

Мирзаев Карин Бадавиевич

Персонализация антиагрегантной терапии у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями на основе молекулярных биомаркеров

14.03.06 - Фармакология, клиническая фармакология
14.01.04 - Внутренние болезни

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва – 2022 г.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

доктор медицинских наук,
член-корреспондент РАН, профессор,
доктор медицинских наук, профессор

Сычев Дмитрий Алексеевич
Андреев Денис Анатольевич

Официальные оппоненты:

Петров Владимир Иванович – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра клинической фармакологии и интенсивной терапии, заведующий кафедрой

Колбин Алексей Сергеевич – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра клинической фармакологии и доказательной медицины, заведующий кафедрой

Комаров Андрей Леонидович – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение национальный медицинский исследовательский центр кардиологии Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел клинических проблем атеротромбоза, ведущий научный сотрудник

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится « 26 » апреля 2022 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.11 на базе ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, 37/1 и на сайте организации www.sechenov.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2022 года

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Дроздов Владимир Николаевич

Актуальность темы диссертации

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) в настоящее время занимают лидирующее позиции среди причин смертности во многих странах мира. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) за 2017 год ежегодно от ССЗ умирает 17,5 миллионов человек в мире или 31 % случаев смерти в процентном отношении [ВОЗ, 2017]. По данным Европейского общества кардиологов за 2019 год (European Society of Cardiology - ESC) в странах членах ESC на ССЗ приходится 3,1 миллион летальных исходов в год [Timmis A, et al., 2020]. Из них ИБС и инсульт составляют 44% и 21% среди всех причин смерти среди мужчин и 38 % и 26% среди женщин, соответственно [Timmis A, et al., 2020]. По данным Росстата за 2018 год суммарная смертность от ССЗ в Российской Федерации составляет 856,1 тысячи человек, что составляет 46,8 % от всех причин смертности за указанный год [Росстат, 2019]. Из них на ИБС приходится 453,3 тысяч человек, в том числе на инфаркт миокарда 56,9 тысяч, и на цереброваскулярные заболевания 263,6 тысяч человек [Росстат, 2019]. В патогенезе развития инфаркта миокарда, чаще всего, лежат разрыв или эрозия атеросклеротической бляшки, что сопровождается тромбообразованием и дистальной эмболизацией и окклюзией коронарной артерии [Kerry L. et al., 2018]. Тромбоциты играют важную роль в патогенезе тромботических осложнений: инфаркта миокарда (ИМ), ишемического инсульта и окклюзии периферических артерий [Prabhu S et al., 2011]. Антитромбоцитарная терапия, включающая блокатор P2Y₁₂-рецептора, является важным компонентом лечения больных с инфарктом миокарда и ишемическим инсультом [Collet JP, et al., 2020]. Одной из клинических проблем в процессе лечения пациентов с ССЗ является вариабельность ответа на блокаторы P2Y₁₂-рецепторов. По данным зарубежных авторов, число больных со сниженным ответом к блокаторам P2Y₁₂-рецепторов достигает 20-40%, а доля пациентов, кровотечениями – до 11% [Brandt et al., 2007]. В подобной вариабельности ответа на антиагреганты большое значение придается генетическим, метаболомным и эпигенетическим факторам. На эффективность клопидогрела могут влиять гены, кодирующие транспортеры, ферменты метаболизма, участвующие в биоактивации клопидогрела, а так же белки на поверхности тромбоцитов: ABCB1, CES1, PON1, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A5, CYP3A4, P2RY12 и ITGB3 [Mega et al., 2010]. Метаболизм тикагрелора в печени осуществляется ферментами CYP3A4 и CYP3A5, причем в отличие от клопидогрела он не требует активации для осуществления антиагрегантного эффекта [Varenhorst et al., 2015, Zhou et al., 2011]. Перспективными для изучения фармакогенетики тикагрелора могут стать гены, кодирующие : ферменты CYP3A4 и CYP3A5, транспортер OATPB1, и УДФ-глюкуронилтрансфераза 2B7. [Varenhorst et al., 2015]. На сегодня проведено относительно небольшое количество

фармакогенетических исследований по тикагрелору. В полногеномном ассоциативном анализе (GWAS), проведенном на участниках крупного исследования PLATO (PLATelet inhibition and patients Outcome), было доказано влияние полиморфизмов генов CYP3A4, SLCO1B1 и UGT2B7 на фармакокинетические параметры тикагрелора. Но данные ассоциации носили умеренный характер, и достоверных связей полиморфизмов генов с клинической эффективностью и безопасностью тикагрелора выявлено не было [Varenhorst et al., 2015]. Все приведенные факты указывают, что важно учитывать не только генетику, но и другие индивидуальные биомаркеры пациента. Несмотря на многочисленные исследования в области персонализации фармакотерапии антитромботическими препаратами на основе прогнозирования фармакокинетики на уровне ферментов биотрансформации и транспортеров, вопрос подбора эффективной и безопасной антиагрегантной терапии остается актуальным. Соответственно важное значение имеет изучение новых перспективных маркеров повышения эффективности и безопасности лечения антитромбоцитарными препаратами. Новым перспективным инструментом персонализации терапии антитромбоцитарными препаратами у больных сердечно-сосудистыми заболеваниями является исследование эпигенетических маркеров: некодирующих РНК, таких как микроРНК (microRNA) и их роли в регуляции экспрессии генов и прогнозировании эффективности и безопасности лекарственных средств. Недавние исследования показали, что различные формы микроРНК могут быть использованы как новый эпигенетический биомаркер прогнозирования индивидуального фармакологического ответа на антиагреганты: плазменный уровень специфических микроРНК в крови связан со степенью активации тромбоцитов, что может быть использовано в качестве биомаркера при оценке эффективности антиагрегантной терапии. В работе Chen et al. были изучены специфические маркеры микроРНК тромбоцитов, ассоциированные с возникновением и развитием резистентности к клопидогрелу: экспрессия микроРНК-26а в тромбоцитах значимо повышена у пациентов недостаточным ответом на терапию клопидогрелом. МикроРНК-223 может регулировать экспрессию рецептора P2Y₁₂ и снижение уровня микроРНК-223 связано с нарушением ответа на клопидогрел. Таким образом микроРНК-223 может служить новым маркером при оценке уровня ингибирования рецептора P2Y₁₂. Специфичные микроРНК ингибируют трансляцию белков семейства CYP P450 путем воздействия на одноименные гены, что приводит у нарушению фармакологического ответа препаратов, метаболизирующихся соответствующим изоферментом семейства CYP P450 [Vachirayonstien and Yan, 2016, Pan et al., 2009 Vuppalanchi et al., 2013]. К примеру, miR-130b влияет на экспрессию сразу нескольких ферментов: CYP2C9, CYP2A6, CYP2C19 [Rieger et al., 2015]. Кроме того, обнаружено, что уровни CYP2C19 в

клетках печени демонстрировали негативную корреляцию с уровнем микроРНК hsa-miR-29a-3p. Перспективным направлением персонализации терапии антитромбоцитарными препаратами может стать также исследование прогностической роли фармакометаболических маркеров, в том числе концентрации лекарственных препаратов и их метаболитов, концентрации эндогенных субстратов изоферментов цитохрома P-450 и их метаболитов в различных биологических жидкостях [Lau WC, 2004, X. Luo X, 2009; Arrhen YM 2012; El Desoky ES, 2005]. В исследовании Lau WC, и др., среди больных, перенесших ОКС с ЧКВ и здоровых добровольцев, была выявлена значимая обратная корреляция между активностью изофермента CYP3A4, измеренной методом эритромицинового дыхательного теста, и остаточной активностью тромбоцитов [$r=-0,6$; $p=0,003$]. Перспективным неинвазивным методом оценки активности CYP3A4 является оценка отношения концентрации 6-бета-гидрокортизола к свободному кортизолу в утренней моче [S. Micuda 2007]. В предыдущих исследованиях было показано, что уровень 6-бета-гидрокортизол значимо ассоциирован с гидроксильной активностью CYP3A4 и содержанием данного изофермента в печени [Ged et al. 1989]. С учетом того, что CYP3A4 является значимым изоферментом в биотрансформации клопидогрела и тикагрелора, измерение отношения концентрации 6-бета-гидрокортизола к кортизолу в утренней моче, как маркер степени индукции или ингибирования фермента CYP3A4, может внести важный вклад в прогнозирование фармакокинетики и клинической эффективности ингибиторов P2Y12-рецепторов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Таким образом, проблема персонализации антитромботической терапии является недостаточно разработанной и необходимо проводить комплексное исследование, включающее измерение активности изоферментов цитохрома P450, генотипирование, оценку фармакокинетических и фармакодинамических параметров лекарственного препарата, а также анализ уровня экспрессии генов на основе циркулирующей микроРНК.

Степень разработанности проблемы

На сегодняшний день отсутствуют доказанные инструменты и алгоритмы, позволяющие с высокой точностью предсказывать ответ на антиагрегантную терапию у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями. Несмотря на отдельные успехи в области фармакогенетики ингибиторов P2Y12-рецепторов, данные маркеры не могут объяснить в полной мере вариабельность ответа на отдельные препараты и существует нехватка исследований по поиску и валидации новых омиксных биомаркеров: фармакоэпигенетических, фармакометаболических. Кроме того, с учетом накопления большого количества данных по характеристике пациентов (клинические,

демографические, генетические, эпигенетические, метаболомные и тд.) для обработки этих данных требуется применением методов машинного обучения.

Организация и проведение подобных исследований позволит разработать комплексный подход к прогнозированию ответа на ингибиторы P2Y₁₂-рецепторов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.

Цель исследования

Повышение эффективности и безопасности антиагрегантной терапии путем персонализации применения ингибиторов P2Y₁₂-рецепторов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями на основе фармакогенетических, фармакоэпигенетических, фармакометаболомных биомаркеров.

Задачи исследования

1. Изучить вариабельность фармакологического ответа на ингибиторы P2Y₁₂-рецепторов у пациентов с острым коронарным синдромом, перенесших чрескожное коронарное вмешательство, пациентов с острым коронарным синдромом в сочетании с неклапанной фибрилляцией, пациентов с ишемическим инсультом:
 - 1.1. Оценить распространенность и «выхода» показателя агрегации тромбоцитов пациентов за пределы «терапевтического диапазона» на фоне применения клопидогрела у пациентов с острым коронарным синдромом, острым коронарным синдромом в сочетании с неклапанной фибрилляцией, ишемическим инсультом.
 - 1.2. Спрогнозировать «терапевтический диапазон» агрегации тромбоцитов на фоне применения тикагрелора и распространенность «выхода» показателя агрегации тромбоцитов за пределы терапевтического диапазона у пациентов с острым коронарным синдромом.
2. Оценить возможности фармакогенетических биомаркеров прогнозировать индивидуальный фармакологический ответ при применении ингибиторов P2Y₁₂-рецепторов у пациентов с острым коронарным синдромом, перенесших чрескожное коронарное вмешательство, пациентов с острым коронарным синдромом в сочетании с неклапанной фибрилляцией предсердий, пациентов с ишемическим инсультом.
3. Провести поиск новых фармакогенетических маркеров риска развития кровотечений при комбинированном применении клопидогрела и ривароксабана у пациентов острым коронарным синдромом в сочетании с неклапанной фибрилляцией предсердий.
4. Изучить частоту носительства клинически значимых фармакогенетических биомаркеров, ассоциированных с индивидуальными особенностями фармакологического ответа на

ингибиторы P2Y₁₂-рецепторов в различных этнических группах Российской Федерации (мультиэтнический фармакогенетический анализ).

5. Оценить возможности фармакоэпигенетических биомаркеров (микроРНК) прогнозировать индивидуальный фармакологический ответ при применении ингибиторов P2Y₁₂-рецепторов у пациентов с острым коронарным синдромом, перенесших чрескожное коронарное вмешательство:
6. Оценить возможности фармакометаболических биомаркеров (плазменной концентрации клопидогрела, тикагрелора и его метаболита, уровня активности изоферментов CYP3A4/CYP3A5) прогнозировать индивидуальный фармакологический ответ при применении ингибиторов P2Y₁₂-рецепторов у пациентов с острым коронарным синдромом, перенесших чрескожное коронарное вмешательство, пациентов с острым коронарным синдромом в сочетании с неклапанной фибрилляцией предсердий:
7. Разработать схему прогнозирования индивидуального фармакологического ответа ингибиторов P2Y₁₂-рецепторов на основе биоинформатических методов анализа.

