемых препаратов с полиморфизмом гена *CYP2D6* (*1846G>A*) показало наличие статистически значимой разницы в показателях безопасности: разница в значении ЧСС через месяц ($2,88 \pm 4,68$ vs $6,44 \pm 5,57$, $p < 0,001$) и 6 месяцев ($5,14 \pm 8,93$ vs $7,88 \pm 5,64$, $p < 0,001$), величина интервала PQ через месяц ($0,15 \pm 0,021$ vs $0,16 \pm 0,022$, $p = 0,004$) и 6 месяцев ($0,15 \pm 0,022$ vs $0,16 \pm 0,024$, $p = 0,004$), величина изменения интервала PQ через месяц ($0,01 \pm 0,031$ vs $0,02 \pm 0,022$, $p = 0,003$) и 6 месяцев ($0,01 \pm 0,032$ vs $0,02 \pm 0,024$, $p = 0,003$), после терапии у пациентов с генотипами *GG* и *GA* гена *CYP2D6* (*1856G>A*). Изучив все полученные результаты, сделан вывод, что присутствие полиморфизма *1846G>A* гена *CYP2D6* повышает вероятность развития НЛР типа А (браикардия и нарушение атриовентрикулярной проводимости). Данная ситуация может свидетельствовать о снижении скорости биотрансформации и элиминации тимолола малеата изоферментом *CYP2D6*. Это в свою очередь, может стать причиной задержки тимолола в организме, тем самым увеличивая его концентрацию в организме пациента. Ввиду этого, перед назначением препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, рекомендуется проведение генотипирования пациентов на присутствие у них полиморфизма *1846G>A* в гене *CYP2D6*.

Сопоставление аналогичных данных с полиморфизмом гена *CYP2D6* ($100C>T$) показало наличие статистически значимой разницы в показателях безопасности: разница в значении ЧСС через месяц ($2,94\pm 4,65$ vs $6,34\pm 5,66$, $p<0,001$) и 6 месяцев ($5,20\pm 8,90$ vs $7,78\pm 5,75$, $p<0,001$), величина интервала PQ через месяц ($0,15\pm 0,021$ vs $0,16\pm 0,022$, $p=0,009$) и 6 месяцев ($0,15\pm 0,02$ vs $0,16\pm 0,022$, $p=0,011$), величина изменения интервала PQ через месяц ($0,01\pm 0,032$ vs $0,02\pm 0,021$, $p=0,014$) и 6 месяцев ($0,01\pm 0,033$ vs $0,02\pm 0,022$, $p=0,014$), после терапии у пациентов с генотипами *GG* и *GA* гена *CYP2D6* ($100C>T$). Изучив все полученные результаты, сделан вывод, что присутствие полиморфизма $100C>T$ гена *CYP2D6* повышает вероятность развития НЛР типа А (браикардия и нарушение атриовентрикулярной проводимости). Данная ситуация может свидетельствовать о снижении скорости биотрансформации и элиминации тимолола малеата изоферментом *CYP2D6*. Это в свою очередь, может стать причиной задержки тимолола в организме, тем самым увеличивая его концентрацию в организме пациента. Ввиду этого, перед назначением препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, рекомендуется проведение генотипирования пациентов на присутствие у них полиморфизма $100C>T$ в гене *CYP2D6*.

Изучение ассоциации между значениями АД и полиморфизмом $1846G>A$ гена *CYP2D6* показало отсутствие статистически значимой разницы: САД через месяц ($130,0\pm 7,66$ vs $132,56\pm 9,3$, $p=0,348$) и 6 месяцев ($129,35\pm 7,29$ vs $132,2\pm 6,96$, $p=0,172$), ДАД через месяц ($77,30\pm 5,51$ vs $77,20\pm 5,48$, $p=0,980$) и 6 месяцев ($73,89\pm 5,50$ vs $73,54\pm 5,27$, $p=0,955$), после терапии препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, у пациентов с ПОУГ. Таким образом, можно утверждать, что на такой показатель безопасности, как АД при применении препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, полиморфизмы $1846G>A$ гена *CYP2D6* не будут иметь влияние.

Отмечалось отсутствие статистически значимой разницы при анализе ассоциации между значениями АД и полиморфизмом $100C>T$ гена *CYP2D6*: САД через месяц ($130,16\pm 7,66$ vs $132,38\pm 9,47$, $p=0,537$) и 6 месяцев ($129,37\pm 7,28$ vs $132,5\pm 9,61$, $p=0,115$), ДАД через месяц ($77,30\pm 5,51$ vs $77,20\pm 5,48$, $p=0,980$) и 6 месяцев ($73,89\pm 5,50$ vs $73,54\pm 5,27$, $p=0,955$), после терапии препаратами,

содержащими 0,5% тимолола малеат, у пациентов с ПОУГ. Это означает, что на такой показатель безопасности, как АД при применении препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, полиморфизмы $100C>T$ гена *CYP2D6* не будут иметь влияние.

Была изучена активность *CYP2D6* с применением метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией по содержанию в моче эндогенного субстрата данного изофермента и его метаболита (отношение концентрации 6- гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-бета-карболина и пинолина). Сопоставление данных оценки эффективности изучаемых препаратов и показателей активности изофермента *CYP2D6* с помощью корреляционного анализа Спирмена указало на отсутствие статистически значимой связи через 1 месяц после начала лечения: ВГД $r_s = -0,23$ ($p=0,759$), С $r_s = -0,205$ ($p=0,006$), MD $r_s = 0,195$ ($p=0,008$), PSD $r_s = -0,108$ ($p=0,145$); через 6 месяцев: ВГД $r_s = -0,29$ ($p=0,699$), С $r_s = -0,144$ ($p=0,058$), MD $r_s = 0,104$ ($p=0,162$), PSD $r_s = 0,006$ ($p=0,939$); у пациентов с ПОУГ, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат. Кроме того, вышеуказанный анализ показал отсутствие корреляционной связи между активностью изофермента *CYP2D6* и показателями безопасности через 1 месяц: ЧСС $r_s = 0,161$ ($p=0,092$), PQ $r_s = -0,014$ ($p=0,888$), САД $r_s = -0,088$ ($p=0,370$), ДАД $r_s = 0,076$ ($p=0,440$); через 6 месяцев: ЧСС $r_s = 0,152$ ($p=0,112$), PQ $r_s = 0,50$ ($p=0,603$), САД $r_s = 0,065$ ($p=0,512$), ДАД $r_s = 0,111$ ($p=0,262$), у пациентов с ПОУГ, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат.

При оценке влияния полиморфизма $1846G>A$ гена *CYP2D6* на активность изофермента *CYP2D6* было установлено отсутствие статистически значимых связей между концентрацией пинолина ($p=0,101$), С6-НО-ТНВС ($p=0,285$), С6-НО-ТНВС/СР ($p=0,060$) и вышеуказанными полиморфизмами.

