

На правах рукописи

Китаева Елена Юрьевна

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И НЕГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ
ПРОГНОЗИРОВАНИЯ АНТИАГРЕГАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ
КЛОПИДОГРЕЛА У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ**

14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва - 2020

Работа выполнена в Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиале ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

член-корр. РАН, доктор медицинских наук,
профессор, профессор РАН

Сычёв Дмитрий Алексеевич

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Шпрах Владимир Викторович

Официальные оппоненты:

Кетова Галина Григорьевна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра поли-клинической терапии и клинической фармакологии, профессор кафедры

Решетько Ольга Вилоровна – доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России, кафедра фармакологии, заведующий кафедрой

Ведущая организация: ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки России

Защита состоится « 28 » апреля 2020 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.040.13 на базе ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

Диссертация доступна для ознакомления в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) по адресу: 119034, Москва, Зубовский бульвар, 37/1 и на сайте <https://sechenov.ru>.

Автореферат разослан « _____ » _____ 2020 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук,

Дроздов Владимир Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации

Инсульт является одной из ведущих медико-социальных проблем, что объясняется его широкой распространенностью, высокой смертностью и степенью инвалидизации населения (Суслина З.А., Пирадов М.А., Домашенко М.А., 2014). По данным статистического анализа ежегодно в России инсульт поражает около 500 тыс. человек с частотой 3–4,5 случая на 1 000 населения в год. При этом на долю ишемического инсульта (ИИ) приходится около 80–88 % случаев (Стаховская Л.В. и др., 2016). Антитромбоцитарная терапия является ключевым звеном как первичной, так и вторичной профилактики сердечно-сосудистых осложнений (инфаркт миокарда, ИИ) (Парфенов В.А., Вербицкая С.В., 2016). Основными проблемами антиагрегантной терапии являются лабораторная и клиническая резистентность, в том числе к клопидогрелу (Гринштейн Ю.И., Косинова А.А., Гринштейн И.Ю., 2013), а также геморрагические осложнения (Su Y., Cheng X., Dong Q., 2015). На клинико-лабораторную эффективность клопидогрела влияют генетические (носительство полиморфизмов генов системы цитохрома P-450 и гликопротеина P) и негенетические (возраст, сопутствующие заболевания, лекарственное взаимодействие) факторы, что продемонстрировано в исследованиях (Simon T., Danchin N., 2017). Недостаточно изученным остается вопрос о роли молекулярно-генетических маркеров (*CYP2C19*, *ABCB1*) и негенетических факторов в прогнозировании антиагрегантного действия клопидогрела у больных ИИ.

Частота аллельных вариантов гена *CYP2C19*, ассоциированных с измененным ответом на клопидогрел, зависит от расовой и этнической принадлежности. Поэтому фармакогенетические исследования должны включать изучение этнических особенностей распространения аллелей клинически значимых генов (Кукес В.Г. и др., 2015). Однонуклеотидный полиморфизм *CYP2C19*2* встречается у 25–30 % представителей европеоидной, 40 % негроидной и 55 % монголоидной рас; *CYP2C19*17* встречается у 5 % монголоидной, 25 % европеоидной и негроидной рас (Мирзаев К.Б., Андреев Д.А., Сычев Д.А., 2015; Martis S. et al., 2013). Доля пациентов-носителей хотя бы одной аллели *CYP2C19*3*, составляет среди европейцев менее 1 %, африканцев – менее 1 % и азиатов – 7 % (Мирзаев К.Б. и др., 2013). У бурят частота *CYP2C19*2* составляет 13,7 %, *CYP2C19*3* – 12,4 %, *CYP2C19*17* – 10,2 % (Зеленская Е.М. и др., 2019). Важную роль в нарушении антиагрегантного действия клопидогрела может играть гликопротеин P, кодируемый геном *ABCB1*. Частота аллельного варианта *ABCB1 (C3435C)* у лакцев составляет 68,48 %, русских – 54,3 % (Рыжикова К.А. и др., 2017).

Степень разработанности проблемы

В настоящее время роль генетических и негенетических факторов в прогнозировании антиагрегантного действия клопидогрела широко изучается. Так в исследованиях ELEVATE-TIMI 56 и ADRIE показано, что 10–30 % случаев высокой остаточной реактивности тромбоцитов (ОРТ) не ассоциированы с носительством медленных аллелей гена *CYP2C19*, что доказывает необходимость поиска дополнительных маркеров антиагрегантного действия клопидогрела. Остается недостаточно изученным вопрос связи между генетическими вариантами *CYP2C19*, *ABCB1* и эффективностью клопидогрела у пациентов с инсультом (McDonough C.W. et al., 2015; Mega J.L., Simon T., 2015).

Степень разработанности проблемы в России. Изучением влияния полиморфных маркеров генов *CYP2C19* и *ABCB1* на ОРТ занимались многие ученые в России (Голухова Е.З., Григорян М.В., Рябинина М.Н., 2014; Кнауэр Н.Ю. и др., 2013; Мацкеплишвили С.Т. и др., 2013; Сумароков А.Б. и др., 2014; Мазуров А.В. и др., 2014). Недостаточно изученным остается вопрос прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела у больных ИИ, а также связь молекулярно-генетических маркеров по *CYP2C19*, *ABCB1* с ОРТ у больных ИИ и клиническими особенностями течения ИИ.

Цель исследования

Усовершенствовать подход к прогнозированию антиагрегантного действия клопидогрела у больных ишемическим инсультом на основе влияния негенетических и генетических (*CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*), *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*), *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*) и *ABCB1* (*C3435T*, *rs1045642*)) факторов.

Задачи исследования

1. Оценить влияние негенетических факторов на антиагрегантное действие клопидогрела у больных ишемическим инсультом.
2. Изучить влияние генетических факторов (*CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*), *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*), *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*) и *ABCB1* (*C3435T*, *rs1045642*)) на антиагрегантное действие клопидогрела у больных ишемическим инсультом.
3. Сопоставить клинические особенности течения ишемического инсульта у пациентов, принимающих клопидогрел, с различными генотипами по аллельным вариантам *CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*), *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*), *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*) и *ABCB1* (*C3435T*, *rs1045642*).
4. Провести сравнительный анализ частоты аллелей и генотипов по *CYP2C19* (*CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*), *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*), *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*)) и

ABCB1 (C3435T, rs1045642), ассоциированных с изменением антиагрегантного действия клопидогрела, у представителей двух этнических групп (русские и буряты), проживающих на территории Прибайкалья.

5. Разработать способ прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела у больных ишемическим инсультом.