Научная новизна результатов диссертационной работы

В исследовании впервые:

- 1) выявлены новые фармакогенетические биомаркеры, ассоциированные с кровотечениями у пациентов с острым коронарным синдромом в сочетании с неклапанной фибрилляцией предсердий, получающих антиагрегантную и антикоагулянтную терапию;
- 2) доказана ассоциация микроРНК с концентрацией тикагрелора и его метаболита в плазме у пациентов острым коронарным синдромом;
- 3) предложены новые границы терапевтического окна для оценки ответа на тикагрелор у пациентов с острым коронарным синдромом;
- 4) доказана ассоциация новых фармакогенетических биомаркеров с неблагоприятными клиническими исходами у пациентов с острым коронарным синдромом в сочетании с неклапанной фибрилляцией предсердий;
- 5) впервые разработан алгоритм прогнозирования ответа на тикагрелор у пациентов с острым коронарным синдромом и алгоритм прогнозирования риска смерти от всех причин на основе технологии машинного обучения для выявления наиболее значимых клинико-демографических фармакогенетических, фармакоэпигенетических, фармакометаболических факторов у пациентов с острым коронарным синдромом в сочетании с фибрилляцией предсердий;

Теоретическая и практическая значимость работы

Результаты исследования вносят важный вклад в совершенствование подходов к прогнозированию антиагрегантного ответа на ингибиторы P2Y₁₂-рецепторов, в том числе использованию новых перспективных омиксных биомаркеров предикции ответа. Полученные в исследовании результаты могут быть использованы для разработки рекомендаций по созданию комплексных алгоритмов персонализации лечения больных с показаниями для ингибиторов P2Y₁₂-рецепторов. Данные алгоритмы могут быть успешно встроены в существующие медицинские информационные системы (МИС) и выступать в качестве полезного инструмента системы поддержки принятия решения (СППР). Внедрение подобных алгоритмов через синхронизацию с МИС позволит подходить более индивидуализированно к лечению каждого больного с сердечно-сосудистой патологией, с учетом его генетических, расово-этнических, клинико-демографических, фенотипических особенностей. В конечном счете, это позволит повысить эффективность и безопасность лечения больных сердечно-сосудистыми заболеваниями. Кроме перечисленных преимуществ, персонализированная или индивидуализированная терапия позволит избежать тяжелого социально-экономического бремени немалых расходов на коррекцию последствий неэффективности препарата или развития осложнений лекарственной терапии.

Методология и методы исследования

Для оценки эффективности терапии ингибиторами P2Y₁₂-рецепторов применялись светооптические методы оценки агрегации тромбоцитов: прикроватной оценки активности тромбоцитов — VerifyNow P2Y₁₂ («Accumetrics», США) и стандартный турбодиметрический метод (Helena BioSciences Europe, Великобритания). В качестве индукторов агрегации тромбоцитов использовали АДФ. Определение аллелей ABCB1 (rs1045642), ABCG2 (rs2231142), CYP3A5 (rs776746), CYP3A4 (rs35599367), CYP2C19 (*2 - rs4244285, *3 - rs4986893, *17 - rs12248560), CYP2B6 (rs2279343), CES1 (rs2244613), PON1 (rs662), PEAR1 (rs57731889, rs822442, rs41273215), IGTB3 (rs5918T), P2Y₁₂ (rs3732759, rs2046934), CYP4F2 (rs2108622), B4GALT2 (rs1061781)? SLCO1B1 (rs4149056), UGT2B7 (rs61361928) для клинической и популяционно-этнической части проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в реальном времени с учетом простоты метода и приемлемой чувствительности и специфичности. Определение микроРНК miR-126, микроРНК -150, микроРНК -223, микроРНК -142, микроРНК -34a, микроРНК -29a-3p проводилось методом количественно полимеразной цепной реакции (ПЦР). Этническую принадлежность участников популяционно-этнической части исследования устанавливали с помощью метода

самоидентификации. Определение минимальной равновесной концентрации тикагрелора, метаболита тикагрелора, клопидогрела и активности системы изоферментов CYP3A4/5 проводилось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс спектрометрической детекцией (ВЭЖХ МС/МС) путем оценки уровней препарата в плазме перед очередной дозой через 5 периодов полувыведения и концентрации 6-β-гидроксикортизола к концентрации кортизола в утренней моче, соответственно. Прогностическая оценка клинико-демографических, лабораторно-инструментальных фармакогенетических, фармакоэпигенетических и фармакометаболических параметров эффективности и безопасности терапии ингибиторами P2Y₁₂-рецепторов использованы установленные методы статистики (параметрические и непараметрические). Используемые модели машинного обучения для предсказания агрегации и клинических исходов: регрессионной линейной модели, регрессионной модели случайного леса, пуассоновской регрессии, Support Vector Machine, Random Forest, Gradient Boosting algorithms, CatBoost.

Положения, выносимые на защиту

1. Фармакогенетическое тестирование по маркеру rs4244285 гена CYP2C19 и rs2046934 гена P2Y₁₂, прогнозирует резистентность к клопидогрелу у пациентов с острым коронарным синдромом и ишемическим инсультом, соответственно. Фармакогенетическое тестирование по маркеру rs2108622 гена CYP4F2 и rs41273215 гена PEAR1 прогнозирует геморрагические осложнения на фоне клопидогрела у пациентов с ОКС в сочетании с фибрилляцией предсердий. Полученные данные позволяют использовать фармакогенетическое тестирование по данным маркерам для прогнозирования эффективности клопидогрела с целью персонализации антитромбоцитарной терапии указанных сердечно-сосудистых заболеваний.
2. Выявлены методом секвенирования нового поколения однонуклеотидные замены в генах CES1 (rs3826193, rs3826192, rs62028647, rs3826191, rs74019278, rs76828834), P2Y₁₂ (rs6785930) и ABCG2 (rs2231148), ассоциированные с развитием кровотечений антитромботической терапии (клопидогрел+ривароксабан) у пациентов с острым коронарным синдромом в сочетании с фибрилляцией предсердий, что подтверждает целесообразность изучения фармакогенетического тестирования по данным маркерам для прогнозирования безопасности антитромботической терапии (клопидогрел+ривароксабан) у пациентов с острым коронарным синдромом в сочетании с фибрилляцией предсердий.
3. Частота клинически значимых аллелей ABCB1 (rs1045642), CYP3A5 (rs776746), CYP2C19 (rs4244285, rs4986893, rs12248560), CYP2C9 (rs1799853, rs1057910), CES1 (rs2244613), CYP4F2

(rs2108622), SLCO1B1 (rs4149056) демонстрирует, что носительство маркеров, ассоциированных с резистентностью к клопидогрелу и тикагрелору – неоднородно. Для выявления основного паттерна распространенности конкретных аллелей в дальнейших исследованиях требуется построение геногеографических карт, что позволит выявить популяционно-этнические особенности чувствительности к ингибиторам P2Y₁₂-рецепторов в различных этнических группах Российской Федерации.

4. Установлено, что оценка плазменного уровня микроРНК-126, микроРНК-150, микроРНК-223, прогнозирует остаточную реактивность тромбоцитов на фоне тикагрелора, но не клопидогрела, что подтверждает целесообразность использования данных маркеров при разработке схем персонализации терапии ингибиторам P2Y₁₂-рецепторов у пациентов с ОКС.
5. Выявлено отсутствие ассоциации фармакологического ответа на клопидогрел и тикагрелор с минимальной равновесной концентрацией тикагрелора, метаболита тикагрелора, клопидогрела, активностью системы CYP3A4/5, что свидетельствует о нецелесообразности использования данных фармакометаболических маркеров для прогнозирования эффективности и безопасности терапии ингибиторам P2Y₁₂-рецепторов у пациентов с ОКС.

Апробация диссертационной работы

Проведение диссертационного исследования одобрено Комитетом по этике научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол № 6 от 13 июня 2018 года). Апробация диссертации состоялась «29» июня 2021 г. (протокол №5) на расширенном заседании кафедры клинической фармакологии и терапии, НИИ Молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России. Основные положения диссертации в виде научных докладов доложены на научно-практических мероприятиях: II Международный конгресс кардиологов и терапевтов, (Минск, 2018); Международный конгресс молодых ученых в медицине (Казань, 2018); «Клинико-фармакологические технологии персонализированной медицины», Ежегодная конференция, посвященная актуальным вопросам клинической фармакологии «Вотчаловские чтения» (Москва, 2018); Четвертый Международный форум АнтиКоагулянтной и антиагрегантной Терапии (ФАКТplus2019) (Москва, 2019); Третья Российская Зимняя Школа молодых ученых и врачей по фармакогенетике, фармакогеномике и персонализированной терапии (Москва, 2019); Международный конгресс «Человек и лекарство» (Москва, 2019); Ежегодный Московский Конгресс, посвященный вопросам клинической фармакологии с позиции основоположника академика Вотчала Б.Е. «Вотчаловские чтения» (Москва, 2020); Четвертая

Российская Зимняя Школа молодых ученых и врачей по фармакогенетике, фармакогеномике и персонализированной терапии (Москва, 2021), Ежегодный Московский Конгресс, посвященный вопросам клинической фармакологии с позиции основоположника академика Вотчала Б.Е. «Вотчаловские чтения» (Москва, 2021).

Внедрение результатов диссертационной работы в практику

Результаты диссертационного исследования внедрены в практическую работу НИИ молекулярной и персонализированной медицины и образовательный процесс на кафедре клинической фармакологии и терапии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Личный вклад соискателя

Автор непосредственно участвовал планировании исследования, осмотре пациентов и проспективном наблюдении, наборе биоматериала, анализе фармакогенетических, фармакоэпигенетических, фармакометаболических биомаркеров, анализе и интерпретации результатов исследования.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование «Персонализация антиагрегантной терапии у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями на основе молекулярных биомаркеров» соответствует формуле специальности 14.03.06. - Фармакология, клиническая фармакология и областям исследований: п. N 4 «Исследование взаимодействий между организмом и лекарственными средствами, изучение их фармакодинамики, фармакокинетики и метаболизма. Установление связей между дозами, концентрациями и эффективностью лекарственных средств. Экстраполяция фармакологических параметров с биологических моделей на человека», п. N 6 «Исследование фармакодинамики лекарственных средств в клинике, включая оценку чувствительности возбудителей, вызывающих различные заболевания у человека, к химиопрепаратам», п. N 7 «Исследование фармакокинетики лекарственных средств у здоровых добровольцев и пациентов», п. N 14 – «Исследование нежелательного действия лекарственных средств, разработка методов их профилактики и коррекции»; п. N 18 – «Разработка и оптимизация методов фармакотерапии и профилактики заболеваний у различных групп пациентов с учетом их индивидуальных особенностей, включая исследование приверженности фармакотерапии (комплаентности)»; соответствует формуле специальности 14.01.04 - Внутренние болезни и области исследований: п. N

4. «Изучение механизмов действия, эффективности и безопасности лекарственных препаратов и немедикаментозных способов воздействия»

Научные публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 23 печатные работы, в том числе:

- Научных статей, отражающих основные результаты диссертации – 20 статей, из них: в изданиях из перечня Университета/ Перечня ВАК при Минобрнауки – 3 статьи; в изданиях, включенных в международные базы данных: Scopus – 17 статей; обзорных статей – 2, а также 1 письмо.

Структура и объем диссертации

Объем диссертационной работы составляет 214 страниц машинописного текста, в том числе 34 таблицы и 39 рисунков. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов исследования, результатов собственного исследования, обсуждения полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Список литературы включает 300 источников.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Настоящее исследование включает клиническую часть, популяционно-этническую часть и биоинформатическую часть.

В клиническую часть исследования включено 467 пациентов:

1) Проспективное исследование на 122 пациентах с ишемическим инсультом в острой фазе, получающие клопидогрел, госпитализированные в региональный сосудистый центр ГБУЗ “Иркутская ордена «Знак Почета» областная клиническая больница” г. Иркутск (Рисунок 1);

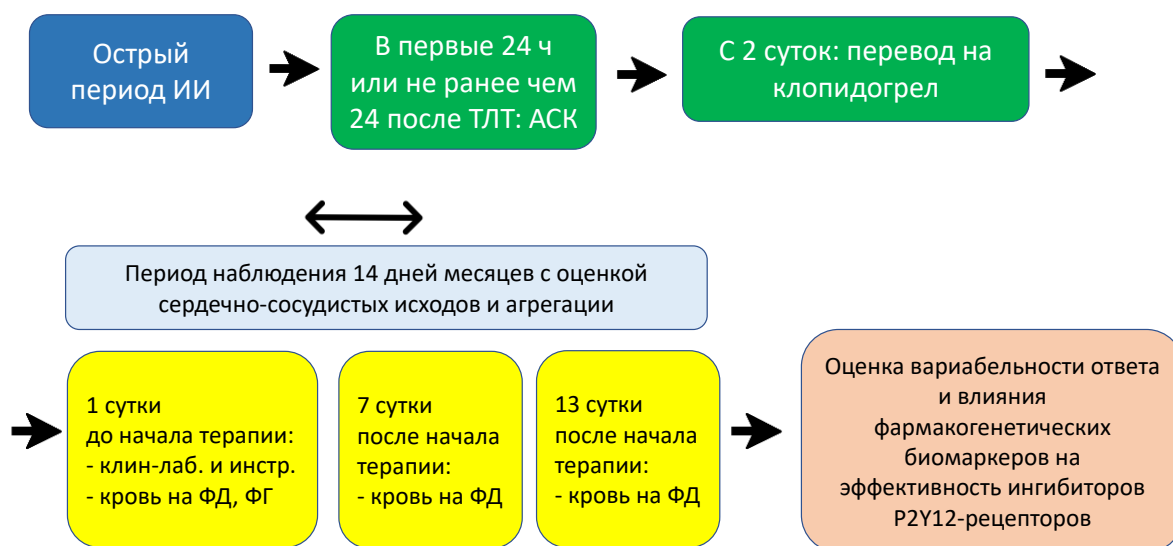


Рисунок 1 – Группа пациентов с ишемическим инсультом в острой фазе, получающие клопидогрел

2) Кросс-секционное исследование на 128 пациентах с острым коронарным синдромом с чрескожным коронарным вмешательством, получающие тикагрелор (90 мг 2 раза в сут) + АСК (75 мг в сут), госпитализированные в ГБК имени С.С. Юдина Департамента здравоохранения Москвы (Рисунок 2);

3) Кросс-секционное исследование на 115 пациентах с острым коронарным синдромом с чрескожным коронарным вмешательством, получающие клопидогрел (75 мг в сут) + АСК (75 мг в сут), госпитализированные в ГKB № 1 им. Н.И. Пирогова и ГБК имени С.С. Юдина Департамента здравоохранения Москвы (Рисунок 2).