При оценке влияния полиморфизма $100C>T$ гена *CYP2D6* на активность изофермента *CYP2D6* было установлено отсутствие статистически значимых связей между концентрацией пинолина ($p=0,146$), 6-НО-ТНВС ($p=0,205$), а также их

отношения ($p=0,062$), у пациентов с глаукомой, инстиллирующих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат.

Это означает, что генотипирование полиморфизмов $1846G>A$ и $100C>T$ гена *CYP2D6* не способна точно прогнозировать активность изофермента *CYP2D6* у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой, инстиллирующих препараты, содержащие неселективные бета-адреноблокаторы. Кроме того, данный фармакокинетический метод так же может быть использован для определения вышеуказанных полиморфизмов гена *CYP2D6*.

Из анализа данных ассоциаций между показателями эффективности терапии (ВГД, С, F, MD, PSD), сделан вывод, что для прогнозирования эффективности препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, у пациентов с ПОУГ не целесообразно проводить фармакогенетическое тестирование по полиморфизмам $1846G>A$ (*rs3892097*) и $CT\ 100C>T$ (*rs1065852*) гена *CYP2D6*.

Учитывая связанный с терапией тимололом малеатом высокий риск развития тимолол-индуцированной брадикардии и нарушения атриовентрикулярной проводимости, выявление полиморфизмов $1846G>A$ и $100C>T$ гена *CYP2D6*, может иметь довольно высокое клиническое и прогностическое значение, поскольку, доказано, что у пациентов, которые имели гетерозиготный генотип по вышеуказанным полиморфизмам *CYP2D6* риск развития НЛР при применении данного препарата был выше. У пациентов, являющихся носителями генотипа *GA* по полиморфному маркеру $1846G>A$ гена *CYP2D6* отмечается более высокий риск развития НЛР (брадикардия и нарушение атриовентрикулярной проводимости) во время применения препаратов, содержащих тимолола малеат. Кроме того, у больных, которые являются носителями генотипа *CT* по полиморфному маркеру $100C>T$ гена *CYP2D6* отмечается более высокий риск развития НЛР (брадикардия и нарушение атриовентрикулярной проводимости) при применении препаратов, содержащих тимолола малеат. Исходя из вышесказанного, пациентам с генотипом *GA* гена *CYP2D6* ($1846G>A$) и *CT* гена *CYP2D6* ($1846G>A$) рекомендуется перед назначением препаратов, содержащих 0,5%

тимолола малеат, проводить консультацию с кардиологом. Для прогнозирования эффективности препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, у пациентов с ПОУГ не целесообразно проводить фармакогенетическое тестирование по полиморфизмам $1846G>A$ ($rs3892097$) и $CT\ 100C>T$ ($rs1065852$) гена *CYP2D6*.

Основываясь на данных, полученных при анализе ассоциации между показателями эффективности и безопасности и концентрациями пинолина, метаболита пинолина и их отношения, можно утверждать, что для прогнозирования эффективности и безопасности препаратов, содержащих 0,5% тимолола малета, не целесообразно определение активности изофермента *CYP2D6* у пациентов с ПОУГ.

Тимолола малеат используется для снижения ВГД с конца 1970-х годов. Однако, только последнее десятилетие у нас появилось целостное представление о метаболических свойствах тимолола, включая основные метаболиты и участвующие в метаболизме ферменты. После местного применения тимолола малеата он всасывается в системный кровоток, при этом может быть достигнута клинически значимая концентрация тимолола в плазме крови, что может вызвать нежелательные лекарственные реакции. Проведенное исследование показало, что генетическое тестирование является перспективным направлением в практической офтальмологии. Данные фармакогенетических исследований могут быть использованы для прогноза возникновения нежелательных лекарственных реакций при применении препаратов, содержащих тимолола малеат, у пациентов с ПОУГ. Особенно это важно для пациентов, страдающих одновременно ПОУГ и сердечно-сосудистыми заболеваниями.

ВЫВОДЫ

1. Методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени выявлены однонуклеотидные замены в гене *CYP2D6* ($1846G>A(rs3892097)$)- частота 39%, $100C>T(rs1065852)$ - частота 38%, что отражает картину по данным полиморфизмам гена *CYP2D6* в Московском регионе.
2. У пациентов с первичной открытоугольной глаукомой, получающих препараты, содержащие 0,5% тимолола малеат, установлено отсутствие ассоциации между показателями эффективности и полиморфизмами $1846G>A$ и $100C>T$ гена *CYP2D6* (ВГД через 6 месяцев $p=0,802$; С через 6 месяцев $p=0,883$; F через 6 месяцев $p=0,519$; MD через 6 месяцев $p=0,670$; PSD через 6 месяцев $p=0,552$). Это доказывает, что на эффективность препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, данные полиморфизмы не влияют.
3. Установлено, что через 1 и 6 месяцев после начала терапии первичной открытоугольной глаукомы препаратами, содержащими 0,5% тимолола малеат, возрастает риск возникновения тимолол-индуцированной брадикардии и длительность интервала PQ у пациентов с генотипом *GA CYP2D6* по полиморфному маркеру $1846G>A(rs3892097)$ (через 6 месяцев $5,14\pm 8,93$ vs $7,88\pm 5,64$, $p<0,001$; $0,01\pm 0,032$ vs $0,02\pm 0,024$, $p=0,003$, соответственно) и с генотипом *CT CYP2D6* по полиморфному маркеру $100C>T(rs1065852)$ (через 6 месяцев $5,20\pm 8,90$ vs $7,78\pm 5,75$, $p<0,001$; $0,01\pm 0,033$ vs $0,02\pm 0,022$, $p=0,014$, соответственно), что определяет изменение тактики ведения пациентов.
4. Не обнаружено влияние на показатели эффективности и безопасности препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, активности изофермента *CYP2D6* (оцененная по отношению концентрации 6-НО-ТНВС к концентрации пинолина в моче) у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой. Это доказывает, что данный фармакокинетический метод не подходит для прогнозирования эффективности и безопасности препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат.

5. Наличие полиморфизмов $1846G>A$ (*rs3892097*) и $100C>T$ (*rs1065852*) гена *CYP2D6* не влияет на активность изофермента CYP2D6 (С6-НО-ТНВС/СР $p=0,060$, $p=0,062$, соответственно). Это свидетельствует об отсутствии влияния полиморфизмов на активность изофермента CYP2D6.
6. Выявление генотипов *GA* по полиморфному маркеру $1846G>A$ (*rs3892097*) и *CT* по полиморфному маркеру $100C>T$ (*rs1065852*) гена *CYP2D6* прогнозирует развитие брадикардии (чувствительность - 62% специфичность - 18,2%, OR=7,381,95% ДИ=2,24-13,52, $p<0,001$; чувствительность - 60% специфичность - 19,6%, OR=6,975, 95% ДИ=2,03-13,53, $p<0,001$, соответственно).
7. Выявление генотипов *GA* по полиморфному маркеру $1846G>A$ (*rs3892097*) и *CT* по полиморфному маркеру $100C>T$ (*rs1065852*) гена *CYP2D6* прогнозирует замедление атриовентрикулярной проводимости (чувствительность - 66% специфичность - 13,3%, OR=7,678, 95% ДИ=0,002-0,044, $p=0,03$; чувствительность - 64,3% специфичность - 20,6%, OR=6,923, 95% ДИ=0,002-0,042, $p=0,014$, соответственно).