Научная новизна

Впервые изучена частота аллелей и генотипов по *CYP2C19 (CYP2C19*2 (G681A, rs4244285), CYP2C19*3 (G636A, rs4986893), CYP2C19*17 (C806T, rs12248560))* и *ABCB1 (C3435T, rs1045642)* у больных ИИ в Прибайкалье. **Впервые** определена связь этих молекулярно-генетических маркеров с функциональной активностью тромбоцитов и их влияние на антиагрегантное действие клопидогрела в динамике у больных ИИ. **Впервые** оценена связь клинических особенностей течения ИИ у пациентов, принимающих клопидогрел, с различными генотипами по аллельным вариантам *CYP2C19*2 (G681A, rs4244285), CYP2C19*3 (G636A, rs4986893), CYP2C19*17 (C806T, rs12248560)* и *ABCB1 (C3435T, rs1045642)*. **Впервые** проведен анализ частоты аллелей и генотипов по *CYP2C19*2 (G681A, rs4244285), CYP2C19*3 (G636A, rs4986893), CYP2C19*17 (C806T, rs12248560)* и *ABCB1 (C3435T, rs1045642)*, ассоциированных с изменением антиагрегантного действия клопидогрела, у представителей двух этнических групп (русские и буряты), проживающих на территории Прибайкалья. Разработан способ прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела у больных ИИ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные в исследовании результаты оценки влияния негенетических и генетических (полиморфизм генов *CYP2C19* и *ABCB1*) факторов на антиагрегантное действие клопидогрела, оценки сопоставимости клинических особенностей течения ИИ с различными генотипами по аллельным вариантам *CYP2C19* и *ABCB1*, а также выявленные особенности распространенности клинически значимых полиморфизмов гена *CYP2C19* у русских и бурят Прибайкалья позволят повысить уровень эффективности антиагрегантной терапии в рамках лечения и вторичной профилактики инсульта у данной категории больных, что может проявляться снижением частоты тромботических событий после перенесенного инсульта, уменьшением частоты повторных церебральных инсультов, минимизацией риска геморрагических осложнений на фоне приема клопидогрела. Результаты исследования могут быть использованы в образовательном процессе в рамках подготовки специалистов по неврологии, клинической фармакологии, терапии, кардиологии. Метод прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела у больных ИИ и алгоритм применения фармакогенетического тестирования внедряются в практическую меди-

цину и используются в неврологических отделениях для больных с острым нарушением мозгового кровообращения, кабинетах по профилактике инсультов в поликлиниках Иркутской области.

Положения, выносимые на защиту

1. Негенетическими факторами снижения антиагрегантного действия клопидогрела у больных ишемическим инсультом являются: женский пол, повторный ишемический инсульт, атеротромботический подтип ишемического инсульта, ожирение, высокий риск повторного инсульта (≥ 3 баллов по шкале риска повторных сердечно-сосудистых осложнений; The Essen Stroke Risk Score - ESRS); прием блокаторов медленных кальциевых каналов, ингибиторов АПФ, гиполипидемических препаратов, а также уровень общего холестерина более 6 ммоль/л и триглицеридов крови более 1,8 ммоль/л.

2. Носительство генотипа *GA* по аллельному варианту *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*) ассоциировано со сниженным антиагрегантным действием клопидогрела в динамике у больных ишемическим инсультом.

3. Отсутствует ассоциация носительства аллельных вариантов *CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*), *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*) и *ABCB1* (*C3435T*, *rs1045642*) с изменением антиагрегантного действия клопидогрела у больных ишемическим инсультом.

4. Носительство аллельных вариантов *CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*), *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*), *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*) влияет на клинические особенности течения ишемического инсульта.

5. У бурят частота носительства аллеля *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*), ассоциированного с недостаточным антиагрегантным действием клопидогрела, оказалась выше, а частота носительства аллеля *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*), ассоциированного с чрезмерным антиагрегантным действием клопидогрела, оказалась ниже, чем у русских.

6. Разработанный алгоритм, учитывающий клинико-лабораторные показатели пациентов с ишемическим инсультом, прогнозирует антиагрегантное действие клопидогрела.

Личный вклад

Автору принадлежит ведущая роль на всех этапах исследования: библиографический поиск и анализ публикаций по теме исследования, подготовка всех этапов исследования, сбор клинического материала, статистическая обработка и интерпретация полученных данных, написание публикаций и всех глав диссертации.

Степень достоверности и апробация результатов

Диссертационная работа основана на результатах, полученных на достаточных по объему и качеству выборках. Исследование проводилось с использованием сертифицированного

оборудования клинической и гемостазиологической лабораторий ГБУЗ Иркутской области «Знак Почета» областной клинической больницы и НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. Методы и объем исследования выбраны в соответствии с поставленными целями, задачами и правовой документацией. Достоверность подтверждается актом проверки материалов первичной документации (от 17.05.2019).

Результаты диссертационного исследования доложены на XI Всероссийском съезде неврологов, IV конгрессе Национальной ассоциации по борьбе с инсультом (15–19 июня 2019 г., Санкт-Петербург).

Апробация работы состоялась на совместном заседании кафедр неврологии и нейрохирургии; геронтологии, гериатрии и клинической фармакологии ИГМАПО – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; кафедры клинической фармакологии и терапии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол №7 от 28.06.2019).

Соответствие паспорту специальности

Диссертационное исследование соответствует формуле специальности 14.03.06 – «Фармакология, клиническая фармакология» и пунктам 4 и 18 областей исследования данной специальности.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации в открытой печати опубликовано 10 научных работ, в том числе 3 статьи в ведущих научных рецензируемых журналах, определенных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ, одни тезисы, методические рекомендации, получен патент на изобретение, зарегистрированы две электронные базы данных.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 192 страницах машинописного текста; содержит 59 таблиц; состоит из введения, обзора литературы, главы с результатами собственного исследования, заключения, списка сокращений, списка литературы, включающего 53 источника на русском, 176 – на иностранных языках и 20 - интернет-ресурсов, а также выводов и практических рекомендаций.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Протокол диссертационного исследования утвержден на заседании комитета по этике научных исследований ИГМАПО – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол №6 от 25 мая 2017 г.). Исследование соответствовало законодательству РФ и требовани-

ям международной нормативно-правовой документации (Хельсинкская декларация всемирной медицинской ассоциации, 2013 г.; Национальный стандарт Российской Федерации (ГОСТ Р 52379-2005) «Надлежащая клиническая практика», 2005 г.; Международные гармонизированные трехсторонние правила «Надлежащая клиническая практика», 1996 г.).

Клиническая часть диссертационного исследования, включающая полное клинико-лабораторное обследование больных острым ИИ, проводилась на базе неврологического отделения для больных с острым нарушением мозгового кровообращения ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак Почета» областная клиническая больница». Популяционная часть исследования: группа здоровых добровольцев–русских набиралась в Иркутской области на базе ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак Почета» областная клиническая больница»; группа здоровых добровольцев–бурят формировалась на территории Республики Бурятия в Улан-Удэ на базе ГАУЗ «Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко». Генотипирование образцов крови здоровых добровольцев и больных ИИ по генам *CYP2C19* и *ABCB1* осуществлялось на базе НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Статистические расчеты и математическое моделирование на основе дискриминантного анализа клинико-лабораторных показателей проводились совместно с кафедрой педагогических и информационных технологий ИГМАПО – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (заведующий: канд. геол.-минералог. наук И.М. Михалевич).