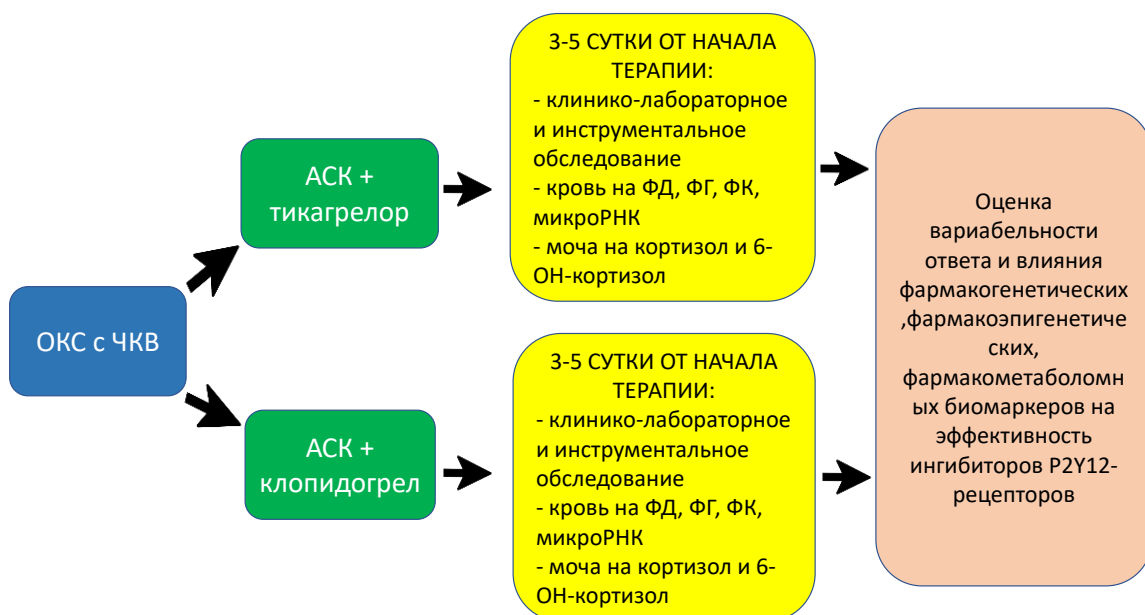


Рисунок 2 – Группа пациентов с ОКС, получающие тикагрелор или клопидогрел + АСК

4) Проспективное исследование 102 пациентов с острым коронарным синдромом и фибрилляцией предсердий, которым было проведено чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ), получающих клопидогрел (75 мг в сут) + АСК (75 мг в сут) + ривароксабан (15-20 мг в сут) или клопидогрел (75 мг в сут) + ривароксабан (15-20 мг в сут). Пациенты данной группы включены на базе ГКБ имени С.С. Юдина Департамента здравоохранения Москвы (Рисунок 3);

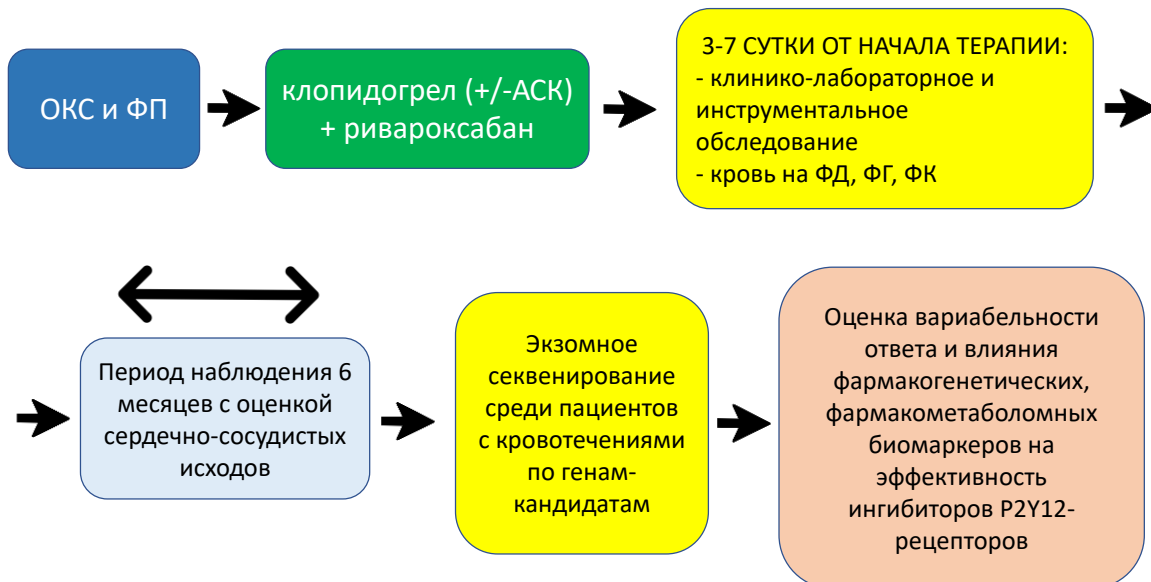


Рисунок 3 – Группа пациентов с ОКС и ФП, получающие клопидогрел+ривароксабан или клопидогрел+АСК+ривароксабан

Риск сердечно-сосудистых осложнений оценен у пациентов с ОКС по шкале GRACE, риск кровотечений по шкале CRUSADE, BARC. Тяжесть неврологической симптоматики у пациентов с инсультом оценивали по шкале инсульта Национального института здоровья (National Institutes of Health Stroke Scale – NIHSS) степень нетрудоспособности – по шкале Рэнкина (UK-TA Study), индекс мобильности – по шкале Ривермид, степень риска повторного инсульта по шкале риска повторных сердечно-сосудистых осложнений (The Essen Stroke Risk Score - ESRS).

5) Популяционно-этническая часть исследования (здоровые добровольцы).

В популяционно-этническое исследование ряда клинически значимых фармакогенетических маркеров ответа на P2Y₁₂-рецепторы (ABCB1, CES1, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A5, CYP4F2, SLCO1B1) включено 2 406 условно здоровых добровольцев старше 18 лет, проживающих в нескольких многонациональных регионах РФ: Северный Кавказ, Поволжье, Дальний Восток, Прибайкалье (Рисунок 4).

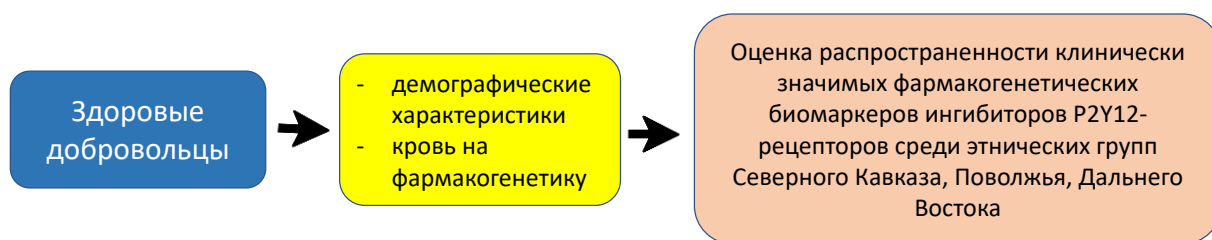


Рисунок 4 – Схема проведения популяционно-этнического исследования

Этническую принадлежность участников популяционно-этнической части исследования устанавливали с помощью метода самоидентификации. Критерием включения являлось самоопределение не менее чем в двух поколениях: участник и оба родителя были представителями одной этнической группы. В исследование не включали потомков межэтнических браков. Риск сердечно-сосудистых осложнений оценен у пациентов с ОКС по шкале GRACE, риск кровотечений по шкале CRUSADE, BARC. Тяжесть неврологической симптоматики у пациентов с инсультом будет оценена по шкале инсульта Национального института здоровья (National Institutes of Health Stroke Scale – NIHSS) степень нетрудоспособности – по шкале Рэнкина (UK-TA Study), индекс мобильности – по шкале Ривермид, степень риска повторного инсульта по шкале риска повторных сердечно-сосудистых осложнений (The Essen Stroke Risk Score - ESRS). Измерение

фармакодинамического ответа (остаточной активности тромбоцитов) у пациентов с ОКС и ОКС с ФП проведено световым методом VerifyNow. Остаточная реактивность тромбоцитов у больных с ишемическим инсультом в динамике (при поступлении, на седьмые и тринадцатые сутки) измерена на четырехканальном светооптическом агрегометре (Helena AggRAM, Великобритания) с добавлением в качестве индукторов агрегации тромбоцитов АДФ. Определение уровня циркулирующих в плазме микро-РНК проведено методом количественной полимеразной цепной реакции. Фармакогенетические биомаркеры изучены путем проведения полимеразной цепной реакции в реальном времени и секвенирования нового поколения (next generation sequencing, NGS). Фармакометаболизмные биомаркеры и фармакокинетика изучена на основе результатов оценки активности CYP3A4/5 с помощью метаболического отношения концентраций эндогенных субстратов: 6-бета-гидроксикортизол/кортизол для CYP3A4/5, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией. И использованные модели машинного обучения для предсказания агрегации, концентрации препарата и клинических исходов: регрессионной линейной модели, регрессионной модели случайного леса, пуассоновской регрессии, Support Vector Machine, Random Forest, Gradient Boosting algorithms, CatBoost.

Статистическая обработка полученных результатов

Для установления прогностической значимости клинико-демографических, фармакогенетических, фармакоэпигенетических и фармакометаболизмных факторов в качестве предикторов эффективности и безопасности антиагрегантной терапии ингибиторами P2Y₁₂-рецепторов применялись рекомендованные методы статистики (параметрической и непараметрической). Статистическая обработка результатов проводилась в SPSS Statistics 20.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты и обсуждение клинического фармакогенетического исследования тикагрелора и клопидогрела у пациентов с сердечно-сосудистыми нарушениями **Пациенты с ОКС, получающие двойную антиагрегантную терапию АСК и тикагрелором или клопидогрелом**

В подгруппу пациентов, принимающих двойную антиагрегантную терапию АСК и тикагрелором было включено 128 пациентов с ОКС, перенесших ЧКВ. Средний возраст: $59,5 \pm 10,9$ лет. Среди них: 107 пациентов мужского пола (83,6%) и 21 пациент женского пола (16,4%). В подгруппу пациентов, принимающих двойную антиагрегантную терапию АСК и клопидогрелом было включено 115 пациентов с ОКС, перенесших ЧКВ. Средний возраст: $65,2 \pm 11,5$ лет. Среди них: 87 пациентов мужского пола (75,7%) и 28 пациентов женского пола (24,3%). Среди пациентов с ОКС, получающих тикагрелор или клопидогрел, сахарный диабет был отмечен среди 13,3% и 17,4%, артериальная гипертензия - 70,2% и 92,2%, ишемический инсульт в анамнезе – 6,3% и 6,3%, почечная недостаточность различной степени 2,3: и 1,7%, инфаркт миокарда в анамнезе – 8,6% и 12,2%, хроническая сердечная недостаточность II стадии и выше – 20,3% и 30,4%, соответственно. Сопутствующая фармакотерапия пациентов с ОКС назначалась по решению лечащего врача на основе действующих клинических рекомендаций и стандартов лечения пациентов с ОКС и включала несколько групп лекарственных препаратов с потенциалом взаимодействия с ингибиторами P2Y₁₂-рецепторов на уровне системы цитохрома P-450: блокаторы кальциевых каналов (17,4% - в группе тикагрелора и 14,8% - в группе клопидогрела), ингибиторы протонной помпы (75,8% - в группе тикагрелора и 87,8% - в группе клопидогрела), статины (95,3% - в группе тикагрелора и 99,1% - в группе клопидогрела).

Пациенты с ОКС и фибрилляцией предсердий, получающие антиагрегантную терапию клопидогрелом в сочетании с ривароксабаном

В подгруппу пациентов, принимающих двойную (АСК + клопидогрел + ривароксабан) или тройную (клопидогрел + ривароксабан) антитромботическую терапию было включено 103 пациента с ОКС с ЧКВ и без в сочетании с фибрилляцией предсердий. Средний возраст $72,8 \pm 9,8$ лет. Среди них: 56 (54,5%) пациентов мужского пола и 47 пациентов женского пола (45,5%). Характер антитромботической терапии: тройная - 76 (73,7%), двойная - 27 (26,3%). Среди пациентов с ОКС и фибрилляцией предсердий частота встречаемости ожирения составила – 49%,

курение – 8,7%, инфаркт миокарда в анамнезе – 46,6%, хроническая сердечная недостаточность II стадии и выше – 35,9%, сахарный диабет – 29,1%, любые кровотечения в анамнезе – 19,4%. После верификации диагноза у пациентов с ОКС в сочетании с фибрилляцией предсердий, получающих клопидогрел в сочетании с ривароксабаном, инфаркт миокарда с подъемом сегмента ST наблюдался среди 27,2%, инфаркт без подъема сегмента ST – 50,5%, нестабильная стенокардия – 22,3%, чрескожное коронарное вмешательство в текущую госпитализацию – 73,8, большие, малые или требующие медицинского наблюдения кровотечения – 10,6%, сердечно-сосудистая смерть – 3,9%, острое нарушение мозгового кровообращения/транзиторная ишемическая атака - 2%, госпитальная смертность – 2,9%, смерть на фоне почечной недостаточности – 32,2%.