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

- Предложено проведение генотипирования *CYP2D6 1846G>A (rs3892097)* и *100C>T (rs1065852)* перед назначением препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой и сопутствующими сердечно-сосудистыми заболеваниями, с целью прогнозирования риска развития брадикардии и нарушения атриовентрикулярного проведения.
- Предложено при выявлении гетерозиготного носительства по полиморфизмам *1846G>A* и *100C>T* гена *CYP2D6* и назначении препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, рекомендована консультация кардиолога.
- Для прогнозирования эффективности препаратов, содержащих 0,5% тимолола малеат, у пациентов с ПОУГ не целесообразно проводить фармакогенетическое тестирование по полиморфизмам *1846G>A (rs3892097)* и *CT 100C>T (rs1065852)* гена *CYP2D6*.
- Для прогнозирования эффективности и безопасности препаратов, содержащих 0,5% тимолола малета, не целесообразно определение активности изофермента *CYP2D6* (оцененная по отношению концентрации 6-НО-ТНВС к концентрации пинолина в моче) у пациентов с ПОУГ.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АД - артериальное давление

ВГД - внутриглазное давление

ВЭЖХ-МС/МС - высокоэффективная жидкостная хроматомасс-спектрометрия

ДАД – диастолическое артериальное давление

ДЗН – диск зрительного нерва

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

к.б.н.- кандидат биологических наук

к. фарм.н - кандидат фармацевтических наук

ЛС - лекарственное средство

м.н.с. - младший научный сотрудник

МО - метаболическое отношение

НЛР - нежелательная лекарственная реакция

ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома

ПЦР - полимеразная цепная реакция

САД – систолическое артериальное давление

ТФЭ-твердофазная экстракция

ЧСС - частота сердечных сокращений

С – коэффициент легкости оттока

СYP2D6 - цитохром P450 2D6 (соответствующий ген обозначен курсивом)

С6-НО-ТНВС - 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-бета-карболин

С6-НО - ТНВС/СР - отношение концентрации 6-гидрокси-1,2,3,4- тетрагидро-бета-карболина к концентрации пинолина в моче

F – минутный объем внутриглазной жидкости

MD - среднее отклонение (mean deviation)

PM - «медленный» метаболитатор

PSD - стандартное отклонение паттерна (pattern standard deviation)

rs- коэффициент корреляции Спирмена

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдрашитов Р.Х. Обзор существующих методик оценки активности СYP2D6 с применением экзогенных и эндогенных маркеров/Г.Н. Гильдеева, Г.В.Раменская, В.В.Смирнов//Фармакокинетика и фармакодинамика. - 2015.-№1.- С. 4-11.
2. Алексеев В.Н. Анализ основных причин прогрессирования первичной открытоугольной глаукомы/В.Н.Алексеев, Е.А.Егоров, О.А.Малеванная и др.//РМЖ. Клиническая офтальмология. - 2014.-№4.- С. 218-223.
3. Алексеев И.Б. Опыт применения Проксофелина у больных открытоугольной глаукомой I-II стадий и системной артериальной гипертензией/И.Б.Алексеев И.Б., А.И.Самойленко, В.Е.Белкин, О.И.Абрамова, А.К.Айларова, М.М.Сошина //Национальный журнал глаукома. - 2018.-№4.- С. 75-78.
4. Антонов А.А. Максимальная медикаментозная терапия глаукомы — что есть в нашем арсенале? /А.А.Антонов, И.В. Козлова, А.А.Витков//Национальный журнал глаукома. - 2020.-№19(2).- С. 51-58.-DOI:<https://doi.org/10.25700/NJG.2020.02.06>
5. Бочков Н.П. Генетические подходы к оценке безопасности и эффективности лекарственных средств/Н.П.Бочков//Клинические исследования лекарственных средств в России. - 2002; №2. – С. 4-6.
6. Волков В.В. Глаукома, преглаукома, офтальмогипертензия (дифференциальная диагностика)/В.В. Волков, Л.Б. Сухинина, Е.И.Устинова.- Л.:Медицина,1985. - 121-137 с.
7. Вялков А.И. Концепция персонализированной медицины в предметной области «нейромедицина» на технологической платформе «Медицина здоровья»/А. И. Вялков, С.А. Мартыничик и др.//Здравоохранение Российской Федерации. — 2014. — Т. 58, № 6. — С. 4–9.
8. Габдрахманова А.Ф., Курбанов С.А., Кунафина Е.Р. Некоторые аспекты комплексного лечения открытоугольной глаукомы/А.Ф. Габдрахманова, С.А.Курбанов, Е.Р. Кунафина// Мед. вестник Башкортостана. – 2014. - №2. – С. 42-45.

9. Гетманова А.М. Терапия системных заболеваний как фактор риска развития и прогрессирования глаукомы/А.М. Гетманова, А.Ю. Брежнев, А.В. Куроедов и др.//Клиническая офтальмология. – 2020. - №20(4). – С. 191-196. - DOI: 10.32364/2311-7729-2020-20-4-191-196.
10. Егоров Е.А. Глаукома. Национальное руководство/ Е.А. Егоров, Ю.С. Астахов, В.П. Еричев. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 824 с.
11. Егоров Е.А. Нежелательные явления гипотензивной терапии глаукомы/ Е.А. Егоров//Клиническая офтальмология. – 2007. - №8(4). – С. 144-147.
12. Егоров Е.А., Егоров А.Е. Бета-блокаторы в лечении глаукомы. Назад в будущее (литературный обзор)/Е.А. Егоров, А.Е. Егоров//РМЖ. Клиническая Офтальмология. – 2013. - №3. – С. 92.
13. Еричев В.П. О патогенезе первичной открытоугольной глаукомы/В.П. Еричев, А.Е. Егоров// Вестник Офтальмологии. – 2014. - №6. – С. 98-104.
14. Застрожин М.С. Фармакогенетический подход к назначению галоперидола у больных, страдающих алкогольной зависимостью, в период актуализации патологического влечения исследования системы биотрансформации и транспортеров для персонализации фармакотерапии (российский опыт). Сообщение второе: фармакогенетические исследования CYP2D6/М.С. Застрожин//Клиническая фармакология и терапия. - 2007.- №4.- с. 62-66.
15. Казанова С.Ю. Анализ приверженности лечению пациентов с хроническими заболеваниями/С.Ю. Казанова//Национальный журнал глаукома. – 2018. - №17(3). – С. 97-110.
16. Киселева О.А. Лекарственные взаимодействия антиглаукомных препаратов на фоне общих хронических заболеваний/О.А. Киселева, С.М. Косакян, Л.В. Якубова, Л.В. Василенкова//РМЖ. Клиническая офтальмология. - 2016. - №1.- С.16-19.
17. Киселева О.А. Влияние гипотензивных препаратов на гемодинамику глаза/О.А. Киселева., С.А. Макуха, Л.В. Якубова//Российская педиатрическая офтальмология. - 2013.- №2-С.48-55.