Характеристика пациентов, включенных в клиническую часть

В исследование были включены больные некардиоэмболическим ИИ (121 человек): 82 мужчины и 39 женщин. Отбор пациентов осуществлялся с 2017 по 2018 год. Средний возраст пациентов составил $61,6 \pm 7,7$ лет. Диагноз ИИ выставлялся в соответствии с критериями классификации сосудистых заболеваний головного мозга (Шмидт Е.В., 1985). Этническая дифференциация в группе больных ИИ не проводилась.

Все обследуемые пациенты в рамках лечения и вторичной профилактики церебрального инсульта в первые 24 ч госпитализации или не ранее, чем через 24 ч после тромболитической терапии (алтеплаза), получали 125 мг/сутки ацетилсалициловой кислоты, затем клопидогрел в дозе 75 мг/сутки (без применения нагрузочной дозы клопидогрела).

При поступлении больным проводилось исследование неврологического статуса; диагноз верифицировали с помощью ультразвукового дуплексного сканирования (УЗДС) внутренних сонных и позвоночных артерий и магнитно-резонансной томографии головного мозга. В динамике (при поступлении и выписке пациентов на 13–21-е сутки) оценивались степень тяжести неврологической симптоматики по шкале инсульта Национального института здоровья (NIHSS,

National Institutes of Health Stroke Scale Brott T., Adams H.P., 1989), степень нетрудоспособности – по шкале Рэнкина (UK-TA Study Group, 1988), индекс мобильности – по шкале Ривермид. Оценивалась также степень риска повторного инсульта по шкале риска повторных сердечно-сосудистых осложнений (The Essen Stroke Risk Score - ESRS). Определялась ОПТ при поступлении, на 7-е и 13-е сутки. Схема обследования (кроме генотипирования) и лечения соответствовала стандарту оказания специализированной медицинской помощи при инфаркте мозга (приказ МЗ РФ №1740 от 29.12.2012 г.).

Критерии включения для клинической части исследования:

- некардиоэмболический ишемический инсульт;
- возраст от 18 до 74 лет;
- прием клопидогрела в суточной дозе 75 мг для лечения и вторичной профилактики ИИ;
- информированное согласие на участие в письменной форме.

Критерии невключения пациентов в клиническую часть исследования:

- повышенная чувствительность к клопидогрелу или любому из вспомогательных веществ препарата;
- беременность и период лактации;
- возраст до 18 лет;
- менее 24 ч после тромболитической терапии;
- тромбоцитопения (менее $150 \cdot 10^9$);
- активное кровотечение любой локализации;
- кардиоэмболический инсульт;
- геморрагический инсульт;
- заболевания, располагающие к кровотечению (язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки в стадии обострения, неспецифический язвенный колит, туберкулез, опухоли легких, гиперфибринолиз);
- портальная гипертензия с варикозным расширением вен пищевода;
- печеночная недостаточность средней и тяжелой степени (классы В и С по шкале Чайлд – Пью);
- хроническая болезнь почек 4-5 стадии (скорость клубочковой фильтрации менее 30 мл/мин/1,73 м²; клиренс креатинина <30 мл/мин);
- гемофилия;
- геморрагический диатез;
- дефицит витамина К;
- дефицит глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы;

- наследственная непереносимость лактозы, дефицит лактазы и глюкозо-галактозная мальабсорбция;
- установленный диагноз злокачественного новообразования на момент включения в исследование;
- необходимость в постоянном приеме нестероидных противовоспалительных препаратов.

По данным УЗДС 14 (12 %) пациентов имели гемодинамически значимые (>70 %) поражения магистральных артерий головы, 101 (83 %) – гемодинамически незначимые (<70 %); у шести больных (5 %) гемодинамических нарушений со стороны крупных церебральных артерий не было выявлено.

По данным МРТ локализация очага инфаркта мозга в бассейне внутренней сонной артерии выявлена у 79 (65 %) пациентов, у 42 (35 %) – в вертебробазилярном бассейне.

При оценке тяжести неврологического статуса по шкале NIHSS количество больных ИИ, имеющих оценку менее 12 баллов (неврологические нарушения легкой и средней степени тяжести) при поступлении, составило 111 (91,7 %). Тяжелые неврологические нарушения при поступлении выявлены у 4 (3,3 %) больных, неврологические нарушения крайней степени тяжести – у 6 (5,0 %). При выписке количество больных ИИ, имеющих оценку менее 12 баллов по шкале NIHSS, увеличилось до 119 (98,3 %); при этом тяжелые и крайне тяжелые неврологические нарушения при выписке сохранялись у 2 (1,7 %) пациентов.

Выраженные и грубые нарушения жизнедеятельности (>4 баллов по шкале Рэнкина) при поступлении в общей популяции пациентов составили 102 (84,3 %) случая; при выписке подобная степень инвалидизации сохранялась только у 8 (6,6 %) больных.

Индекс мобильности Ривермид <7 баллов, характеризующий низкую и среднюю степень выполнения произвольных движений, при поступлении в общей группе наблюдения определялся у 108 (89,3 %) больных; при выписке уровень этого показателя оказался значительно ниже и регистрировался только у 6 (5,0 %) пациентов, что свидетельствовало о восстановлении реабилитационного индекса в исследуемой группе больных.

Из факторов, повышающих риск сердечно-сосудистых осложнений: ожирение (ИМТ \geq 30 кг/м²) имели 39 пациентов (32 %); 120 (99 %) – артериальную гипертензию, 35 (29 %) – сахарный диабет; 24 (20 %) – инфаркт миокарда; 113 (93 %) – ХСН II-III ФК; 19 (16 %) – заболевания периферических сосудов; 65 (54 %) – ТИА. Курение в анамнезе отмечено у 54 (45 %) человек. Гиперлипидемия выявлена у 72 (60 %) человек в исследуемой клинической группе.

Высокий риск повторного инсульта (\geq 3 баллов; \geq 4 % в год) на фоне проводимой терапии и вторичной профилактики ИИ имели 108 (89 %) пациентов, 13 (11 %) пациентов – низкий риск

(≤ 2 баллов; < 4 % в год) (шкала оценки риска повторных сердечно-сосудистых осложнений; The Essen Stroke Risk Score–ESRS).

Характеристика здоровых добровольцев, включенных в популяционную часть исследования

Популяционная часть исследования включала 250 человек: 136 русских и 114 бурят. Среди русских – 26 мужчин (19 %) и 110 женщин (81 %), среди бурят – 34 мужчины (30 %) и 80 женщин (70 %). Средний возраст русских составил $42,1 \pm 12$ лет, бурят – $42,8 \pm 15,4$ года.