Пациенты с ишемическим инсультом, получающих антиагрегантную терапию клопидогрелом

В подгруппу пациентов с некардиоэмболическим ишемическим инсультом, получающих клопидогрел, был включен 121 пациент. Среди них: мужчины - 68 % женщины - 32 %. Всем пациентам была назначена антиагрегантная терапия клопидогрелом в дозе 75 мг, после смены с 125 мг АСК, назначенных в первые сутки госпитализации или не ранее 24 часов после проведения тромболизиса. Среди пациентов с ишемическим инсультом частота встречаемости ожирения составила - 32,2%, артериальной гипертензии - 99,2%, гиперлипидемии - 59,5%, перенесенного инфаркта миокарда в анамнезе - 19,8%, транзиторной ишемической атаки в анамнезе - 53,7%, заболеваний периферических сосудов - 15,7%, сахарного диабета - 28,9%, хронической сердечной недостаточности - 93,4%.

Изучение вариабельности фармакологического ответа на ингибиторы P2Y₁₂-рецепторов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

Оценка агрегации тромбоцитов пациентов на фоне применения клопидогрела у пациентов с различными сердечно-сосудистыми заболеваниями

Средние значения АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов методом VerifyNow были полученные среди пациентов с ОКС, принимающих тикагрелор или клопидогрел в составе двойной антиагрегантной терапии, а также среди пациентов с ОКС в сочетании с фибрилляцией предсердий, принимающих клопидогрел в комбинированной антитромботической терапии, представлены в Таблице 1.

Таблица 1 – Показатели АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов среди пациентов с ОКС и ОКС в сочетании с фибрилляцией предсердий

Показатели остаточной активности тромбоцитов	Подгруппа ОКС (тикагрелор)		Подгруппа ОКС (клопидогрел)		Подгруппа ОКС + ФП (клопидогрел)	
	М	SD	М	SD	М	SD
Базовое PRU, в абсолютных единицах	177,5	39,3	226,7	40,4	193,6	46,2
PRU, в абсолютных единицах	19,2	29,4	155,7	56,9	135,8	62,0
Процент ингибирования, %	89,5	15,5	32,0	21,9	30,5	27,8
Примечание: М – среднее; SD -стандартное отклонение; ОКС – острый коронарный синдром; ФП – фибрилляция предсердий						

Доля пациентов с высокой остаточной реактивностью тромбоцитов ($PRU > 208$) и низкой остаточной реактивностью тромбоцитов ($PRU < 95$) среди пациентов с ОКС на фоне терапии клопидогрелом составила 23,6 % ($n=26$) и 17,2 ($n=19$), что соответствует данным литературы. При оценке особенностей клинических, демографических и лабораторных характеристик пациентов с недостаточным ответом на клопидогрел ($PRU > 208$) при ОКС было выявлено, что в группе пациентов с резистентностью к клопидогрелу значимо выше среднее число лейкоцитов ($9,1 \pm 6,3$ против $9,9 \pm 2,05\%$; $p = 0,008$). В группе с чрезмерным подавлением активности тромбоцитов - низкой остаточной реактивностью тромбоцитов ($PRU < 95$): чаще встречалась хроническая сердечная недостаточность (63,2% против 19,8%; $p < 0,0003$), прием блокаторов кальциевых каналов (31,6% против 9,9%; $p = 0,012$), прием диуретиков (57,9% против 30,8%; $p = 0,025$), ингибиторов протонной помпы (57,9% против 30,8%; $p = 0,009$). По другим характеристикам пациентов значимых различий не выявлено. Среди пациентов с ОКС + ФП, получающих двойную (клопидогрел+ривароксабан) или тройную (АСК+клопидогрел+ривароксабан) антитромботическую терапию показатели высокой остаточной реактивностью тромбоцитов и низкой остаточной реактивностью тромбоцитов составили 12 (11,7%) и 25 (24,3%), что вероятно

обусловлено, возможным дополнительным влиянием ривароксабана. При оценке особенностей клинических, демографических и лабораторных характеристик пациентов с недостаточным ответом на клопидогрел ($PRU > 208$) при ОКС в сочетании с фибрилляцией предсердий было выявлено, что в группе пациентов с резистентностью к клопидогрелу значимо чаще встречались пациенты с высоким риском по шкале SYNTAX (8,3% против 7,7%; $p < 0,0001$). В группе с низкой остаточной реактивностью тромбоцитов чаще встречались пациенты с ХОБЛ (28,0% против 10,3%; $p=0,029$) и с концентрацией клопидогрела ниже порога определения (45,8% против 23,4%; $p=0,034$). По другим характеристикам пациентов значимых различий не выявлено.

Оценка вариабельности динамики остаточной агрегации тромбоцитов на фоне применения клопидогрела у пациентов с острым ишемическим инсультом

Доля пациентов с высокой остаточной реактивностью тромбоцитов среди пациентов с ишемическим инсультом на фоне терапии клопидогрелом (снижение максимальной АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов $<10\%$ по сравнению с уровнем до начала терапии) составила на 7 день - 30,3 % и на 13 день - 28,6% (Таблица 2).

Таблица 2 - Доля пациентов с высокой остаточной реактивностью тромбоцитов среди пациентов с ишемическим инсультом на фоне терапии клопидогрелом

Группы по ответу на клопидогел	На 7 день	На 13 день
Снижение максимальной АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов $<10\%$	n=119	n=121
	36 (30,3 %)	34 (28,6%)
Снижение максимальной АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов группы $10\% + 10-29\%$	n=119	n=120
	72 (60,0%)	63 (52,5%)

При оценке особенностей клинических, демографических и лабораторных характеристик пациентов с недостаточным ответом на клопидогрел при ишемическом инсульте было выявлено, что в группе пациентов с резистентностью к клопидогрелу на 7 день было выявлено, что у пациентов с резистентностью к клопидогрелу чаще встречались пациенты с ХОБЛ чаще (28,0% против 10,3%; $p=0,029$), чаще пациенты с концентрацией клопидогрела ниже порога определения (45,8% против

23,4%; $p=0,034$), выше клиренс креатинина по Кокрофт-Голту (0,026) и ниже средний уровень липопротеинов высокой плотности ($p=0,047$). В группе оценки агрегации на 13 день значимо реже встречались пациенты, принимающие бета-адреноблокаторы (50,0% против 29,9%; $p=0,038$). По другим характеристикам пациентов значимых различий не выявлено.

Определение терапевтического диапазона агрегации тромбоцитов на фоне применения тикагрелора у пациентов с острым коронарным синдромом

Несмотря на то, что согласно официальной инструкции прибора и рекомендациям консенсуса экспертов набор VerifyNow P2Y12 рассчитан на измерение остаточной реактивности тромбоцитов на фоне терапии всеми ингибиторами P2Y12-тромбоцитов, зачастую средние показатели PRU для тикагрелора и прасугрела в реальной практике гораздо ниже рекомендованного «терапевтического окна» для клопидогрела: 95-208. Валидные значения АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов на фоне тикагрелора методом VerifyNow в исследовании были получены среди 106 пациентов с ОКС и ЧКВ из 128. В текущем исследовании не выявлено пациентов с высокой остаточной реактивностью тромбоцитов ($PRU > 208$), а число пациентов с низкой остаточной реактивностью тромбоцитов ($PRU < 95$) составило подавляющее большинство – 103 (97,1%) со средним значением PRU - 19,7. Реальные границы «терапевтического окна» для тикагрелора, которые могут составлять после удаления выбросов в результате биоинформатического анализа соответствуют PRU 5-47, что коррелирует данными пилотных исследований других авторов.

Оценка возможности фармакогенетических биомаркеров прогнозировать индивидуальный фармакологический ответ при применении ингибиторов P2Y12-рецепторов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

Выбор генов-кандидатов для оценки возможности фармакогенетических биомаркеров прогнозировать индивидуальный фармакологический ответ при применении ингибиторов P2Y12-рецепторов основан на ген-кандидат подходе с учетом особенностей фармакокинетики и фармакодинамики клопидогрела и тикагрелора.

Оценка влияния носительства фармакогенетических маркеров на антиагрегантное действие клопидогрела у пациентов с ОКС

Из изучаемых фармакогенетических маркеров ABCB1 (rs1045642), ABCG2 (rs2231142), CYP3A5 (rs776746), CYP3A4 (rs35599367), CYP2C19 (*2 - rs4244285, *3 - rs4986893, *17 -

rs12248560), CYP2B6 (rs2279343), CES1 (rs2244613), PON1 (rs662), PEAR1 (rs57731889, rs822442, rs41273215), IGTB3 (rs5918T), P2Y12 (rs3732759, rs2046934), CYP4F2 (rs2108622), B4GALT2 (rs1061781)) показавшим влияние на антиагрегантное действие клопидогрела у пациентов с ОКС оказались маркеры - CYP2C19*2 (rs4244285), CYP2C19*17 (rs12248560) и PEAR1 (rs41273215). При этом частота ABCB1 (rs1045642), CYP2C19 (rs4244285, rs4986893, rs12248560) и CYP4F2 (rs2108622) оценивалась среди всей выборки, а частота остальных маркеров в пилотном исследовании среди 31 пациента с ОКС, получающих клопидогрел. Распределение аллелей и генотипов в группе ОКС, получающих клопидогрел, соответствовало закону Харди-Вайнберга за исключением следующих маркеров: ABCB1 (rs1045642), CYP4F2 (rs2108622) и CYP2B6 (rs2279343). Среди носителей аллели CYP2C19*2 (генотипы G/A+A/A), ассоциированного с повышенной активностью фермента CYP2C19 и резистентностью к клопидогрелу, отмечалась более высокая доля пациентов с недостаточным подавлением активности тромбоцитов (PRU более 208), по сравнению с носителями генотипа CC (40,0% vs 14,9%, (p=0,011)) и более низкий уровень процента адекватно ингибированных тромбоцитов (в %): $33,7 \pm 22$ vs $23,4 \pm 19,9$, p = 0,037. Среди носителей аллели CYP2C19*17 (генотипы CT+TT) отмечалась более высокая доля пациентов с чрезмерным подавлением активности тромбоцитов (PRU менее 95), по сравнению с носителями генотипа CC: 9,7% vs 31,4%, p=0,005. Среди носителей аллели T (генотипы CT+TT) по PEAR1 (rs41273215) так же отмечалась более высокая доля пациентов с чрезмерным подавлением активности тромбоцитов (PRU менее 95) в, по сравнению с носителями генотипа CC (34,8% vs 100%, (p=0,032)) и более низкий уровень активности тромбоцитов, по сравнению с носителями генотипа CC: $PRU\ 53 \pm 22,6$ vs $124,2 \pm 53,5$ (p = 0,012). Однако число пациентов носителей генотипов CT+TT по PEAR1 (rs41273215) невелико (n=3) для формирования однозначных выводов и эти найденные тенденции требуют подтверждения на большей выборке.

Оценка влияния фармакогенетических маркеров на антиагрегантное действие клопидогрела и клинические исходы при его совместном применении с ривароксабаном

Из изучаемых фармакогенетических маркеров (ABCB1 (rs1045642, rs4148738), ABCG2 (rs2231142), CYP1A2 (rs2069522), CYP3A5 (rs776746), CYP3A4 (rs35599367, rs2242480), CYP2C19 (rs4244285, rs4986893, rs12248560), CYP2B6 (rs2279343), CES1 (rs2244613), PON1 (rs662), PEAR1 (rs57731889, rs822442, rs41273215), IGTB3 (rs5918T), P2Y12 (rs3732759, rs2046934), CYP4F2 (rs2108622), B4GALT2 (rs1061781)) показавшим влияние на антиагрегантное действие клопидогрела и клинические исходы у пациентов с ОКС и ФП оказались маркеры - CYP2C19*17, PON1 (rs662),

CYP4F2 (rs2108622), B4GALT2 (rs1061781). Распределение аллелей и генотипов в группе ОКС + ФП, получающих клопидогрел, соответствовало закону Харди-Вайнберга за исключением следующих маркеров: P2Y12 (rs2046934), PEAR1 (rs822442), CES1 (rs2244613).

В данной подгруппе носители генотипов СТ+ТТ по CYP2C19*17, кодирующих изофермент CYP2C19 с повышенной активностью и связанных с риском кровотечений на фоне клопидогрела, имели более высокие показатели ингибирования тромбоцитов ($37,8\% \pm 28,9$ по сравнению с $25,0\% \pm 25,9$; $p = 0,013$) и, следовательно, более низкие значения PRU ($121,4 \pm 63,5$ против $147,1 \pm 59,0$; $p = 0,044$) по сравнению с не носителями. Данный аллельный вариант был статистически значимо ассоциирован так же с риском общегоспитальной смертности (0% в среди СС против 6,7 % среди СТ+ТТ; $p = 0,046$) и сердечно-сосудистой смертью (0% против 8,9%; $p = 0,021$). Пациенты с генотипами СТ+ТТ по PON1 (rs662) имели значимо более низкую смертность на фоне почечной недостаточности 28,3% против 63,6% ($p=0,017$). Генотипы СТ+ТТ по полиморфному маркеру CYP4F2 (rs2108622), были статистически значимо ассоциированы с большей частотой значимых кровотечений на фоне комбинированной антитромботической терапии: 3,5 % против 20,9 % ($p=0,006$). Кроме того, у пациентов с генотипами СТ+ТТ по PEAR1 (rs41273215) была в 3 раза выше частота значимых кровотечений: 23,8% против 7,6% ($p=0,035$). У носителей генотипов СТ+ТТ по B4GALT2 (rs1061781) статистически значимо была ниже частота смертности на фоне почечной недостаточности: 35,0% против 0,0%, $p=0,031$, в тоже время этот полиморфизм статистически значимо ассоциировался с увеличением частоты инсультов и транзиторных ишемических атак: 1,1 % против 11,1 % ($p=0,041$). Однако число пациентов носителей генотипов СТ+ТТ гена B4GALT2 (rs1061781) невелико ($n=9$) для формирования однозначных выводов и эти найденные тенденции требуют подтверждения на большей выборке.