18. Кукес В.Г. Метаболизм лекарственных средств: клинико-фармакологические аспекты/В.Г. Кукес// — М.: Издательство «Реафарм», 2004. — 144 с.
19. Кукес В.Г. Влияние индивидуальных особенностей пациентов на риск развития нежелательных лекарственных реакций/В.Г. Кукес, Д.А. Сычев, Аль-Ахмед Фейсал, В.А. Дмитриев// Вестник Росздравнадзора. – 2011. - №6. – С. 59-63.
20. Кукес В.Г. Фармакогенетика системы биотрансформации и транспортеров лекарственных средств: от теории к практике/В.Г. Кукес, Д.А. Сычев, Г.В. Раменская, И.В. Игнатъев// Биомедицина. – 2007. - №6. – С. 29-47.
21. Куроедов А.В. Комплаенс в терапии глаукомного больного. [Электронный ресурс]. - М.: ГЭОТАР-Медиа; 2017. Электронный модуль. Код доступа [http:// www.rosmedlib.ru/book/07-MOD-2330.html](http://www.rosmedlib.ru/book/07-MOD-2330.html)
22. Куроедов А.В. Продолжительность гипотензивного действия антиглаукомных препаратов. РМЖ/А.В. Куроедов А.В., А.Ю. Брежнев// Клиническая офтальмология. – 2016. - №4. – С. 214-219.
23. Курышева Н.И. Бетаксолол в лечении первичной глаукомы./Н.И. Курышева//Национальный журнал глаукома. – 2006. - №2. – С. 73-76.
24. Лекции по фармакогенетике/ С.Б. Середенин – М.: «МИА», 2004. – 303 с.
25. Ловпаче Дж.Н., Завадский П.Ч., Зверева О.Г. и др. Комплаентность и персистентность пациентов с первичной открытоугольной глаукомой с позиции офтальмолога/Дж.Н. Ловпаче, П.Ч. Завадский, О.Г. Зверева и др.//Национальный журнал глаукома. – 2020. - №19(2). – С. 11-21.
26. Малишевская О.И. Оптимизация лекарственной помощи больным глаукомой на уровне региона (на примере Тюменской области): автореф. дис. ... к-та фарм. Наук: 14.04.03/Малишевская Ольга Ивановна-Москва, 2015.-19 с.
27. Мошетьова Л.К. Взаимодействие лекарственных средств в офтальмологической практике. Противоглаукомные препараты/Л.К. Мошетьова, М.М. Сошина, Д.А. Сычев, К.И. Туркина// Сборник научных трудов. Под редакцией Е.А. Егорова. - 2018. - С.30-35.

28. Мошетова Л.К. Полипрагмазия в офтальмологической практике/Л.К. Мошетова, М.М. Сошина, Д.А. Сычев, К.И. Туркина и др.// Врач. – 2018.- №29 (7). - С. 40–43.
29. Мошетова Л.К. Прикладная фармакогенетика для персонализации ведения пациентов с глаукомой/ Л.К. Мошетова, М.М. Сошина, Д.А. Сычев, К.И. Туркина// Фармакогенетика и фармакогеномика. - 2020. - №1.- С.26-34.
30. Мошетова Л.К. Фармакогенетика тимолола/ Л.К. Мошетова, М.М. Сошина, Д.А. Сычев, К.И. Туркина и др.//Вестник офтальмологии.-2019-№3.-С.137-143.
31. Национальное руководство по глаукоме для практикующих врачей, 3-е издание / под ред. Е. А Егорова, проф. Ю. С. Астахова, проф. В. П. Еричева. - М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2015. - 12с..
32. Нероев В.В. Основные результаты мультицентрового исследования эпидемиологических особенностей первичной открытоугольной глаукомы в Российской Федерации/В.В. Нероев, О.А. Киселева, А.М. Бессмертный//Российский офтальмологический журнал. - 2013. - №3(6). - С.4-7.
33. Нестеров А.П. Глаукомная оптическая нейропатия/А.П; Нестеров//Вестник офтальмологии. -1999.-№4-С.3-6.
34. Офтальмология: национальное руководство / под ред. С.Э. Аветисова, Е.А. Егорова, Л.К. Мошетовой, В.В. Нероева, Х.П. Тахчиди - М.: «ГЭОТАР-Медиа», 2018. - 700-713 с.
35. Офтальмология: национальное руководство / Под ред. С.Э. Аветисова, Е.А. Егорова, Л.К. Мошетовой, В.В. Нероева, Х.П. Тахчиди- М. : «ГЭОТАР- Медиа», 2013. – 716 с.
36. Попова О. Е. Проблемы скрининга глаукомы: поиск маркёров индивидуальной предрасположенности/О.Е. Попов, Л.Я. Яблонская// Национальный журнал Глаукома. - 2013. - №3(2). - С.140-148.
37. Руководство по клинической офтальмологии/А.Ф.Бровкина, Ю.С. Астахов, и др. - М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2014. – 569 с.