Критерии включения для популяционной части исследования:

- здоровые добровольцы обоего пола в возрасте от 18 до 74 лет;
- этническая принадлежность определялась путем самоидентификации добровольцев и их родителей, анализа родословной до второго поколения;
- информированное согласие на участие в письменной форме.

Критерии невключения в популяционную часть исследования:

- в исследование не включали потомков межнациональных браков.

Методика измерения остаточной реактивности тромбоцитов

Исследование индуцированной агрегации тромбоцитов осуществлялось на четырехканальном светооптическом агрегометре (Helena BioSciences European, Великобритания). В качестве индукторов агрегации тромбоцитов использовались наборы реактивов: адреналин и аденозиндифосфат (АДФ) (ООО «Технология-Стандарт», Россия). Референсные значения ОРТ с добавлением адреналина составляли 55–65 %, АДФ – 65–75 %. Для определения ОРТ у пациентов из локтевой вены забиралось по 4 мл цельной крови в две вакуумные пробирки с голубой крышечкой (Beijing Fornurse Medical Equipment Co., Ltd, Китай), содержащие 3,8 % натрия лимоннокислого трехзамещенного (цитрат натрия).

Определение полиморфизмов генов *CYP2C19* и *ABCB1*

Материалом для генетического исследования служили 4 мл цельной венозной крови. Кровь забиралась независимо от времени суток, приема пищи или длительности лечения. В пробирках цельная кровь замораживалась и доставлялась в НИИ ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, где хранилась при температуре -70 °С до момента проведения генотипирования. Идентификация полиморфизмов *CYP2C19*2* (*G681A*), *CYP2C19*3* (*G363A*), *CYP2C19*17* (*C806T*) и *ABCB1* (*C3435T*) проводилась методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (Real-Time PCR) на амплификаторе Real-Time CFX96 Touch (Bio-Rad Laboratories, Inc., USA) с использованием набора реагентов ФармакоГенетика Клопидогрел (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка результатов популяционной и клинической частей диссертационного исследования проводилась с помощью пакета прикладных программ STATISTICA 6.1 (серийный № AXXR010E749701FA) и «BIOSTAT» (С. Гланц, 1999). Данные проверялись на нормальность распределения и однородность дисперсных групп с использованием критериев Шапиро – Уилки или Колмогорова – Смирнова, а также на однородность дисперсных групп по критерию Левена. Обработка категориальных данных осуществлялась с использованием таблиц частот, таблиц сопряженности, критерия χ^2 или точного критерия Фишера (в случае малого числа наблюдения). Если имело место ненормальное распределение, то применялся критерий Манна – Уитни. Различия между независимыми выборками определяли с помощью критерия Стьюдента, критерия χ^2 Пирсона. Критерием статистической достоверности полученных результатов считали общепринятую в интерпретации медико-биологических исследований величину $p < 0,05$. Соответствие распределения частот исследуемых генотипов равновесию Харди – Вайнберга проверялось по критерию Фишера; полученные результаты популяционного исследования соответствовали закону Харди – Вайнберга при значении $p > 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка влияния негенетических факторов на антиагрегантное действие клопидогрела у больных ишемическим инсультом

Все пациенты были разделены на 2 группы: ответившие на антиагрегантную терапию клопидогрелом, у которых ОРТ стала меньше нижней границы референсного значения (ОРТ, определяемая методом светооптической агрегометрии, $< 65,0$ %) на 13-е сутки; и не ответившие на антиагрегантную терапию клопидогрелом, у которых ОРТ не снизилась (ОРТ, определяемая методом светооптической агрегометрии, $\geq 65,0$ %). Первая группа включала 111 пациентов (97,1 %). Количество больных с высокой ОРТ на 13-е сутки составило 10 человек (8,3 %).

В результате анализа влияния клинико-демографических факторов на ОРТ на 13-е сутки с помощью χ^2 Пирсона доказано статистически значимое влияние на антиагрегантное действие клопидогрела следующих негенетических факторов: женский пол (ОШ – 3,500; 95 %-й ДИ – 1,948-6,287; $p < 0,001$); повторный ИИ (ОШ – 2,364; 95 %-й ДИ – 1,272-4,393; $p = 0,006$); атеротромботический патогенетический подтип ИИ (ОШ – 2,061; 95 %-й ДИ – 1,085-3,194; $p = 0,026$); ожирение (ОШ – 3,500; 95 %-й ДИ – 1,948-6,287; $p < 0,001$); высокий риск повторного инсульта (≥ 3 баллов по шкале риска повторных сердечно-сосудистых осложнений; The Essen Stroke Risk Score - ESRS) (ОШ – 0,444; 95 %-й ДИ – 0,196-1,006; $p = 0,048$).

Оценка влияния сопутствующей терапии на антиагрегантное действие клопидогрела с применением статистических расчетов χ^2 Пирсона продемонстрировала статистически значимое влияние на ОРТ блокаторов медленных кальциевых каналов (ОШ – 2,557; 95 %-й ДИ – 1,357-4,820; $p=0,004$), ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) (ОШ – 16,123; 95 %-й ДИ – 0,908-286,43; $p=0,008$), а также гиполипидемических препаратов (ОШ – 2,111; 95 %-й ДИ – 0,817-2,453; $p=0,002$) (таблица 1).

Таблица 1 – Сопутствующая медикаментозная терапия у больных ИИ ($n=121$), ответивших и не ответивших на терапию клопидогрелом на 13-е сутки

Показатель	АДФ-агрегация				p	ОШ	95 %-й ДИ
	снизилась (n = 111)		не снизилась (n = 10)				
	n	%	n	%			
1	2	3	4	5	6	7	8
Тромболитическая терапия	10	9,0	–	–	0,003	0,048	0,002 – 0,836
Антикоагулянт прямого действия	106	95,5	9	90,0	0,174	0,474	0,156 – 1,440
Блокаторы медленных кальциевых каналов	68	61,3	8	80,0	0,004	2,557	1,357 – 4,820
Бета-адреноблокаторы	71	64,0	7	70,0	0,367	1,313	0,727 – 2,371
Ингибиторы протонной помпы	109	98,2	10	100,0	0,156	5,102	0,242 – 107,70
Ингибиторы АПФ	103	92,8	10	100,0	0,008	16,123	0,908 – 286,43
Статины	100	90,1	10	100,0	0,002	2,111	0,817 – 2,453
Сахароснижающие препараты	23	20,7	2	20,0	0,861	0,941	0,473 – 1,869
Примечание – p – критерий χ^2 Пирсона.							