Оценка влияния носительства отобранных в исследовании фармакогенетических маркеров на антиагрегантное действие клопидогрела у пациентов с ишемическим инсультом

Из изучаемых фармакогенетических маркеров (ABCB1 (rs1045642, rs4148738), ABCG2 (rs2231142), CYP1A2 (rs2069522), CYP3A5 (rs776746), CYP3A4 (rs2242480), CYP2C19 (rs4244285, rs4986893, rs12248560), CYP2B6 (rs2279343), CES1 (rs2244613), PON1 (rs662), PEAR1 (rs57731889, rs822442, rs41273215), IGTB3 (rs5918T), P2Y12 (rs3732759, rs2046934), CYP4F2 (rs2108622), B4GALT2 (rs1061781)) показавшим влияние на антиагрегантное действие клопидогрела у пациентов ишемическим инсультом оказался маркер - P2Y12 (rs2046934). Распределение аллелей и генотипов в группе ишемического инсульта, получающих клопидогрел, соответствовало закону Харди-

Вайнберга за исключением следующих маркеров: P2Y12 (rs2046934), PEAR1 (rs822442), CES1 (rs2244613). Среди пациентов с ишемическим инсультом - носителей генотипа GA+AA по P2Y12 (rs2046934) значимо чаще на 13 день терапии резистентность к клопидогрелу (снижение максимальной агрегации после начала лечения менее 10%), по сравнению с носителями генотипов GG: 45,8 % vs 23,7 %, $p=0,031$. При этом, наблюдались статистически значимые различия агрегации тромбоцитов в зависимости от носительства фармакогенетических маркеров в 1 день до приема клопидогрела ABCB1 (rs1045642), CES1 (rs2244613), PEAR1 (rs822442, 41273215), CYP4F2 (rs2108622), что следует учитывать при оценке прогностической роли данных маркеров для прогнозирования резистентности тромбоцитов.

Оценка влияния носительства отобранных в исследовании фармакогенетических маркеров на антиагрегантное действие тикагрелора у пациентов с острым коронарным синдромом

Ни один из изучаемых в исследовании фармакогенетических маркеров (ABCB1 (rs1045642), CYP3A5 (rs776746), CYP3A4 (rs35599367, rs2242480), CYP2C19 (rs4244285, rs4986893, rs12248560), CYP2B6 (rs2279343), CES1 (rs2244613), UGT2B7 (rs61361928), PON1 (rs662), PEAR1 (rs822442, rs41273215), IGTB3 (rs5918T), P2Y12 (rs2046934), CYP4F2 (rs2108622) не оказывал значимого влияния на антиагрегантное действие тикагрелора. Распределение аллелей и генотипов в группе ишемического инсульта, получающих тикагрелор, соответствовало закону Харди-Вайнберга за исключением следующих маркеров: PEAR1 (rs822442) и CES1 (rs2244613).

Поиск новых фармакогенетических маркеров развития кровотечений при совместном применении клопидогрела и ривароксабана с применением экзомного секвенирования у пациентов с геморрагическими осложнениями

В группе пациентов с ОКС в сочетании с фибрилляцией предсердий с геморрагическими осложнениями (2-3 тип кровотечений по шкале BARC $n=12$), которые были секвенированы по перспективным генам-кандидатам (5 генов: гены, которые могут привести к изменению кинетики клопидогрела - ABCB1, ABCG2, CES1, CYP3A4, и динамики клопидогрела - P2RY12), значимые отклонения по сравнению с популяционными частотами показали 10 вариантов нуклеотидной последовательности: 1 в гене ABCG2, 8 в гене CES1 и 1 в гене P2Y12. Среди найденных значимых замен на экзонную область приходится: 3 несинонимичные (rs3826193, rs3826192, rs62028647) и 3 синонимичные (rs3826191, rs74019278, rs76828834) по гену CES1 и 1 синонимичная rs6785930 по

гену P2Y₁₂. Вариант, показавший значимое отклонение от популяционных частот в гене ABCG2 (rs2231148) находится в интронной области. Среди найденных замен, клиническое значение с изменением активности кодируемого белка могут иметь экзонные несинонимичные. В ранее проведенных исследованиях взаимосвязь с риском кровотечений у пациентов с ОКС и фибрилляцией предсердий данных замен не описана.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ РОЛИ ФАРМАКОЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ И ФАРМАКОМЕТАБОЛОМНЫХ БИОМАРКЕРОВ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИНГИБИТОРОВ P2Y₁₂-РЕЦЕПТОРОВ

Оценка возможности фармакоэпигенетических биомаркеров прогнозировать индивидуальный фармакологический ответ при применении ингибиторов P2Y₁₂ рецепторов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

Выбор микроРНК для оценки возможности фармакогенетических биомаркеров прогнозировать индивидуальный фармакологический ответ при применении ингибиторов P2Y₁₂-рецепторов основан на кандидатном подходе с учетом данных экспериментальных исследований на тканях печени по оценке влияния различных микроРНК на экспрессию соответствующих генов ADME для ингибиторов P2Y₁₂-рецепторов клопидогрела и тикагрелора. Помимо генов ADME-системы, микроРНК могут так же оказывать влияние на экспрессию генов, кодирующих различные рецепторы и структуры тромбоцитов и, соответственно, оказывать влияние на эффективность и безопасность терапии ингибиторами P2Y₁₂-рецепторов клопидогрелом и тикагрелором.

Оценка взаимосвязи уровня циркулирующих в плазме микроРНК miR-126, miR-150, miR-223, miR-142, miR-34a, miR-29a-3p с антиагрегантным действием тикагрелора

Из изучаемых микроРНК прямую корреляцию средней силы с активностью тромбоцитов у больных с ОКС на фоне приема тикагрелора (n=35) продемонстрировали miR-126 (r=0,541, p<0,001) и miR-223 (r=0,543, p<0,001) (Рисунок 5,6).

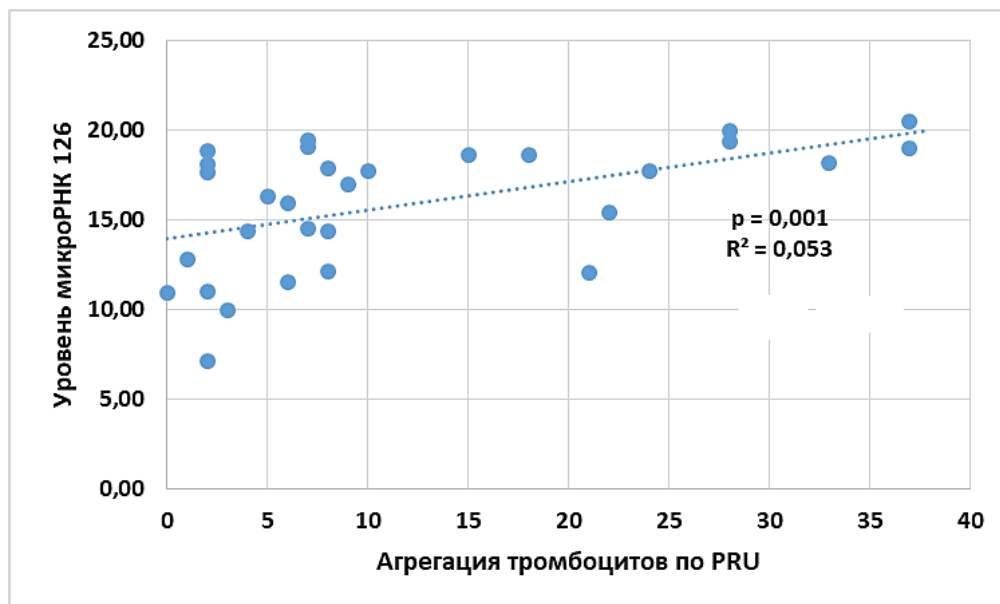


Рисунок 5 - Корреляция между уровнем микроРНК-126 и активностью тромбоцитов у больных с ОКС на фоне тикагрелора

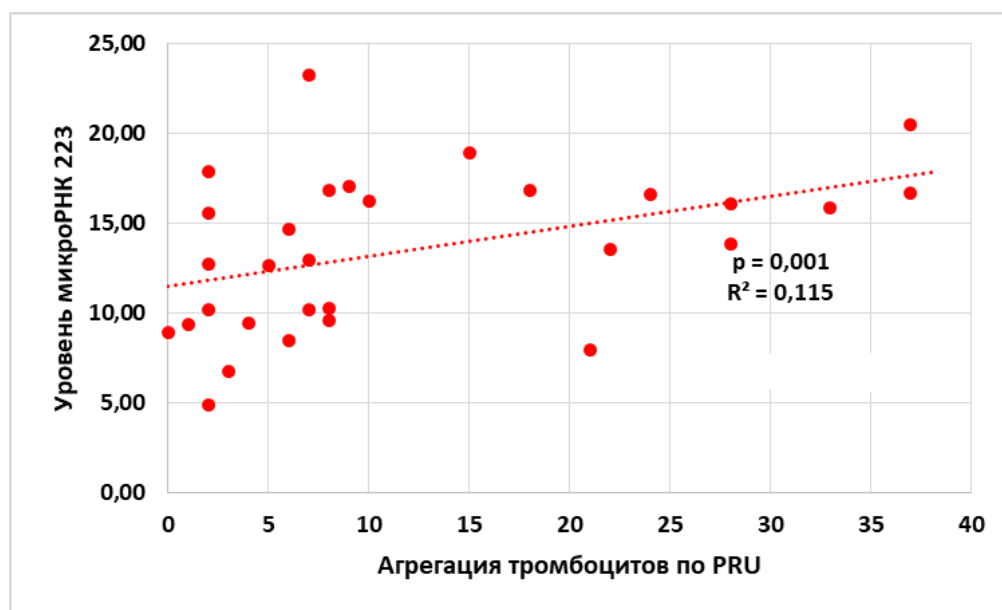


Рисунок 6 - Корреляция между уровнем микроРНК-223 и активностью тромбоцитов у больных с ОКС на фоне тикагрелора

Ранее в экспериментальных исследованиях Rieger J. и соавт., показано, что микроРНК-223 модулирует уровень экспрессии P2Y₁₂-рецепторов на поверхности тромбоцитов, а микроРНК-126 - модулирует тромбоцит-опосредованную генерацию тромбина. Соответственно, микро-РНК-223 и микроРНК-126 за счет регуляции экспрессии рецептора P2Y₁₂ и регуляции генерации тромбина, могут влиять на антиагрегантный эффект тикагрелора и выступать перспективным маркером персонализации терапии данным ингибитором P2Y₁₂-рецепторов.

При дополнительном анализе из изучаемых микроРНК обратную корреляцию средней и слабой силы с концентрацией тикагрелора и его метаболита у больных с ОКС (n=35) продемонстрировали микроРНК-29а ($r = -0,520$) и микроРНК-150 ($r = -0,432$), соответственно (Рисунки 7,8).