38. Савельева О.Н. Патогенез первичной открытоугольной глаукомы/О.Н. Савельева// Вестник науки и образования. - 2016. - №11. - С. 10-11.
39. Сошина М.М. Прикладная фармакогенетика для персонализации ведения пациентов с глаукомой/ М.М. Сошина, Л.К. Мошетова// Прикладная фармакогенетика: Монография / Под ред. Д.А. Сычева. – М.–Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2021. – 460-476 с.
40. Старикова Д.И. Генетические исследования при первичной открытоугольной глаукоме/Д.И. Старикова, М.И. Чурносков// РМЖ. Клиническая офтальмология. -2017.-№1-С.49-52.
41. Сычев Д.А. Введение в клиническую фармакогенетику. Клиническая фармакогенетика как инструмент персонализированной медицины/ Д.А. Сычев, Г.В. Раменская, В.Г. Кукес, Е.В. Ших//Прикладная фармакогенетика: Монография / Под ред. Д.А. Сычева. – М.–Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2021. – 9-72 с.
42. Сычев Д.А., Раменская Г.В., Игнатъев И.В., Кукес В.Г. Клиническая фармакогенетика/Под редакцией Кукеса В.Г., Бочкова Н.П.// М.: Гэотар-Медиа. – 2007. – С. 248.
43. Сычев Д.А. Этапы разработки и внедрения технологий персонализированной медицины в клиническую практику: роль Минздрава России и Российской академии наук/Д.А. Сычев// World Journal of Personalized Medicine. – 2017. – Т. 1. – №1. – С.1-4. doi: 10.14341/WJPM9264
44. Сычев Д.А. Фармакогенетические исследования системы биотрансформации и транспортеров для персонализации фармакотерапии в кардиологии (российский опыт). Сообщение второе: фармакогенетические исследования CYP2D6/Д.А. Сычев, И.В. Игнатъев, Г.В. Раменская, Д.А. Андреев, Р.Е. Казаков и др.//Клиническая фармакология и терапия. - 2007.- NN№4.- С. 62-66.
45. Сычев Д.А. Клинико-фармакологические аспекты сочетанной патологии: сердечно-сосудистые заболевания и глаукома/Д.А. Сычев, Л.К. Мошетова//Национальный журнал глаукома. - 2014.-№2(13). – С. 99-104.

46. Сычев Д.А. Фармакогенетика при лечении глаукомы: настоящее и будущее/Д.А. Сычев, А.В. Рожков, И.Б. Алексеев// Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2016. – № 2. – С. 13–17.
47. Сычев Д.А. Доказательная фармакогенетика: возможно ли это?/Д.А. Сычев// Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2015. - №1. – С.3.
48. Сычев Д.А. Персонализированная медицина: взгляд клинического фармаколога/ Д.А. Сычев, Г.Н. Шуев, Е.С. Торбенков, М.А.Адриянова//Consilium Medicum. - 2017.-№1. – С. 61-68.
49. Удовиченко Е.В. Необоснованная постановка диагноза «Глаукома» и одномоментное назначение гипотензивной терапии/Е.В. Удовиченко, А.Л. Жиров, Е.Л. Сорокин//Отражение. – 2019. - №9(2). – С. 40-43.
DOI:<https://doi.org/10.25276/2686-6986-2019-2-40-43>
50. Фармакогенетическое тестирование: клиническая интерпретация результатов. Рекомендации для практикующих врачей / Сычев Д.А. – М.: «Литех», 2011. – 27–30 с.
51. Филимонова Е.Э. Развитие системных аддитивных эффектов при приёме β-блокаторов у больных глаукомой на фоне хронических заболеваний/Е.Э. Филимонова, М.А. Есина, М.П. Коган, Е.Л. Сорокин//Современные технологии в офтальмологии. – 2018. - №2. – С. 209-213.
52. Фокин В.П. Эффективность применения бринзоламида и его сочетания с тимололом малеатом в лечении первичной открытоугольной глаукомы/В.П. Фокин, С.В. Балалин, А.С. Балалин//Национальный журнал глаукома. – 2021. - №20(3). – С. 78-85.
53. Чаукина С.В. Клинико-фармакологические аспекты метаболизма лекарственных средств под действием изофермента цитохрома P-450 CYP2D6/С.В. Чаукина//Трудный пациент. – 2008. - №14(5). – С. 31-33.
54. Чупров А.Д., Лосицкий А.О., Трубников В.А., Казакова Т.Н. Эпидемиологические особенности распространения глаукомы среди населения Российской Федерации/А.Д. Чупров, А.О. Лосицкий, В.А. Трубников, Т.Н. Казакова//Национальный журнал глаукома. – 2021. - №20(3). – С. 3-10.

55. Allen R.C. A double — masked comparison of betaxolol vs. timolol in the treatment of open — angle glaucoma/R.C. Allen, E. Hertzmark, A.M. Walker, D.L. Epstein//American Journal of Ophthalmology. — 1986. - №101(535). — P. 41. DOI: [http://doi.org/10.1016/0002-9394\(86\)90942-6](http://doi.org/10.1016/0002-9394(86)90942-6)
56. Allison K. Epidemiology of glaucoma: the past, present, and predictions for the future/ K. Allison, D. Patel, O. Alabi// Cureus. - 2020. - №12(11). — P. e11686. DOI: [doi:10.7759/cureus.11686](https://doi.org/10.7759/cureus.11686)
57. Alvan G. Absorbtion of ocular timolol/G. Alvan, B. Calissendorf, P. Seideman, K. Wildmark, G. Wildmark//Clinical Pharmacokinetics. — 1980. - №5(1). — P. 95-100. DOI: <http://doi.org/10.2165/00003088-198005010-00004>
58. Alvan G. High plasma concentrations of beta- receptor blocking drugs and deficient debrisoquine hydroxylation/G. Alvan, C. von Bahr, P. Seidemann, F. Sjöqvist//Lancet. — 1982. - Vol.319 — P. 333. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0140-6736\(82\)91583-5](http://doi.org/10.1016/s0140-6736(82)91583-5)
59. Bayer A.U. Association of glaucoma with neurodegenerative diseases with apoptotic cell death: Alzheimer’s disease and Parkinson’s disease/A.U. Bayer, O.N. Keller, F. Ferrari, K.P. Maag// Am. J. Ophthalmol. — 2002. - №133(1). — P. 135-137.
60. Bertelsen K.M. Apparent mechanism- based inhibition of human CYP2D6 in vitro by paroxetine: comparison with fluoxetine and quinidine/K.M. Bertelsen, K. Venkatakrishnan, L.L. Von Moltke, et al.//Drug Metabolism and Disposition. — 2003. — Vol.31. — P. 289-293.
61. Bertilsson L., Molecular genetics of CYP2D6: clinical relevance with focus on psychotropic drugs / L. Bertilsson, M. L. Dahl, P. Dalen, A. Al-Shurbaji // Br. J. Clin. Pharmacol. - 2002. - Vol. 53. - P. 111-122.
62. Bijl M.J. Genetic variation in the CYP2D6 gene is associated with a lower heart rate and blood pressure in b-blocker users/M.J. Bijl, L.E. Visser, R.H. van Schaik, et al.//Clin. Pharmacol. Ther. - 2009. - Vol. 85. - P. 45-50.
63. Bjornsson T. D. The conduct of in vitro and in vivo drug-drug interaction studies: A pharmaceutical research and manufacturers of America (PhRMA)

perspective/T. D. Bjornsson, J. T. Callaghan, H. J. Einolf, et al.//Drug Metabolism and Disposition. - 2003. - Vol. 31. - № 7. - P. 815-832.

64. Bogni A. Substrate specific metabolism by polymorphic cytochrome P450 2D6 alleles / A. Bogni, M. Monshouwer, A. Moscone // Toxicology in Vitro.- 2005. - Vol. 19. - P. 621-629.