Больные ИИ, имеющие выраженную степень неврологических нарушений при манифестации заболевания (≥ 4 баллов по шкале Рэнкина и < 7 баллов – по шкале Ривермид), оказались

более чувствительными к антиагрегантной терапии: по шкале Рэнкина – 85,6 % против 14,4 % (ОШ – 0,380; 95 %-й ДИ – 0,187-0,772; $p=0,007$); по шкале Ривермид – 90,1 % против 9,9 % (ОШ – 0,444; 95 %-й ДИ – 0,196-1,006; $p=0,048$).

Исследование различий количественных лабораторных показателей у пациентов, ответивших и не ответивших на антиагрегантную терапию на 13-е сутки, проводимое с помощью критерия Манна – Уитни выявило, что антиагрегантное действие клопидогрела у больных ИИ снижается при уровне общего холестерина более 6 ммоль/л ($p=0,022$) и триглицеридов крови более 1,8 ммоль/л ($p=0,040$).

Оценка влияния генетических факторов (*CYP2C19*2 (G681A, rs4244285)*, *CYP2C19*3 (G636A, rs4986893)*, *CYP2C19*17 (C806T, rs12248560)* и *ABCB1 (C3435T, rs1045642)*) на антиагрегантное действие клопидогрела у больных ишемическим инсультом

Среди больных ИИ, принимающих клопидогрел (121 чел.), 40 (33,0 %) пациентов были отнесены в зависимости от генотипа по *CYP2C19* в группу нормальных метаболизаторов, 35 (29,0 %) – промежуточных метаболизаторов, 4 (3,3 %) – медленных метаболизаторов и 42 (34,7 %) – быстрых метаболизаторов ксенобиотиков.

Распределение всех исследуемых генотипов по *CYP2C19* и *ABCB1* соответствовало закону Харди – Вайнберга: *CYP2C19*2 (G681A)* ($\chi^2=0,0001$; $p=0,99$), *CYP2C19*3 (G636A)* ($\chi^2=0,03$; $p=0,85$), *CYP2C19*17 (C806T)* ($\chi^2=0,96$; $p=0,33$), *ABCB1 (C3435T)* ($\chi^2=1,81$; $p=0,18$).

Для оценки роли исследуемых полиморфизмов по *CYP2C19* и *ABCB1* все пациенты были разделены на 2 группы: носители неизмененного генотипа *GG/CC* и носители объединенной группы генотипов *GA+AA/CT+TT*.

На основании анализа сопоставимости генотипов по *CYP2C19*2 (G681A, rs4244285)*, *CYP2C19*3 (G636A, rs4986893)*, *CYP2C19*17 (C806T, rs12248560)* и *ABCB1 (C3435T, rs1045642)* с АДФ-индуцированной агрегацией тромбоцитов в динамике выявлено статистически значимое снижение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на 7-е и 13-е сутки у больных ИИ с генотипом *GG* по аллельному варианту *CYP2C19*3* (таблица 2).

Аллельные варианты *CYP2C19*2 (G681A, rs4244285)*, *CYP2C19*17 (C806T, rs12248560)* и *ABCB1 (C3435T, rs1045642)* не продемонстрировали ассоциации с динамикой АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитом у больных ИИ.

Таблица 2 – Оценка сопоставимости генотипов по *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*) и АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов в динамике у больных ИИ (n=121)

Генотип	АДФ-агрегация, %		p
	Время измерения		
	1-е сутки	7-е сутки	
<i>GG</i> (n=117)	54,4±18,6	41,8±18,4	0,0001
<i>GA</i> (n=4)	47,6±16,7	47,7±7,3	0,9920

Продолжение таблицы 2

Генотип	АДФ-агрегация, %		p
	Время измерения		
	7-е сутки	13-е сутки	
<i>GG</i> (n=117)	41,8±18,4	39,5±16,5	0,836
<i>GA</i> (n=4)	47,7±7,3	51,1±8,4	0,403

Продолжение таблицы 2

Генотип	АДФ-агрегация, %		p
	Время измерения		
	1-е сутки	13-е сутки	
<i>GG</i> (n=117)	54,4±18,6	39,5±16,5	0,0001
<i>GA</i> (n=4)	47,6±16,7	51,1±8,4	0,7210
Примечание – p – критерий Манна – Уитни.			

Оценка сопоставимости клинических особенностей течения ишемического инсульта у пациентов, принимающих клопидогрел, с результатами генотипирования по аллельным вариантам *CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*), *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*), *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*) и *ABCB1* (*C3435T*, *rs1045642*)

Для оценки сопоставимости клинических особенностей течения ишемического инсульта у пациентов, принимающих клопидогрел, с результатами генотипирования по аллельным вариантам *CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*), *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*), *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*) и *ABCB1* (*C3435T*, *rs1045642*) все пациенты были разделены на 2 группы: носители неизмененного генотипа и носители измененных генотипов.

На основании анализа клинико-демографических факторов пациентов с помощью критерия χ^2 Пирсона и их сопоставимости с результатами генотипирования по аллельным вариантам *CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*), *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*), *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*), *ABCB1* (*C3435T*, *rs1045642*) для полиморфных маркеров, кроме *ABCB1* (*C3435T*,

rs1045642), выявлены статистически значимые ассоциации с клиническими особенностями течения ИИ (таблицы 3–5).

Таблица 3 – Оценка сопоставимости клинико-демографических факторов в сравниваемых группах по *CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*) у больных ИИ (n=121)

Показатель	Генотип по <i>CYP2C19*2</i>				p	ОШ	95 %-й ДИ
	<i>GG</i> (n = 86)		<i>GA + AA</i> (n = 35)				
	n	%	n	%			
ТИА в анамнезе	40	46,5	25	71,4	<0,001	2,900	1,612 – 5,217
Высокий риск повторного инсульта в течение года (≥ 3 баллов по шкале ESRS)	73	84,9	35	100,0	<0,001	36,439	2,147 – 618,45
Примечание – p – критерий χ^2 Пирсона.							

Таблица 4 – Оценка сопоставимости клинико-демографических факторов в сравниваемых группах по *CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*) и *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*) у больных ИИ (n=121)

Показатель	Генотип по <i>CYP2C19*2 + CYP2C19*3</i>				p	ОШ	95 %-й ДИ
	<i>GG</i> (n = 83)		<i>GA+AA</i> (n = 38)				
	n	%	n	%			
ИИ повторный	16	19,3	13	34,2	0,024	2,196	1,148 – 4,202
ТИА в анамнезе	38	45,8	27	71,1	<0,001	2,874	1,602 – 5,155
Высокий риск повторного инсульта в течение года (≥ 3 баллов по шкале ESRS)	70	84,3	38	100	<0,001	39,249	2,318 – 664,44
Примечание – p – критерий χ^2 Пирсона.							