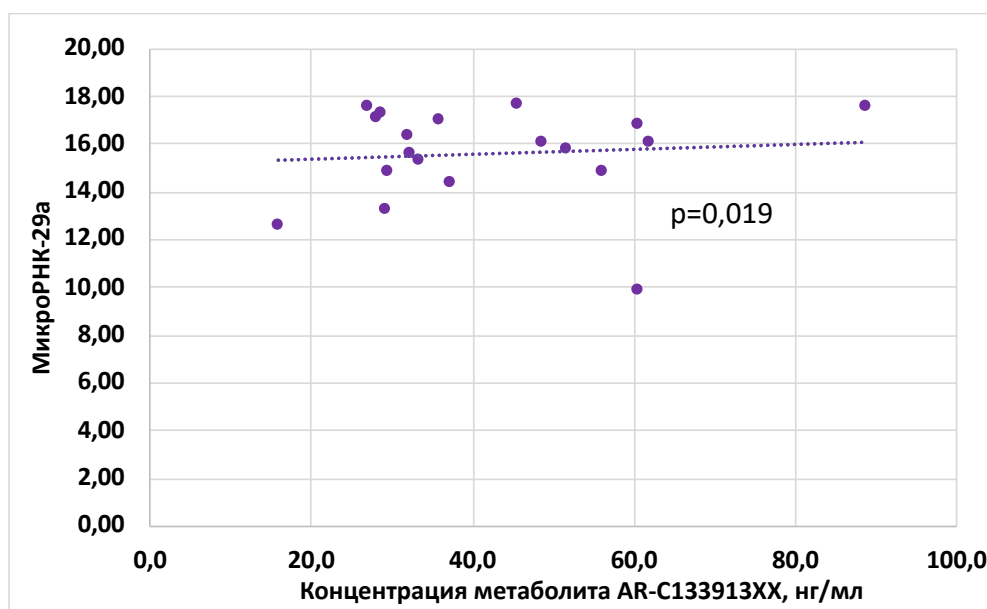


Рисунок 7 - Корреляция между уровнем микроРНК-29а и концентрацией метаболита тикагрелора у больных с ОКС на фоне тикагрелора

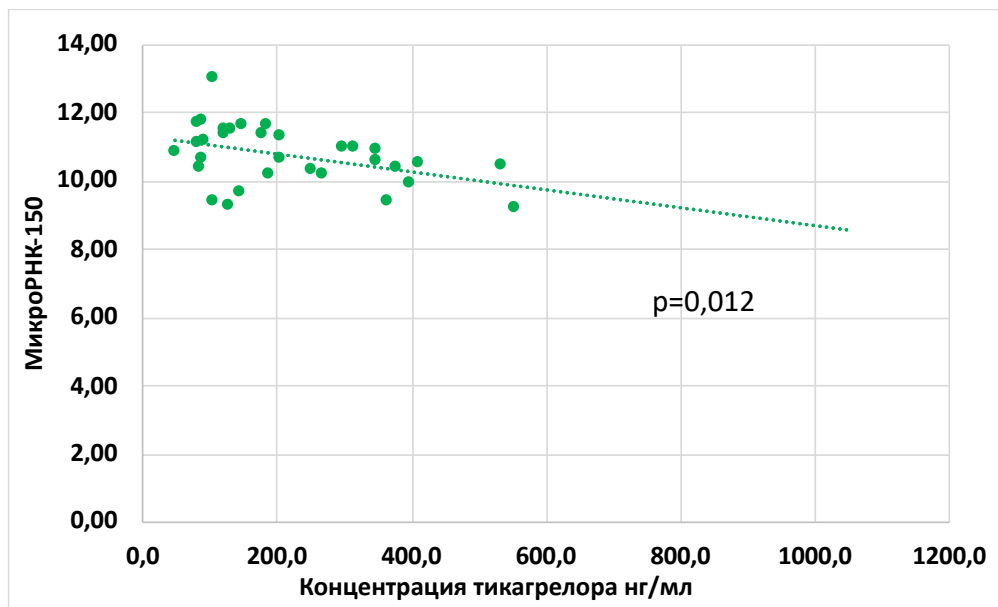


Рисунок 8 - Корреляция между уровнем микроРНК-150 и концентрацией тикагрелора у больных с ОКС

Ранее в экспериментальных исследованиях Rieger J. и соавт., показано, что микроРНК-29a модулирует уровень экспрессии изофермента CYP2C19 и транспортера SLC16A1 клетках печени. Таким образом, микроРНК-29a счет регуляции экспрессии транспортеров семейства SLC может влиять на антиагрегантный эффект тикагрелора и выступать перспективным эпигенетическим маркером персонализации терапии данным ингибитором P2Y12-рецепторов. По результатам регрессионного анализа микроРНК-150 и микроРНК-142 оказались независимыми предикторами в группе ОКС (n=34), что подтверждает перспективность дальнейшего изучения микроРНК-150 и микроРНК-142 в качестве перспективных для внедрения в клиническую практику биомаркеров. В отличие от тикагрелора, микроРНК miR-126, miR-150, miR-223, miR-142, miR-34a, miR-29a-3p не показали какой-либо значимой взаимосвязи с антиагрегантным действием клопидогрела в группе ОКС (n=34). Оценка микроРНК в группе ОКС в сочетании с фибрилляцией предсердий и группе ишемического инсульта в текущем исследовании не проводилась.

Оценка возможности фармакометаболических биомаркеров прогнозировать индивидуальный фармакологический ответ при применении ингибиторов P2Y₁₂ рецепторов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

Минимальная равновесная концентрация тикагрелора и метаболита была измерена среди 128 пациентов с ОКС. Минимальная равновесная концентрация клопидогрела была измерена среди 34 пациентов с ОКС (Таблица 3). Показатели активности CYP3A4/5 - метаболическое отношение 6-бета-гидрокортизол/кортизол среди пациентов с ОКС на фоне терапии клопидогрелом и тикагрелором составили $2,9 \pm 2,3$ и $2,3 \pm 1,6$ нг/мл и соответственно.

Таблица 3 - Фармакокинетические показатели ингибиторов P2Y₁₂ рецепторов у пациентов с ОКС и ОКС с ФП

Фармакокинетические показатели	Среднее (M)	Стандартное отклонение (SD)
Концентрация тикагрелора в плазме, нг/мл	517,47	523,48
Концентрация метаболита в плазме AR-C133913XX, нг/мл	70,96	42,64
Концентрация клопидогрела в плазме, нг/мл	1,776	1,1

При оценке ассоциаций исследуемых фармакометаболических биомаркеров (минимальной равновесной концентрации тикагрелора и клопидогрела, уровня активности CYP3A4/5 по метаболическому отношению 6-бета-гидрокортизол/кортизол) с уровнем активности тромбоцитов - значимой взаимосвязи не обнаружено. Значимые корреляции были продемонстрированы только в дополнительном анализе для уровней микроРНК-29а и микроРНК-150 с показателями агрегации тромбоцитов (результаты представлены в разделе описания результатов оценки микроРНК). Кроме того, для клопидогрела значимые корреляции были продемонстрированы с фармакогенетическими маркерами: у пациентов с концентрацией клопидогрела ниже порога определения 0,05 нг/мл гораздо реже встречались генотипы GA+AA P2Y₁₂ (rs2046934), чем нормальный генотип GG (29,3% vs 4%, $p=0,009$), что скорее является случайной ассоциацией, так как ген P2Y₁₂, кодирует рецептор P2Y₁₂ и не влияет на

фармакокинетические параметры. Дополнительно, отмечалась тенденция к более высокой частоте носительства генотипов СТ+ТТ по CYP2C19*17, кодирующих изофермент CYP2C19 с повышенной активностью и ассоциированных с риском кровотечений на фоне клопидогрела, среди пациентов с концентрацией клопидогрела ниже порога определения: 58,6% vs 37,5% ($p=0,053$). Данные результаты отчасти можно объяснить более интенсивным метаболизмом клопидогрела под влиянием изофермента CYP2C19 при носительстве аллельного варианта CYP2C19*17. В исследовании активности системы изоферментов CYP3A4/3A5 у больных с ОКС на клопидогреле была установлена значимая слабая обратная корреляция с уровнем микроРНК-142 ($r= - 0,361$, $p=0,04$), что соответствует данными литературы (Рисунок 9).

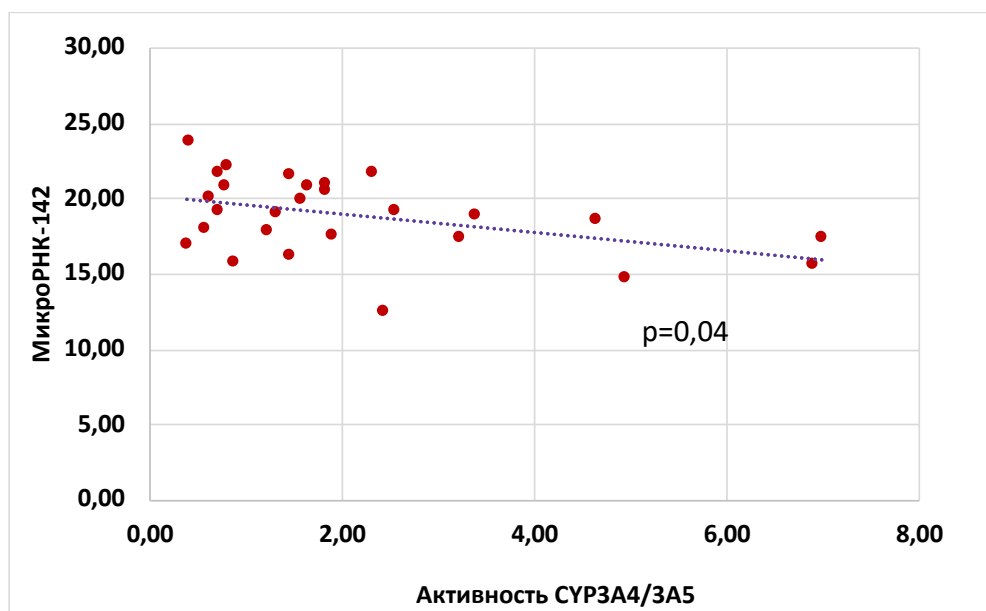


Рисунок 9 – Корреляция между уровнем микроРНК-142 и активностью системы изоферментов CYP3A4/3A5 у больных с ОКС на фоне приема клопидогрела

РЕЗУЛЬТАТЫ ПОПУЛЯЦИОННО-ЭТНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Здоровые добровольцы, включенные в популяционно-этническое исследование

В популяционно-этническое исследование отобранных клинически значимых фармакогенетических маркеров ответа на P2Y₁₂-рецепторы (ABCB1, CES1, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A5, SLCO1B1) включено 2 406 условно здоровых добровольцев старше 18 лет (min - 18, max - 72), проживающих в нескольких многонациональных регионах РФ: Северный Кавказ, Поволжье, Дальний Восток, Прибайкалье. Выбор указанных биомаркеров связан с важной ролью полиморфизма генов ABCB1, CES1, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A5, SLCO1B1 в нарушении антиагрегантного действия клопидогрела и/или тикагрелора через влияние на фармакокинетику или фармакодинамику указанных блокаторов P2Y₁₂-рецепторов, а так же выраженными межэтническими различиями носительства согласно ведущему ресурсу по фармакогенетическим исследованиям - PharmGkb .

Возрастно-половые характеристики исследуемых этнических групп:

- 200 балкарцев, средний возраст 46,6±18,7 года, из них 93 (46,5%) мужчины и 107 (53,5%) женщин;
- 204 кабардинца, средний возраст 47,3±17,8 года, из них 88 (43,1%) мужчин и 116 (56,9%) женщин;
- 114 бурят, средний возраст 42,8±15,4 года, из них 34 (29,8%) мужчины и 80 (70,2%) женщин;
- 206 марийцев, средний возраст 43,8±14,8 года, из них 35 (17,0%) мужчин и 171 (83,0%) женщины;
- 238 чувашей, средний возраст 39,5±12,3 года, из них 34 (14,3%) мужчины и 204 (85,7%) женщины;
- 115 нанайцев, средний возраст 43,5±12,7 года, из них 14 (20,0%) мужчин и 56 (80,0%) женщин;
- 141 татарин, средний возраст 47,9±13,9 года, из них 29 (20,6%) мужчин и 112 (79,4%) женщин;
- 239 осетин, средний возраст 28,0±11,7 года, из них 66 (27,6%) мужчин и 173 (72,4%) женщины;
- 118 аварцев, средний возраст 34,8±12,8 года, из них 67 (56,7%) мужчин и 51 (43,2%) женщины;
- 121 даргинец, средний возраст 28,5±9,3 года, из них 42 (34,7%) мужчины и 79 (65,2%) женщины;
- 127 кумыков, средний возраст 36,5±5,4 года, из них 25 (19,6%) мужчин и 102 (80,3%) женщин;
- 116 лакцев, средний возраст 24,1±17,9 года, из них 73 (62,9%) мужчин и 43 (79,4%) женщин;
- 123 лезгина, средний возраст 31,0±14,7 года, из них 66 (27,6%) мужчин и 173 (37,06%) женщины;
- 204 мордвина, средний возраст 46,0±12,9 года, из них 110 (53,9%) мужчин и 94 (46,07%) женщины;
- 134 русских, средний возраст 42,2±12,0 года, из них 26 (19,4%) мужчин и 110 (80,6%) женщин.

Изучение частоты носительства клинически значимых фармакогенетических маркеров, ассоциированных с индивидуальными особенностями фармакологического ответа на ингибиторы P2Y₁₂-рецепторов, в различных этнических группах Российской Федерации (мультиэтнический фармакогенетический анализ)

Выбор генов-кандидатов для популяционно-этнической части исследования по аналогии с клинической частью основан на ген-кандидат подходе с учетом особенностей фармакокинетики и фармакодинамики клопидогрела и тикагрелора. Всего было проанализировано 10 клинически значимых маркеров по 7 генам-кандидатам среди 14 этнических групп Российской Федерации (Северный Кавказ, Поволжье, Дальний Восток, Прибайкалье). Распределение частоты носительства клинически значимых фармакогенетических маркеров, ассоциированных с индивидуальными особенностями фармакологического ответа на ингибиторы P2Y₁₂ рецепторов в различных этнических группах Российской Федерации представлено на рисунке 10.