65. Brauner S.C., Chen T.C., Hutchinson B.T. The course of glaucoma during pregnancy: a retrospective case series. Archives of Ophthalmology. 2006;124:1089-1094. <http://doi.org/10.1001/archophth.124.8.1089>

66. Brayfield A. (ed.) Timolol Maleate [Электронный ресурс]/A. Brayfield// Martindale: Complete Drug Reference. London: Pharmaceutical Press. - 2016. Режим доступа:

<https://www.medicinescomplete.com/mc/excipients/current/search.htm?q=Timolol%20Maleate.%20Martindale%3A%20Complete%20Drug%20Reference>

67. Clinical Guide to Glaucoma management / E.J. Higginbotham, D.A. Lee. - Butterworth & Heinemann Elsevier Inc, 2004. -№ 7. - 107–122p.

68. Craiglow B.G. Management of infantile hemangiomas: current and potential pharmacotherapeutic approaches/B.G. Craiglow, R.J. Antaya//Pediatr. Drugs.- 2013.- №15.-P. 133-138.

69. Felmlee M.A. et al. Cytochrome P450 expression and regulation in CYP3A4/CYP2D6 double transgenic humanized mice/M.A. Felmlee et al.// Drug Metab. Dispos. — 2008. — №36. — P. 435-44.

70. Fourtillan J.B. Pharmacokinetics of oral timolol studied by mass fragmentography. European Journal of Clinical Pharmacology/J.B. Fourtillan, P. Courtois, M.A. Lefebvre, J. Girault//1981. – Vol.19. - №3.- P.193-196. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf00561948>.

71. Fux R. Impact of CYP2D6 genotype on adverse effects during treatment with metoprolol: a prospective clinical study/R. Fux, K. Morike, A.M. Prohmer et al.//Clin. Pharmacol. Ther. – 2005. - №78. P.378-387.

72. Gaedigk A. Prediction of CYP2D6 phenotype from genotype across world populations/A. Gaedigk et al.//Genetics in Medicine. – 2017.-Vol.1.- №19. P.69–76.

73. Gaedigk A. Unique CYP2D6 activity distribution and genotype-phenotype discordance in black Americans/A. Gaedigk, L.D. Bradford, K.A. Marcucci, J.S. Leeder//Clinical Pharmacology & Therapeutics. – 2002. – Vol. 72. - №1.-P. 76–89. DOI: <http://doi.org/10.1067/mcp.2002.125783>
74. Gaikovitch E.A. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP1A1, NAT2 and of P-glycoprotein in a Russian population/E.A. Gaikovitch, I. Cascorbi, P.M. Mrozikiewicz, J. Brockmöller, R. Frötschl et al.//European Journal of Clinical Pharmacology. – 2003.- Vol. – 59. - №4. P. 303-12. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00228-003-0606-2>
75. Gao L.C. Influence of PTGS1, PTGFR, and MRP4 genetic variants on intraocular pressure response to latanoprost in Chinese primary open-angle glaucoma patients/L.C. Gao, D. Wang, F.Q. Liu et al.// Eur. J Clin. Pharmacol. - 2015. - Vol. 71. - №1. - P. 43–50.
76. Ghate D. Barriers to glaucoma drug delivery/D. Ghate, H.F. Edelhauser H.F.//Journal of Glaucoma. - 2008. - №17. – P.147-156. DOI: <http://doi.org/10.1097/jjg.0b013e31814b990d>
77. Goldberg I. Topical ophthalmic medications: what potential for systemic side effects and interactions with other medications?/I. Goldberg, G. Moloney, P. McCluskey//The Medical Journal of Australia. - 2008. - №189. – P. 356-357.
78. Gordon M.O. The Ocular Hypertension Treatment Study: baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma/ M.O. Gordon, J.A. Beiser, J.D. Brandt et al.//Arch. Ophthalmol. - 2002. – Vol. 120. - №6. P.714–720; discussion P.829–730.
79. Grieshaber M.C. Blood flow in glaucoma/M. C. Grieshaber, J. Flammer//Curr. Opin. Ophthalmol. – 2005. – Vol.16. - №3. - P.79—83.
80. Grieshaber M.C. Is the medication used to achieve the target intraocular pressure in glaucoma therapy of relevance? An exemplary analysis on the basis of two beta-blockers/M. C. Grieshaber, J. Flammer//Progress in Retinal and Eye Research. – 2010.-№29. – P.79-93. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2009.08.002>

81. Gupta N. Human glaucoma and neuronal degeneration in the intracranial optic nerve, lateral geniculate nucleus and visual cortex of the brain/N. Gupta, L.C. Ang, L. Noel de Tilly, Y.H. Yucel//Br. J. Ophthalmol. – 2006. – Vol.90. - №6. - P. 674—678.
82. Hakkola J. Expression of xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 forms in human adult and fetal liver/J. Hakkola, M. Pasanen, R. Purkunen et al.// Biochem. Pharmacol. – 1994. - №48. – P.59-64.
83. Hohn R. Cardiovascular medication and intraocular pressure: results from the Gutenberg Health Study/R. Hohn, A. Mirshahi, S. Nickels et al.//Br. J. Ophthalmol. – 2017. – Vol. – 101. - №12. – P.1633– 1637. DOI: 10.1136/bjophthalmol-2016-309993.
84. Jiang X.L. Pinoline may be Used as a Probe for CYP2D6 Activity/X.L. Jiang, H.W. Shen, A.M. Yu// Drug Metabolism and Disposition. — 2013. — № 37(3). — P. 443-446.
85. Korte J.M. Systemic bioavailability and cardiopulmonary effects of 0.5% timolol eye drops/Juha — Matti Korte, K. Timo, Matti K. Saari//Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology. – 2002. - №240. – P.430-435. DOI: <http://doi.org/10.1007/s00417-002-0462-2>
86. Kitada M. Genetic polymorphism of cytochrome P450 enzymes in Asian populations: focus on CYP2D6/M. Kitada//International journal of clinical pharmacology research. – 2003.- Vol.1. - №23. - P. 31–35.
87. Laverty R. Catecholamines: role in health and disease/R. Laverty//Drugs. – 1978. – Vol.16. - №5. – P. 418-40. doi: 10.2165/00003495-197816050-00003.
88. Leier C.V. Cardiovascular effects of ophthalmic timolol/C.V. Leier, N.D. Baker, P.A. Weber//Ann. Intern. Med. – 1986. – Vol.104. - №2. – P.197-9. doi: 10.7326/0003-4819-104-2-197.
89. Lewis R.V. Timolol and atenolol: relationships between oxidation phenotype, pharmacokinetics and pharmacodynamics/R.V. Lewis, M.S. Lennard, P.R. Jackson et al.//British Journal of Clinical Pharmacology. – 1985. - №19. – P. 329-333. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1985.tb02651.x>
90. Li T. Comparative Effectiveness of First-Line Medications for Primary Open-Angle Glaucoma: A Systematic Review and Network Meta-analysis/T. Li, K. Lindsley, B.