Ввиду статистической несопоставимости генотипов по аллельному варианту *CYP2C19*3* (*G636A, rs4986893*) (носителями генотипа *GG* явились 117 (96,7 %) пациентов, генотипа *GA* – 4 (3,3 %) пациента, носителей генотипа *AA* не выявлено) проведена оценка сопоставимости клинических особенностей течения ИИ в двух объединенных группах: *GG* и *GA+AA* аллельных вариантов *CYP2C19*2* (*G681A, rs4244285*) и *CYP2C19*3* (*G636A, rs4986893*) суммарно.

Пациенты с объединенными группами генотипов *GA+AA* по аллельным вариантам *CYP2C19*2* (*G681A, rs4244285*) и *CYP2C19*2* (*G681A, rs4244285*) + *CYP2C19*3* (*G636A, rs4986893*) по сравнению с носителями генотипа *GG* чаще имели в анамнезе ТИА и высокий риск повторного инсульта (≥ 3 баллов по шкале риска повторных сердечно-сосудистых осложнений; The Essen Stroke Risk Score - ESRS); пациенты с объединенной группой генотипов *GA+AA* по сгруппированным аллельным вариантам *CYP2C19*2* (*G681A, rs4244285*) + *CYP2C19*3* (*G636A, rs4986893*) чаще переносили повторный ИИ.

Таблица 5 – Оценка сопоставимости клиничко-демографических факторов в сравниваемых группах по *CYP2C19*17* (*C806T, rs12248560*) у больных ИИ (n=121)

Показатель	Генотип по <i>CYP2C19*17</i>				p	ОШ	95 %-й ДИ
	<i>CC</i> (n = 69)		<i>CT+TT</i> (n = 52)				
	n	%	n	%			
ИИ повторный	21	30,4	7	13,5	0,006	0,349	0,169 – 0,719
Патогенетический подтип ИИ:	28	40,6	12	23,1	0,007	2,326	1,260 – 4,295
лакунарный	41	59,4	40	76,9			
атеротромботический							
Примечание – p – критерий по χ^2 Пирсона.							

Носители генотипа *CC* по аллельному варианту *CYP2C19*17* (*C806T, rs12248560*) чаще, чем носители объединенной группы генотипов *CT+TT*, переносили повторный ИИ; при этом у носителей объединенной группы генотипов *CT+TT* чаще диагностировался атеротромботический ИИ.

Не выявлено статистически значимой ассоциации таких клинических особенностей течения ИИ, как патогенетический подтип ИИ, степень поражения магистральных артерий головы и

локализация очага инфаркта мозга с носительством комбинированных групп генотипов *GA+AA* по аллельным вариантам *CYP2C19*2 (G681A, rs4244285)* и *CYP2C19*3 (G636A, rs4986893)* у больных ИИ.

Популяционное исследование частоты аллелей и генотипов по *CYP2C19 (CYP2C19*2 (G681A, rs4244285), CYP2C19*3 (G636A, rs4986893), CYP2C19*17 (C806T, rs12248560))* и *ABCB1 (C3435T, rs1045642)*, ассоциированных с изменением антиагрегантного действия клопидогрела, у русских и бурят, проживающих на территории Прибайкалья

В группе русских распределение генотипов соответствовало закону Харди-Вайнберга по полиморфизмам *CYP2C19*2* ($\chi^2=0,025$; $p=0,87$), *CYP2C19*17* ($\chi^2=0,28$; $p=0,60$) и *ABCB1* ($\chi^2=3,58$; $p=0,06$). Для полиморфизма *CYP2C19*3* значение χ^2 по Харди – Вайнбергу составило 0 %. Таким образом, распределение генотипов по полиморфному маркеру *CYP2C19*3 (G636A)* среди русских не соответствовало закону Харди – Вайнберга. В группе бурят распределение всех исследуемых генотипов соответствовало закону Харди – Вайнберга: *CYP2C19*2* ($\chi^2=1,90$; $p=0,17$), *CYP2C19*3* ($\chi^2=0,001$; $p=0,97$), *CYP2C19*17* ($\chi^2=0,86$; $p=0,35$), *ABCB1* ($\chi^2=2,51$; $p=0,11$).

Выявлены статистически значимые различия частот носительства аллелей по *CYP2C19*3 (G636A, rs4986893)* и *CYP2C19*17 (C806T, rs12248560)* у русских и бурят (таблица 6).

Таблица 6 – Сравнение частоты носительства аллелей *CYP2C19*2 (G681A, rs4244285)*, *CYP2C19*3 (G636A, rs4986893)*, *CYP2C19*17 (C806T, rs12248560)* у русских и бурят

Аллель	Русские (n=136)		Буряты (n=114)		p
	Кол-во аллелей	Частота носительства аллелей, %	Кол-во аллелей	Частота носительства аллелей, %	
G	<i>CYP2C19*2 (G681A, rs4244285)</i>				0,807
	230	84,6	191	83,8	
A	42	15,4	37	16,2	
G	<i>CYP2C19*3 (G636A, rs4986893)</i>				<0,0001
	272	100,0	207	90,8	
A	–	–	21	9,2	
C	<i>CYP2C19*17 (C806T, rs12248560)</i>				<0,0001
	199	73,2	214	93,9	
T	73	26,8	14	6,1	

Примечание – p – критерий χ^2 Пирсона.

A-аллель по *CYP2C19*3* определялся только у бурят – 9,2 %; у русских данный аллель не выявлен ($p < 0,0001$). *T*-аллель по *CYP2C19*17* определялся чаще у русских, чем у бурят (26,8 и 6,1 % соответственно) ($p < 0,0001$).

По аллельному варианту *ABCB1 (C3435T, rs1045642)* статистически значимых различий между русскими и бурятами не выявлено: у русских *T*-аллель составил 48,9 %, у бурят – 44,7 % ($p = 0,369$) (таблица 7).

Таблица 7 – Сравнение частоты носительства аллелей *ABCB1 (C3435T, rs1045642)* у русских и бурят

Аллель	Русские (n=136)		Буряты (n=114)		p
	Кол-во аллелей	Частота носительства аллелей, %	Кол-во аллелей	Частота носительства аллелей, %	
	<i>ABCB1 (C3435T, rs1045642)</i>				
<i>C</i>	139	51,1	126	55,3	0,369
<i>T</i>	133	48,9	102	44,7	
Примечание – p – критерий χ^2 Пирсона.					

Способ прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела у больных ишемическим инсультом

Способ прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела не предполагал разработку алгоритма подбора дозы клопидогрела, так как больным ИИ в острый период в связи с риском развития геморрагической трансформации не назначают нагрузочные дозы клопидогрела, а применяют стандартную и фиксированную дозу – 75 мг/сутки (приказ МЗ РФ №1740 от 29.12.2012 г.). Разработанный способ прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела у больных ИИ (Е.Ю. Китаева, Д.А. Сычѳв, В.В. Шпрах, К.Б. Мирзаев, И.М. Михалевич; патент № 2702753 от 11.10.2019 г.) определяет модель пациента, для которого применение клопидогрела будет эффективным и безопасным. На основании проведенного дискриминантного анализа определена группа клинико-лабораторных признаков, ассоциированных с эффективностью клопидогрела у больных ИИ (таблица 8).