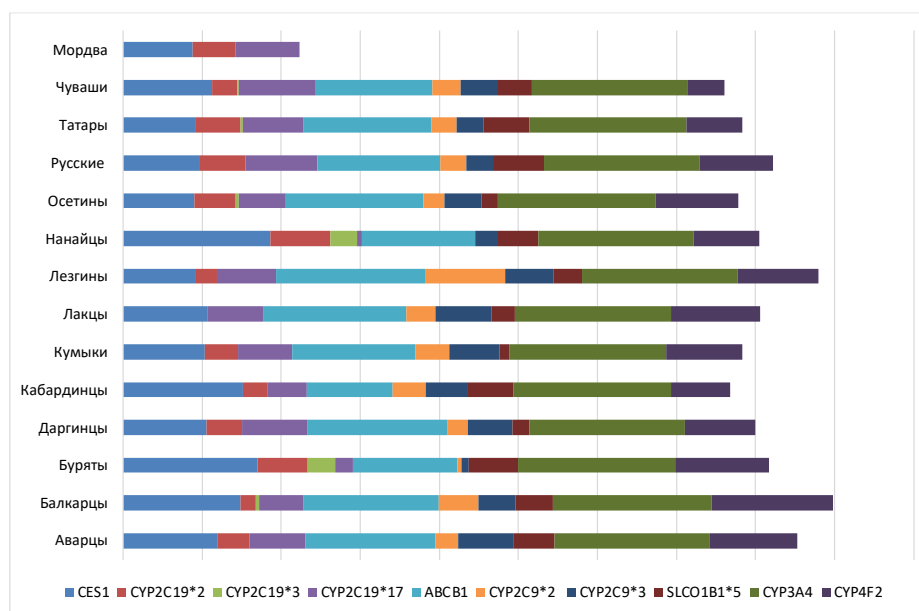


Рисунок – 10 Носительство клинически значимых минорных аллелей (гетерозигота + гомозигота по минорной аллели) среди этнических групп Российской Федерации

Анализ диаграмм распределения частот клинических значимых аллелей ABCB1 (rs1045642), CYP3A5 (rs776746), CYP2C19 (rs4244285, rs4986893, rs12248560), CES1 (rs2244613), CYP4F2 (rs2108622), демонстрирует, что носительство маркеров, ассоциированных с резистентностью к клопидогрелу и тикагрелору – неоднородно, а поправка на множественные сравнения стирает

большинство значимых различий частоты аллелей. В тоже время частота аллельных вариантов ассоциированных с резистентностью к клопидогрелу CYP2C19 (rs4244285, rs4986893), CES1 (rs2244613), CYP4F2 (rs2108622) демонстрирует тренд к большей распространенности среди представителей монголоидной расы нанайцы, буряты. А частота аллельных вариантов, ассоциированных с чрезмерным ответом на клопидогрел CYP2C19 (rs12248560), наоборот демонстрирует тренд к большей распространенности среди представителей европеоидной расы - русские, народы Северного Кавказа. Для выявления основного паттерна распространенности конкретных аллелей в дальнейших исследованиях требуется построение геногеографических карт, что позволит выявить популяционно-этнические особенности чувствительности к ингибиторам P2Y₁₂ рецепторов в различных этнических группах Российской Федерации.

РАЗРАБОТКА СХЕМЫ ПЕРСОНАЛИЗАЦИИ ОТВЕТА НА ИНГИБИТОРЫ P2Y₁₂-РЕЦЕПТОРОВ У ПАЦИЕНТОВ С СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

Результаты регрессионного анализа по выявлению значимых факторов прогнозирования ответа на ингибиторы P2Y₁₂-рецепторов

В результате проведенного логистического регрессионного анализа были установлены значимые факторы прогнозирования реактивности тромбоцитов для: группы ОКС клопидогрел – не выявлено; ОКС тикагрелор – прием БКК (ОШ=0,184 (95%ДИ 0,044-0,779) p=0,021), уровень гемоглобина (ОШ=0,930 (95%ДИ 0,883-0,980) p=0,06); группы ОКС + ФП - нет; группы ишемического инсульта – СКФ (ОШ=1,56 (95%ДИ 1,03-2,3) p=0,035) на 7 день, возраст (ОШ=0,929 (95%ДИ 0,879-0,982) p=0,009), СКФ (ОШ=6,6 (95% ДИ 1,06-41,2) p=0,042) и прием БАБ (ОШ=0,384 (95%ДИ 0,160-0,924) p=0,035) на 13 день. В результате проведенного линейного регрессионного анализа были установлены значимые факторы прогнозирования реактивности тромбоцитов для: группа ОКС клопидогрел - PEAR1 (rs41273215) (Бета = -0,417, p=0,034); группа ОКС тикагрелор – уровень гемоглобина (Бета = - 0,358, p=0,0001), прием БКК (Бета = 0.284, p=0,003) носительство CYP3A4 (rs2242480) (Бета = 0,193, p=0,034); группа ОКС + ФП – нет, группа ишемического инсульта – носительство P2Y₁₂ (rs2046934) (Бета = 0,242, p=0,008) на 7 и 13 день, возраст (Бета = 0,197, p=0,031) на 13 день. Для группы ОКС в сочетании с фибрилляцией предсердий регрессионный анализ не показал значимых предикторов.

Результаты биоинформатического анализа по выявлению значимых факторов прогнозирования ответа на ингибиторы P2Y12-рецепторов

По результатам биоинформатического анализа в группе ОКС в сочетании с ФП с элементами машинного обучения с высокой достоверностью удалось предсказать лишь общую смертность, а так же попадание в определенный диапазон уровня агрегации тромбоцитов (Рисунок 11,12). Другие исходы не удалось достоверно предсказать в связи с малым числом исходов по каждому событию. Наиболее значимыми факторами для предикции общей смертности оказались: СКФ, возраст, гемоглобин, процент ингибирования тромбоцитов и балы по шкалам SYNTAX и CRUSADE.

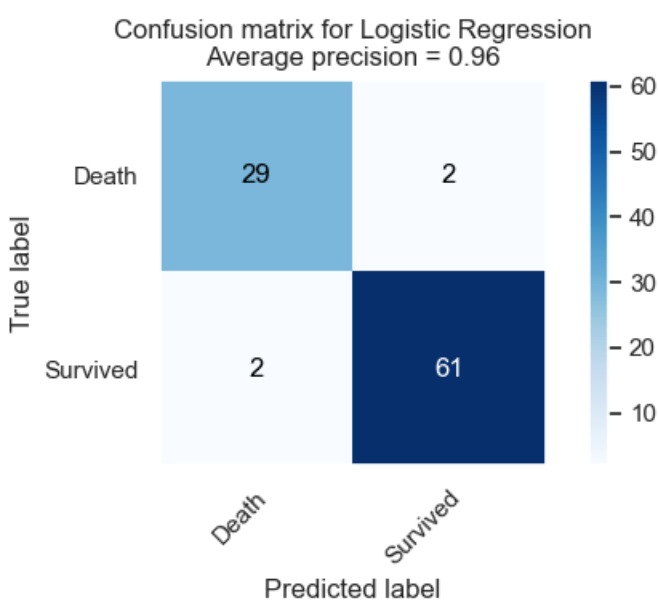


Рисунок 11 – Результаты прогнозирования смертности от всех причин в группе ОКС с ФП



Рисунок 12 – Результаты прогнозирования смертности в группе ОКС с ФП

В подгруппе пациентов ОКС, получающих тикагрелор, с помощью Пуассоновской регрессии с корректировками, была выведена итоговая модель уравнения, для предикции уровня активности тромбоцитов:

$$\begin{aligned}
 \ln \mu_i = & -1.22X_1 - 0.82X_2 - 1.32X_3 - 1.53X_4 + 9.95X_5 - 1.8X_6 + 3.09X_7 - 17.22X_8 - 21.45X_9 \\
 & - 0.85X_{10} + 0.3X_{11} - 0.59X_{12} - 0.84X_{13} + 0.46X_{14} + 5.78X_{15} - 3.9X_{16} + 1.88X_{17} \\
 & - 1.2X_{18} + 0.88X_{19} + 1.43X_{20} - 1.6X_{21} - 27.17X_{22} + 3.26X_{23} - 5.24X_{24} + 7.39X_{25} \\
 & - 26.22X_{26} - 1.88X_{27} + 2.22X_{28} + 3.15X_{29} + 0.41X_{30} - 2.74X_{31} - 1.46X_{32} - 1.29X_{33} \\
 & + 1.22X_{34} + \varepsilon_i
 \end{aligned}$$

Повышение PRU на фоне тикагрелора связано по результатам Пуассоновской регрессии с такими факторами, как: почечная недостаточность, общий уровень холестерина, количество тромбоцитов, количество повреждённых сосудов, статины, ингибиторы АПФ, полиморфизм гена CYP2C19*2, полиморфизм гена ABCB1*3435, полиморфизм гена PON1, полиморфизм CYP3A4*22, полиморфизм гена IGTB3, полиморфизм гена P2Y12, концентрация тикагрелора и нестабильная стенокардия. Снижением PRU на фоне тикагрелора связано по результатам Пуассоновской регрессии с такими факторами, как: принадлежность к возраст, мужскому полу, курение, гиперлипидемия, уровень гемоглобина, поражение периферических артерий, гематокрит, уровень глюкозы в крови, принимает ли пациент бета-адренблокаторы, принимает ли пациент ингибиторы рецепторов ангиотензина, полиморфизм гена SLCO1B1, полиморфизм гена CYP3A5, полиморфизм

гена UGT2B7, полиморфизм гена PEAR1, концентрация тикагрелора относительно порогового значения, концентрация метаболита AR-C133913XX, был ли ранее у пациента инфаркт без NSTEMI.

Схема персонализации применения ингибиторов P2Y12-рецепторов у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями

По результатам проведенных исследований по оценке роли фармакогенетических, фармакоэпигенетических, фармакометаболических биомаркеров выявлены важные данные по дополнительным факторам риска резистентности к клопидогрелу и тикагрелору. В персонализации терапии на основе биомаркеров важную роль играет выделение показаний к тому или иному тесту с учетом экономических затрат. Соответственно при разработке схемы персонализации применения ингибитора P2Y12 - рецепторов выделяются показания к фармакогенетическому тестированию при наличии факторов риска вариабельности ответа на терапию клопидогрелом или тикагрелором. Возможность адаптированного выбора ингибитора P2Y12 – рецепторов важна не только на начальном этапе, но так важную схему выбора роль может играть на этапе, когда нужна деэскалация терапии с тикагрелора или прасугрела на клопидогрел. На Рисунке 13 изображена предлагаемая схема персонализации применения ингибиторов P2Y12 - рецепторов.

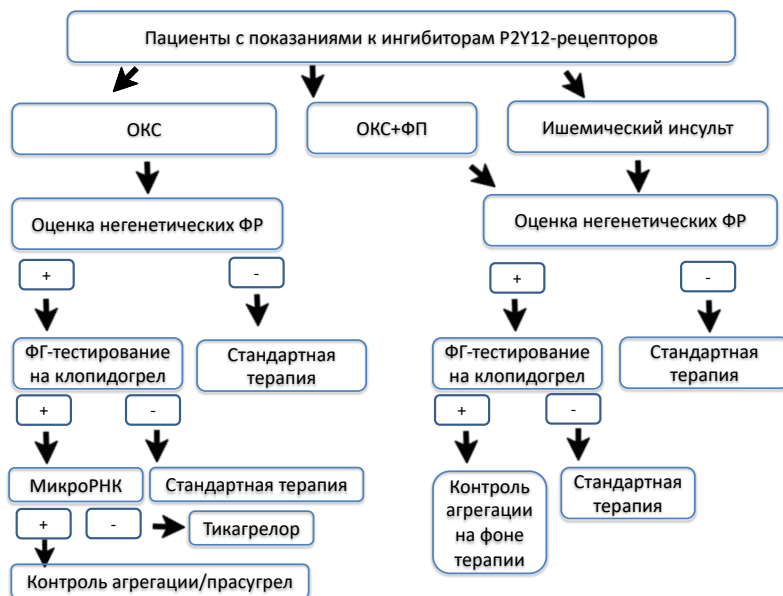


Рисунок 13 - Схема персонализации применения ингибиторов P2Y12-рецепторов при остром коронарном синдроме, сочетании острого коронарного синдрома с фибрилляцией предсердий, ишемическом инсульте

При наличии показаний к ингибиторам P2Y₁₂ - рецепторов схема предполагает первым этапом оценку негенетических факторов риска резистентности к клопидогрелу как из текущего исследования, так и доказанные в предыдущих исследованиях: возраст, пол, наличие ХОБЛ, ХСН, СД, прием БКК, ИПП, диуретиков и др. При отсутствии факторов риска допускается назначение клопидогрела или тикагрелора в стандартной дозе. В случае наличия 2 и более факторов риска необходимо рассмотреть проведение фармакогенетического тестирования прежде всего по CYP2C19 (*2 (rs4244285), *17 (rs12248560)), P2Y₁₂ (rs2046934). Если у пациента обнаружен 1 или более генетических факторов риска вариабельности антиагрегантного ответа на клопидогрел целесообразно выбрать другой ингибитор P2Y₁₂ – рецепторов в стандартной дозе. В случае пациента с риском недостаточного или чрезмерного ответа на тикагрелор – рассмотреть возможность оценки уровня циркулирующих микроРНК-126, 223, 150. При наличии фармакоэпигенетических факторов риска – мониторинг функции тромбоцитов может быть рассмотрен. Приведенная схема персонализации имеет ограничения, например, отсутствие конкретной схемы персонализации в зависимости от уровня микроРНК, и требует усовершенствования и валидации в крупных проспективных исследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование посвящено усовершенствованию лечения и разработке персонализированного подхода к выбору антиагрегантной терапии, обеспечивающего повышение эффективности и безопасности лечения у пациентов с острым коронарным синдромом, острым коронарным синдромом в сочетании с фибрилляцией предсердий и ишемическим инсультом. Клинико-лабораторная часть работы посвящена изучению вариабельности ответа и влияния фармакогенетических, фармакоэпигенетических, фармакометаболических биомаркеров на эффективность и безопасность терапии ингибиторами P2Y₁₂-рецепторов, с определением наиболее перспективных молекулярных биомаркеров для использования в схемах персонализированного подхода и прогнозирования эффективности антиагрегантной терапии острого коронарного синдрома, острого коронарного синдрома в сочетании с фибрилляцией предсердий, ишемического инсульта. В случае ОКС с ФП доля пациентов резистентных к клопидогрелу оказалась 2-3 раза ниже средних значений по данным литературы – 11,7%, что может стать одним из перспективных направлений для изучения способов преодоления резистентности к клопидогрелу у больных с ОКС. Показано так же, что в случае ОКС и ФП на первый план выходит высокая доля пациентов чрезмерным подавлением активности тромбоцитов – 24,3%. Доля пациентов с высокой остаточной