Rouse et al.//Ophthalmology. – 2016. – Vol.123. - №1. P.129-40. doi: 10.1016/j.ophtha.2015.09.005.

91. Liu Y., Allingham R. Molecular genetics in glaucoma/Y. Liu, R. Allingham//Experimental eye research. – 2011.- Vol.93. – P.331-339.

92. LLerena A. Interethnic variability of CYP2D6 alleles and of predicted and measured metabolic phenotypes across world populations/A. LLerena et al.//Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology. – 2014. Vol. – 11. - №10. – P.1569–1583.

93. Maskens R.P. Topical beta-blockers and mortality/R.P. Maskens, R.C. Wolfs, J.C. Witteman, A. Hofman et al.// Ophthalmology. – 2008. - Vol. 115. - №11. – P. 2037–2043. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ophtha.2008.07.004>

94. Mäenpää J. Cardiac safety of ophthalmic timolol/J. Mäenpää, O. Pelkonen//Expert Opinion on Drug Safety. – 2016. – Vol.15. -№11. – P. 1549-1561.

95. Mäenpää J. Paroxetine markedly increases plasma concentrations of ophthalmic timolol; CYP2D6 inhibitors may increase the risk of cardiovascular adverse effects of 0.5% timolol eye drops/J. Mäenpää, M. Volotinen-Maja, H. Kautiainen et al.//Drug Metabolism and Disposition. – 2014. - №42. – P.2068-2076.

96. McCarty C.A. Intraocular pressure response to topical beta-blockers associated with an ADRB2 single-nucleotide polymorphism/C.A. McCarty, J.K. Burmester, B.N. Mukesh et al.// Arch. Ophthalmol. - 2008. - Vol. 126. №7. - P. 959–963.

97. McGourty J.C. Pharmacokinetics and beta-blocking effects of timolol in poor and extensive metabolizers of debrisoquin/J.C. McGourty, J.H. Silas, J.J. Fleming//Clinical Pharmacology and Therapeutics. – 1985. - №38. – P. 409-413. DOI: <http://doi.org/10.1038/clpt.1985.195>

98. McLellan R.A. Ingelman-Sundberg Frequent occurrence of CYP2D6 gene duplication in Saudi Arabians/M. Oscarson, J. Seidegård, D. A. Evans// Pharmacogenetics. – 1997. – Vol.7. - №3. - P.187-91.

99. Mendez-Hernandez C. Topical intraocular pressure therapy effects on pregnancy/C. Mendez-Hernandez, J. Garcia-Feijoo, F. Saenz-Frances et al.//Clinical Ophthalmology. – 2012. - №6. P. 1629-1632. DOI: <http://doi.org/10.2147/oph.s36712>

100. Mirzaev K.B. Interethnic differences in the prevalence of main cardiovascular pharmacogenetic biomarkers/K.B. Mirzaev et al.//Pharmacogenomics. – 2020. - Vol.10. - №21. P. 677–694.
101. Mirzaev K.B. et al. ADME pharmacogenetics: future outlook for Russia/ K.B. Mirzaev et al.// Pharmacogenomics. – 2019. – Vol.11. - №20. P. 847–865.
102. Moroi S.E. Progress toward personalized medicine for glaucoma/S. E. Moroi, Duna A. Raouf et al.//Expert Rev. Ophthalmol. – 2009. – Vol.4(2). – P. 145-161.
103. Nieminem T. Polymorphisms of genes CYP2D6, ADRB1, and GNAS1 in pharmacokinetics and systemic effects of ophthalmic timolol. A pilot study/ T. Nieminem, H. Uusitalo, J. Maenpaa, V. Turjanmaa, A. Rane, S.R. Lundrgen et al.//Eur. J. Pharmacol. – 2005. -№ 61. – P.811–819.
104. Nieminen T. Ophthalmic timolol: plasma concentration and systemic cardiopulmonary effects/T. Nieminen, T. Lehtimaki, J. Maenpaa, A. Ropo, H. Uusitalo, M. Kähönen//Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation. – 2007. -№67. P. 237-45. DOI: <http://doi.org/10.1080/00365510601034736>
105. Nouri-Mahdavi K. Predictive factors for glaucomatous visual field progression in the Advanced Glaucoma Intervention Study/K. Nouri- Mahdavi, D. Hoffman et al.//Ophthalmology. – 2004. - Vol.111. - №9. – P.1627-1635.
106. Payne R. Prevalence of polypharmacy in a Scottish primary care population/R. Payne, A. Avery, M. Duerden M. et al.//European Journal of Clinical Pharmacology. – 2014. – Vol. 79. - №5. – P.575-581.
107. Petrović J. Frequencies of clinically important CYP2C19 and CYP2D6 alleles are graded across Europe/J. Petrovic, V. Pešić, V.M. Lauschke//European Journal of Human Genetics. – 2020. – Vol.1. - №28. - P.88–94.
108. Preskorn S.H. Cytochrome P450 2D6 Phenoconversion Is Common in Patients Being Treated for Depression: Implications for Personalized Medicine/ Preskorn S.H. et al.//The Journal of Clinical Psychiatry. - 2013. – Vol. - 74(6). – P.614-621. DOI: <http://doi.org/10.4088/jcp.12m07807>

109. Raphael M.F. Treatment of infantile hemangiomas: therapeutic options in regard to side effects and adverse events - a review of the literature/M.F. Raphael, J.M. Breur, F.A. Vlasveld, et al.//Expert. Opin. Drug. Saf. – 2016. - №15. – P.199-214
110. Roughead E.E. Multimorbidity, care complexity and prescribing for the elderly/E.E. Roughead, A.I. Vitry, G.E. Caughey, A.L. Gilbert//Aging Health. – 2011. – Vol.7(5). – P.695–705.
111. Sakanaka K. Transport of timolol and tilisolol in rabbit corneal epithelium/K. Sakanaka, K. Kawazu, K. Nishida, J. Nakamura et al.// Biological & Pharmaceutical Bulletin. – 2006. - №29. – P.2143-2147. DOI: <http://doi.org/10.1248/bpb.29.2143>
112. Sakurai M. Association between genetic polymorphisms of the prostaglandin F2alpha receptor gene, and response to latanoprost in patients with glaucoma and ocular hypertension/M. Sakurai, T. Higashide, S. Ohkubo et al.// Br. J Ophthalmol. - 2014. - Vol. 98 (4). - P. 469–473.
113. Schuman J.S. Effects of systemic beta-blocker therapy on the efficacy and safety of topical brimonidine and timolol. Brimonidine Study Groups 1 and 2/J.S. Schuman//Ophthalmology. – 2000. – Vol.107(6). – P.1171–1177. DOI: 10.1016/s0161-6420(00)00081-6
114. Schwartz S.G. Beta — 1 adrenergic receptor polymorphisms and clinical efficacy of betaxolol hydrochloride in normal volunteers/S.G. Schwartz, B.J. Puckett, R.C. Allen et al.//Ophthalmology. – 2005. - №112. P. 2131 — 6.
115. Siest G. Pharmacogenomics and drug response in cardiovascular disorders/G. Siest, E. Jeannesson, H. Berrahmoune, S. Maumus, J.B.Marteau, S. Mohr, S. Visvikis//Pharmacogenomics. – 2004. – Vol.5. – P.779–802. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0003-4509\(07\)90037-1](http://doi.org/10.1016/s0003-4509(07)90037-1)
116. Stevens J.C. Developmental changes in human liver CYP2D6 expression/J.C. Stevens, S.A. Marsh, M.J. Zaya et al.// Drug. Metab. Dispos. - 2008. – Vol.36. – P.1587-1593.
117. Timolol Maleat tablet[Электронный ресурс]. -Mylan Pharmaceuticals Inc., 2020.