Предлагаемый способ прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела может использоваться у больных ИИ в любой период заболевания (острый, восстановительный или на стадии остаточных явлений) независимо от гендерной и расовой принадлежности. Противопоказаний для применения данного метода нет.

Таблица 8 – Клинико-лабораторные показатели больных ИИ, используемые для прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела

Признак	Градация	Обозначения, используемые в уравнениях
Шкала NIHSS	1 – ≤12 баллов 2 – >12 баллов	X ₁
Поражения магистральных артерий головы (по УЗДС)	1 – отсутствуют 2 – гемодинамически незначимые (<70 %) 3 – гемодинамически значимые (>70 %)	X ₂
Гемоглобин, г/л	Числовое значение	X ₃
Общий холестерин, ммоль/л	То же	X ₄
Липопротеиды высокой плотности, ммоль/л	– // –	X ₅
Международное нормализованное отношение (МНО), ед.	– // –	X ₆
Протромбиновый индекс, %	– // –	X ₇

Для решения задачи прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела у конкретного больного ИИ используются данные его клинико-лабораторного обследования (шкала NIHSS; степень поражения магистральных артерий головы, определенная по УЗДС; данные общего гематологического анализа, липидограммы и коагулограммы), градации которых в дискриминантных уравнениях F_1 и F_2 умножаются на их дискриминантные коэффициенты, суммируются между собой и с константами дискриминантного уравнения. В результате получаются две оценочные функции (F_1 и F_2) для конкретного курируемого больного ИИ.

Дискриминантные уравнения для прогнозирования лабораторной эффективности клопидогрела у больных ИИ:

$$F_1 = -182,57 + 19,67 \cdot X_1 + 21,09 \cdot X_2 + 0,46 \cdot X_3 + 2,17 \cdot X_4 + 4,0 \cdot X_5 + 95,01 \cdot X_6 + 0,92 \cdot X_7;$$

$$F_2 = -188,27 + 23,5 \cdot X_1 + 17,59 \cdot X_2 + 0,34 \cdot X_3 + 3,04 \cdot X_4 + 0,44 \cdot X_5 + 102,92 \cdot X_6 + 1,13 \cdot X_7,$$

где F_1 и F_2 – прогностические коэффициенты; $X_{1,2,\dots,7}$ – градации клинико-лабораторных показателей.

Решение о прогнозе антиагрегантного действия клопидогрела у больного ИИ принимается по функции с наибольшим значением. Если $F_1 > F_2$, то можно предполагать, что применение клопидогрела с целью лечения и вторичной профилактики ИИ у данного пациента будет иметь положительный лабораторный эффект. И, наоборот, если $F_2 > F_1$, предполагается лабораторная резистентность к клопидогрелу, поэтому данному больному ИИ следует рассмотреть вопрос о назначении другого антиагреганта.

ВЫВОДЫ

1. Негенетическими факторами, снижающими антиагрегантное действие клопидогрела (остаточная реактивность тромбоцитов, определяемая методом светооптической агрегометрии, $>65\%$) у больных ишемическим инсультом, являются: женский пол (ОШ – 3,500; 95 %-й ДИ – 1,948-6,287; $p < 0,001$); повторный ишемический инсульт (ОШ – 2,364; 95 %-й ДИ – 1,272-4,393; $p = 0,006$); атеротромботический патогенетический подтип ишемического инсульта (ОШ – 2,061; 95 %-й ДИ – 1,085-3,194; $p = 0,026$); ожирение (ОШ – 3,500; 95 %-й ДИ – 1,948-6,287; $p < 0,001$); высокий риск повторного инсульта (≥ 3 баллов по шкале риска повторных сердечно-сосудистых осложнений; The Essen Stroke Risk Score - ESRS) (ОШ – 0,444; 95 %-й ДИ – 0,196-1,006; $p = 0,048$); прием блокаторов медленных кальциевых каналов (ОШ – 2,557; 95 %-й ДИ – 1,357-4,820; $p = 0,004$), ингибиторов АПФ (ОШ – 16,123; 95 %-й ДИ – 0,908-286,43; $p = 0,008$), гиполипидемических препаратов (ОШ – 2,111; 95 %-й ДИ – 0,817-2,453; $p = 0,002$); уровень общего холестерина более 6 ммоль/л ($p = 0,022$) и триглицеридов крови более 1,8 ммоль/л ($p = 0,040$).

2. У пациентов с генотипом *GA* по аллельному варианту *CYP2C19*3 (G636A, rs4986893)* не наблюдалось снижения АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на фоне лечения клопидогрелом на 7-е сутки по сравнению с первыми сутками – $47,6 \pm 16,7\%$ против $47,7 \pm 7,3\%$ ($p = 0,9920$); в то время, как у пациентов с генотипом *GG* снижение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов было достоверным – $54,4 \pm 18,6\%$ против $41,8 \pm 18,4\%$ ($p = 0,0001$). Аналогичная ситуация наблюдалась на 13-е сутки по сравнению с первыми сутками: у пациентов с генотипом *GA* по аллельному варианту *CYP2C19*3 (G636A, rs4986893)* не наблюдалось снижения АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на фоне лечения клопидогрелом – $47,6 \pm 16,7\%$ против $51,1 \pm 8,4\%$ ($p = 0,7210$); в то время, как у пациентов с генотипом *GG* снижение АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов было статистически достоверным – $54,4 \pm 18,6\%$ против $39,5 \pm 16,5\%$ ($p = 0,0001$).

3. Аллельные варианты *CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*), *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*) и *ABCB1* (*C3435T*, *rs1045642*) не продемонстрировали ассоциации с динамикой АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитом у больных ишемическим инсультом.

4. Выявлены генетические факторы, определяющие клинические особенности течения ишемического инсульта: пациенты с объединенными группами генотипов *GA+AA* как по аллельному варианту *CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*), так и по сгруппированным аллельным вариантам *CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*) + *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*) по сравнению с носителями генотипа *GG* чаще имели в анамнезе транзиторную ишемическую атаку (ОШ – 2,900; 95 %-й ДИ – 1,612-65,217; $p < 0,001$ и ОШ – 2,874; 95 %-й ДИ – 1,602-5,155; $p < 0,001$ соответственно) и высокий риск повторного инсульта (≥ 3 баллов по шкале риска повторных сердечно-сосудистых осложнений; The Essen Stroke Risk Score - ESRS) (ОШ – 36,439; 95 %-й ДИ – 2,147-618,45; $p < 0,001$ и ОШ – 39,249; 95 %-й ДИ – 2,318-664,44; $p < 0,001$ соответственно); пациенты с объединенной группой генотипов *GA+AA* по сгруппированным аллельным вариантам *CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*) + *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*) чаще переносили повторный ишемический инсульт (ОШ – 2,196; 95 %-й ДИ – 1,148-4,202; $p = 0,024$); носители генотипа *CC* по аллельному варианту *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*) чаще, чем носители объединенной группы генотипов *CT+TT*, переносили повторный ишемический инсульт (ОШ – 0,349; 95 %-й ДИ – 0,169-0,719; $p = 0,006$); при этом у носителей объединенной группы генотипов *CT+TT* чаще диагностировался атеротромботический ишемический инсульт (ОШ – 2,326; 95 %-й ДИ – 1,260-4,295; $p = 0,007$).

5. Выявлены статистически значимые различия частот носительства аллелей по *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*) и *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*) у русских и бурят: *A*-аллель по *CYP2C19*3* определялся только у бурят – 9,2 %; у русских не выявлен данный аллель ($p < 0,0001$); *T*-аллель по *CYP2C19*17* определялся чаще у русских, чем у бурят (26,8 и 6,1 % соответственно) ($p < 0,0001$). Не обнаружено статистически значимых различий между русскими и бурятами в частоте носительства *A*-аллеля по *CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*): у русских он составил 15,4 %, у бурят – 16,2 % ($p = 0,807$). Для полиморфизма *ABCB1* (*C3435T*, *rs1045642*) статистически значимых различий между русскими и бурятами не выявлено: у русских *T*-аллель составил 48,9 %, у бурят – 44,7 % ($p = 0,369$).

6. Разработанный алгоритм, основанный на клинико-лабораторных показателях, с чувствительностью 97,59 %, специфичностью 70 %, прогностической ценностью положительного результата 94,62 % и отрицательного результата – 2,41 % (ОШ – 94,500; 95 %-й ДИ – 13,456-663,67; $p < 0,0001$), позволяет прогнозировать высокую остаточную реактивность тром-

боцитов (остаточная реактивность тромбоцитов, определяемая методом светоптической агрегометрии, >65 %) на фоне терапии клопидогрелом у пациентов с ишемическим инсультом.

Практические рекомендации

1. Рекомендуется проведение фармакогенетического тестирования по аллельному варианту *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*) для прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела в динамике у больных ишемическим инсультом. Фармакогенетическое тестирование по *CYP2C19* (*CYP2C19*2* (*G681A*, *rs4244285*), *CYP2C19*3* (*G636A*, *rs4986893*), *CYP2C19*17* (*C806T*, *rs12248560*)) может быть использовано для прогнозирования особенностей клинического течения ишемического инсульта.

2. Для решения вопроса о целесообразности внедрения фармакогенетического тестирования в других регионах с целью прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела у больных ишемическим инсультом необходимо исследовать частоту полиморфных маркеров гена *CYP2C19*, ассоциированных с измененным антиагрегантным действием клопидогрела, в этнических группах, проживающих на данных территориях.

3. Разработанный алгоритм, основанный на клинико-лабораторных показателях, рекомендуется для прогнозирования антиагрегантного действия клопидогрела у больных ишемическим инсультом.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Китаева Е.Ю.**, Шпрах В.В. Антиагреганты в лечении и вторичной профилактике ишемического инсульта (обзор литературы) // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2017. - Том 2, № 2 (114): С. 109-113.

2. **Китаева Е.Ю.**, Шпрах В.В., Мирзаев К.Б., Рыжикова К.А., Шуев Г.Н., Созаева Ж.А., Пименова Ю.А., Когай В.В., Сычев Д.А. Частота полиморфизмов генов *CYP2C19* и *ABCB1*, ассоциированных с изменением антиагрегантного действия клопидогрела, у русских и бурят // **Сибирское медицинское обозрение.** – 2018. - № 3: С. 43-50.

3. **Китаева Е.Ю.**, Шпрах В.В., Мирзаев К.Б., Сычев Д.А. Персонализация антиагрегантной терапии и вторичной профилактики ишемического инсульта // Клиническая медицина. – 2018. – Том 96, № 8: С. 677-687.

4. Сычев Д.А., Шпрах В.В., **Китаева Е.Ю.**, Мирзаев К.Б., Михалевич И.М. Генетические и негенетические факторы лабораторной резистентности к клопидогрелу у больных с ишеми-ческим инсультом // **Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова.** - 2019. – Том 119, № 3, вып. 2: С. 45-52.

5. Сычев Д.А., Шпрах В.В., **Китаева Е.Ю.**, Мирзаев К.Б. Полиморфизмы генов CYP2C19 и ABCB1, ассоциированные с изменением эффекта клопидогрела, у больных ишемическим инсультом: клинические и этнические аспекты // **Клиническая фармакология и терапия.** – 2019. – Том 28, № 3: С. 79-84.

6. Сычев Д.А., Шпрах В.В., **Китаева Е.Ю.**, Мирзаев К.Б. Частота полиморфизмов генов CYP2C19 и ABCB1, ассоциированных с изменением антиагрегантного эффекта клопидогрела, у больных ишемическим инсультом в Иркутской области // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Сборник материалов XI Всероссийского съезда неврологов, IV конгресса Национальной ассоциации по борьбе с инсультом. - Санкт-Петербург, 15-19 июня 2019 г. – С. 476-477.

7. **Китаева Е.Ю.**, Сычёв Д.А., Шпрах В.В., Мирзаев К.Б. Персонализированный подход к прогнозированию антиагрегантного действия клопидогрела у больных ишемическим инсультом: методические рекомендации. - Иркутск: РИО ИГМАПО – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. - 2019. – 35 с.

8. **Китаева Е.Ю.**, Сычёв Д.А., Шпрах В.В., Мирзаев К.Б., Михалевич И.М. Способ прогнозирования эффективности антиагрегантной терапии препаратом "Клопидогрел": Патент на изобретение № 2702753 (11.10.2019).

9. **Китаева Е.Ю.**, Сычёв Д.А., Шпрах В.В., Мирзаев К.Б. Полиморфизмы генов CYP2C19 и ABCB1 у здоровых добровольцев - русских и бурят Приангарья: электронная база данных (свидетельство № 2019621227, 10.07.2019).

10. **Китаева Е.Ю.**, Сычёв Д.А., Шпрах В.В., Мирзаев К.Б. Полиморфизмы генов CYP2C19 и ABCB1 у больных ишемическим инсультом Приангарья: электронная база данных (свидетельство № 2019621228, 10.07.2019).

Список сокращений

АДФ	аденозиндифосфат
АПФ	ангиотензинпревращающий фермент
ИИ	ишемический инсульт
ОРТ	остаточная реактивность тромбоцитов
ТИА	транзиторная ишемическая атака
УЗДС	ультразвуковое дуплексное сканирование
ХСН	хроническая сердечная недостаточность
ABCB1	мембранный белок из семейства ABC-переносчиков
CYP	цитохром P-450