<https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=57c62928-63d8-4505-9b9e-c085a3a12c95>

118. Valvo E. Effects of timolol on blood pressure, systemic hemodynamics, plasma renin activity, and glomerular filtration rate in patients with essential hypertension/E. Valvo, L. Gammara, N. Tessitore, A. Fabris et al.// *Int. J Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.* – 1984. – Vol.22(3). – P.156-61.

119. Volotinen M. Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on timolol metabolism in human liver microsomes and cryo-preserved hepatocytes/M. Volotinen, T. Korjamo, A. Tolonen et al.// *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology.* - 2010. – Vol.106. – P.302-309.

120. Volotinen M. Ophthalmic timolol in a hydrogel vehicle leads to minor inter-individual variation in timolol concentration in aqueous humor/M. Volotinen, J. Mäenpää, H. Kautiainen, A. Tolonen et al.//*European Journal of Pharmaceutical Sciences.* – 2009. – Vol.36. – P.292-296. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.ejps.2008.10.004>

121. Volotinen M. Timolol metabolism in human liver microsomes is mediated principally by CYP2D6/M. Volotinen, M. Turpeinen, A. Tolonen, J. Uusitalo et al.//*Drug Metabolism and Disposition.* – 2007. Vol.35. – P.1135- 1141. DOI: <http://doi.org/10.1124/dmd.106.012906>

122. Wagenvoort A.M. Topical timolol therapy in pregnancy: is it safe for the fetus?/A.M. Wagenvoort, J.M. van Vugt, M. Sobotka, H.P. van Geijn//*Teratology.* – 1998. – Vol.58. – P.258-262. [http://doi.org/10.1002/\(sici\)10969926\(199812\)58:6%3C258::aid-tera7%3E3.0.co;2-b](http://doi.org/10.1002/(sici)10969926(199812)58:6%3C258::aid-tera7%3E3.0.co;2-b)

123. Walckiers D. Factors associated with excessive polypharmacy in older people/D. Walckiers, J. Van der Heyden J. et al.//*Archives of Public Health.* – 2015. – Vol.73. P.50. DOI 10.1186/s13690-015-0095-7.

124. Weibel L. Topical timolol: Evidence for efficacy and degree of systemic absorption/L.Weibel, M. Barysch, et al.// *Pediatric Dermatology.* -2016. -Vol. 33. P. 184-190.

125. Weinshilboum R. Inheritance and drug response/R. Weinshilboum//*New Engl. J Med.* – 2003. – Vol.348. P.529-537.

126. Wuttke H. Increased frequency of cytochrome P450 2D6 poor metabolizers among patients with metoprolol-associated adverse effects/H. Wuttke, T. Rau, R.Heide, K. Bergmann, M. Bohm, J. Weil, D. Werner, T. Eschenhagen//Clin. Pharmacol. Ther. – 2002. – Vol.72(4). – P.429-437.
127. Yang Y. Cytochrome oxidase 2D6 gene polymorphism in primary open — angle glaucoma with various effects to ophthalmic timolol/Y. Yang, K. Wu, H. Yuan, M. Yu//Ocular Pharmacology and Therapeutics. – 2009. -Vol.25. P.163-171. DOI: <http://doi.org/10.1089/jop.2008.0028>
128. Yarangymeli A., Kural G. Are there any benefits of Betoptic®S (betaxolol HCl ophthalmic suspension) over other β -blockers in the treatment of glaucoma?/A.Yarangymeli, G.Kural//Expert Opinion on Pharmacotherapy. – 2004. – Vol.5(5). – P.1071–1081. DOI: <https://doi.org/10.1517/14656566.5.5.1071>
129. Yu A. et al. Screening for endogenous substrates reveals that CYP2D6 is a 5-methoxyindolethylamine O-demethylase/A. Yu et al.// Pharmacogenetics. — 2003. — No 13. — P. 307-319.
130. Yuan H., Yu M., Yang Y., Wu K., Lin X., Li J. Association of CYP2D6 Single-Nucleotide Polymorphism with Response to Ophthalmic Timolol in Primary Open-Angle Glaucoma- a pilot study/H. Yuan, M. Yu, Y. Yang et al//Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics. – 2010. Vol.26(5). -P.497-501. DOI: <http://doi.org/10.1089/jop.2010.001>
131. Zhang W.Y. Expression and functional analysis of CYP2D6.24, CYP2D6.26, CYP2D6.27 and CYP2D7 isozymes/W.Y. Zhang et al. // Drug Metab. Dispos. — 2009. — No 37. — P. 1—4.
132. Zhou S.F. Polymorphism of human cytochrome P450 2D6 and its clinical significance/S.F. Zhou// Clinical Pharmacokinetics. – 2009. – Vol.48. – P.689-723. DOI: <http://doi.org/10.2165/11318030-000000000-00000>
133. Zimmerman F.H. Myocardial infarction in young adults: angiographic characterization, risk factors and prognosis (Coronary Artery Surgery Study Registry)/F.H. Zimmerman, A. Cameron, L.D. Fisher, G. Ng//Journal of the American College of

Cardiology. – 1995. – Vol.26(3). – P.654–661. DOI: [http://doi.org/ 10.1016/0735-1097\(95\)00254-2](http://doi.org/10.1016/0735-1097(95)00254-2)

134. Zimmerman T.J. Timolol, a beta-adrenergic blocking agent for the treatment of glaucoma/T.J. Zimmerman, H.E. Kaufman// Archives of Ophthalmology. – 1977. Vol. – 95. – P.601–604. DOI: <http://doi.org/10.1001/archophth.1977.04450040067008>

135. Zineh I. Pharmacokinetics and CYP2D6 genotypes do not predict metoprolol adverse events or efficacy in hypertension/I. Zineh, A.L. Beitelshes, A. Gaedigk et al.//Clin. Pharmacol. Ther. – 2004. Vol. – 76. -P.536-544.