реактивностью тромбоцитов среди пациентов с ишемическим инсультом на фоне терапии клопидогрелом составила на 7 день - 30,3 % и на 13 день - 28,6%, что соответствует данным литературы составила почти около 1/3 пациентов. С учетом некорректности границ отсечения для тромботических и геморрагических осложнений предложены возможные границы «терапевтического окна» для тикагрелора - PRU 5-47, что коррелирует данными пилотных исследований других авторов. При изучении влияния фармакогенетических особенностей выявлена важная роль полиморфизма генов CYP2C19, PEAR1, PON1, CYP4F2, B4GALT2, P2Y12. В группе ОКС-клопидогрел среди носителей аллели CYP2C19*2, отмечалась более высокая доля пациентов с недостаточным подавлением активности тромбоцитов (PRU более 208), по сравнению с носителями генотипа CC (40,0% vs 14,9%, ($p=0,011$)) и более низкий уровень процента адекватно ингибированных тромбоцитов (в %): $33,7 \pm 22$ vs $23,4 \pm 19,9$, $p = 0,037$. Среди носителей аллели CYP2C19*17 отмечалась более высокая доля пациентов с чрезмерным подавлением активности тромбоцитов (PRU менее 95), по сравнению с носителями генотипа CC: 9,7% vs 31,4%, $p=0,005$. Среди носителей аллели T (генотипы CT+TT) по PEAR1 (rs41273215) – выше доля пациентов с чрезмерным подавлением активности тромбоцитов (PRU менее 95), по сравнению с носителями генотипа CC (34,8% vs 100%, ($p=0,032$)). В группе ОКС с ФП у носителей CYP2C19*17, отмечались более высокие показатели ингибирования тромбоцитов ($37,8\% \pm 28,9$ по сравнению с $25,0\% \pm 25,9$; $p = 0,013$) и более низкие значения PRU ($121,4 \pm 63,5$ против $147,1 \pm 59,0$; $p = 0,044$). CYP2C19*17 статистически значимо ассоциирован так же с риском общегоспитальной смертности (0% в среди CC против 6,7 % среди CT+TT; $p = 0,046$) и сердечно-сосудистой смертью (0% против 8,9%; $p = 0,021$). Пациенты с генотипами CT+TT по полиморфному маркеру CYP4F2 (rs2108622) в данной группе, были статистически значимо ассоциированы с большей частотой значимых кровотечений: 3,5 % против 20,9 % ($p=0,006$). У пациентов с генотипами CT+TT по PEAR1 (rs41273215) была в 3 раза выше частота значимых кровотечений: 23,8% против 7,6% ($p=0,035$). Среди пациентов с ишемическим инсультом - носителей генотипа GA+AA по P2Y12 (rs2046934) значимо чаще на 13 день терапии резистентность к клопидогрелу (снижение максимальной агрегации после начала лечения менее 10%), по сравнению с носителями генотипов GG: 45,8 % vs 23,7 %, $p=0,031$. Впервые на основе методов секвенирования нового поколения выделены генетические биомаркеры, оценка которых на практике позволит не только спрогнозировать риск кровотечений и в соответствии с этим индивидуально подойти к выбору ингибиторов P2Y12-рецепторов, но также способствовать улучшению клинических исходов лечения и качества жизни пациентов. Среди найденных значимых замен на экзонную область приходится: 3 несинонимичные (rs3826193, rs3826192, rs62028647) и 3

синонимичные (rs3826191, rs74019278, rs76828834) по гену CES1 и 1 синонимичная rs6785930 по гену P2Y12. В популяционно-этнической части исследований были определены частоты распределения 10 клинически значимых маркеров по 7 генам-кандидатам среди 14 этнических групп Российской Федерации (Северный Кавказ, Поволжье, Дальний Восток, Прибайкалье). Анализ диаграмм распределения частот клинически значимых аллелей генов ABCB1, CES1, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A5, SLCO1B1 демонстрирует, что носительство маркеров, ассоциированных с резистентностью к клопидогрелу и тикагрелору – неоднородно и для выявления основного паттерна распространенности конкретных аллелей в дальнейших исследованиях требуется построение геногеографических карт. При изучении влияния фармакоэпигенетических особенностей выявлена прямая корреляция средней силы микроРНК-126 ($r=0,541$, $p<0,001$) и микроРНК -223 ($r=0,543$, $p<0,001$) с активностью тромбоцитов у больных с ОКС на фоне приема тикагрелора. Обратную корреляцию средней и слабой силы с концентрацией тикагрелора и его метаболита у больных с ОКС продемонстрировали микроРНК-29a ($r = - 0,520$) и микроРНК-150 ($r = -0,432$). По результатам регрессионного анализа микроРНК-150 и микроРНК-142 оказались независимыми предикторами в группе ОКС ($n=34$), что подтверждает перспективность дальнейшего изучения микроРНК-150 и микроРНК-142 в качестве перспективных для внедрения в клиническую практику биомаркеров. При изучении влияния фармакоэпигенетических особенностей выявлена фармакометаболических биомаркеров (минимальной равновесной концентрации тикагрелора и клопидогрела, уровня активности CYP3A4/5 по метаболическому отношению 6-бета-гидрокортизол/кортизол) с уровнем активности тромбоцитов - значимой взаимосвязи не обнаружено. У пациентов с концентрацией клопидогрела ниже порога определения 0,05 нг/мл гораздо реже встречались генотипы GA+AA P2Y12 (rs2046934), по сравнению с нормальным генотипом (29,3% vs 4%, $p=0,009$). В исследовании активности системы изоферментов CYP3A4/3A5 у больных с ОКС на клопидогреле была установлена значимая слабая обратная корреляция с уровнем микроРНК-142 ($r= - 0,361$, $p=0,04$), что соответствует данными литературы. В результате проведенного логистического регрессионного анализа были установлены значимые факторы прогнозирования повышенной реактивности тромбоцитов для группы ОКС тикагрелор – прием БКК (ОШ=0,184 (95%ДИ 0,044-0,779) $p=0,021$), уровень гемоглобина (ОШ=0,930 (95%ДИ 0,883-0,980) $p=0,06$); группы ишемического инсульта – СКФ (ОШ=1,56 (95%ДИ 1,03-2,3) $p=0,035$) на 7 день, возраст (ОШ=0,929 (95%ДИ 0,879-0,982) $p=0,009$), СКФ (ОШ=6,6 (95% ДИ 1,06-41,2) $p=0,042$) и прием БАБ (ОШ=0,384 (95%ДИ 0,160-0,924) $p=0,035$) на 13 день. В результате проведенного линейного регрессионного анализа были установлены значимые факторы прогнозирования повышенной реактивности

тромбоцитов для: группа ОКС клопидогрел - PEAR1 (rs41273215) (Бета = -0,417, p=0,034); группа ОКС тикагрелор – уровень гемоглобина (Бета = - 0,358, p=0,0001), прием БКК (Бета = 0.284, p=0,003) носительство CYP3A4 (rs2242480) (Бета = 0,193, p=0,034); группа ОКС + ФП – нет, группа ишемического инсульта – носительство P2Y12 (rs2046934) (Бета = 0,242, p=0,008) на 7 и 13 день, возраст (Бета = 0,197, p=0,031) на 13 день. Для группы ОКС в сочетании с фибрилляцией предсердий регрессионный анализ не показал значимых предикторов. По результатам биоинформатического анализа в группе ОКС в сочетании с ФП с элементами машинного обучения с высокой достоверностью удалось предсказать общую смертность, а также попадание в определенный диапазон уровня агрегации тромбоцитов. По результатам проведенных исследований по оценке роли фармакогенетических, фармакоэпигенетических, фармакометаболических биомаркеров предложена следующая схема персонализации применения ингибиторов P2Y12 - рецепторов. Схема предполагает оценку негенетических факторов риска резистентности к клопидогрелу с выявлением показаний к фармакогенетическому тестированию и оценке уровня микроРНК, выбором ингибитора P2Y12 - рецепторов с учетом фармакогенетических особенностей, а так же условиями требующими контроль функциональной активности тромбоцитов.

Таким образом, в исследовании сформулирована концепция персонализированного подхода к проведению антиагрегантной терапии ингибиторами P2Y12-рецепторов у пациентов с сердечно-сосудистой патологией и предложена персонализированная схема выбора ингибитора P2Y12-рецепторов, в основе которой лежит использование оптимального комплекса молекулярных (фармакогенетических, фармакоэпигенетических, фармакометаболических) биомаркеров). В данной работе впервые проведен комплексный анализ влияния фармакогенетических, фармакоэпигенетических, фармакометаболических биомаркеров на эффективность и безопасность терапии ингибиторами P2Y12-рецепторов. На основе статистического анализа полученных данных выделены наиболее перспективные молекулярные биомаркеры для использования в схемах персонализированного подхода к антиагрегантной терапии и предложены схемы персонализации терапии ингибиторами P2Y12-рецепторов, что может повысить эффективность антиагрегантной терапии и улучшить клинические исходы лечения.

ВЫВОДЫ

1. Резистентность к клопидогрелу встречается среди 23,6%, 11,7% и 30,3% пациентов с ОКС, ОКС в сочетании с ФП и ишемическим инсультом, соответственно. Резистентность к тикагрелору по предложенным границам встречается среди 7,8% пациентов с ОКС.

2. Фармакогенетическое тестирование по маркеру rs4244285 гена CYP2C19 прогнозирует резистентность к клопидогрелу у пациентов с ОКС (ОШ=3,795 ДИ 1,3-11,078; p=0,024).
3. Фармакогенетическое тестирование по маркеру rs2108622 гена CYP4F2 и rs41273215 гена PEAR1 прогнозирует геморрагические осложнения на фоне клопидогрела у пациентов с ОКС в сочетании с фибрилляцией предсердий (ОШ=7,279 ДИ:1,483-35,722; p=0,008). (ОШ=3,802 ДИ 1,032-14,722; p=0,0035).
4. Фармакогенетическое тестирование по маркеру rs2046934 гена P2Y12 прогнозирует резистентность к клопидогрелу на 13 день у пациентов с ишемическим инсультом (ОШ=0,367 ДИ: 0,145-0,930; p=0,0042).
5. Фармакогенетическое тестирование по ABCB1 (rs1045642), SLCO1B1 (rs4149056), CYP3A5 (*3 (rs776746)), CYP3A4 (*22 (rs35599367), rs2242480), CYP2C19 (*2 (rs4244285), *3 (rs4986893), *17 (rs12248560)), CES1 (rs2244613), UGT2B7 (rs61361928), PON1 (rs662), PEAR1 (rs822442, rs41273215), IGTB3 (rs5918T), P2Y12 (rs2046934), CYP4F2 (rs2108622) не позволяет достоверно прогнозировать резистентность к тикагрелору у пациентов с ОКС.
6. Методом секвенирования нового поколения выявлены однонуклеотидные замены в генах: CES1 (rs3826193 – частота 91,6%, rs3826192 - частота 83,3%, rs62028647 - частота 91,6%, rs3826191 - частота 91,67%, rs74019278 - частота 91,6%, rs76828834 - частота 91,6%), P2Y12 (rs6785930 - 66,6%) и ABCG2 (rs2231148 - частота 75,0), которые были ассоциированы с развитием геморрагических осложнений на фоне комбинированной антитромботической терапии (клопидогрел+ривароксабан) у пациентов с ОКС в сочетании с фибрилляцией предсердий.
7. Полученные частоты распространенности клинически значимых аллелей по маркерам ABCB1 (rs1045642), CYP3A5 (rs776746), CYP2C19 (rs4244285, rs4986893, rs12248560), CYP2C9 (rs1799853, rs1057910), CES1 (rs2244613), CYP4F2 (rs2108622), SLCO1B1 (rs4149056) позволят спрогнозировать большую подверженность к риску резистентности к ингибиторам P2Y12-рецепторов (клопидогрелу и тикагрелору) и нежелательным лекарственным реакциям в определенных популяциях, а так же определить приоритетность внедрения персонализированных алгоритмов антиагрегантной терапии сердечно-сосудистыми заболеваниями с учетом популяционно-этнических особенностей.
8. Оценка плазменного уровня микроРНК-126, микроРНК-150, микроРНК-223, микроРНК-142, микроРНК-34а, микроРНК-29а-3р, регулирующих экспрессию фармакокинетических и

- фармакокинетических генов-кандидатов ингибиторам P2Y₁₂-рецепторов не позволяет достоверно прогнозировать фармакологический ответ на клопидогрел у пациентов с ОКС.
9. Оценка плазменного уровня микроРНК-223 ($r^2=0,292$, $p=0,001$), микроРНК-126 ($r^2=0,292$, $p=0,001$) и микроРНК-150 ($r^2=0,121$, $p=0,038$) прогнозирует остаточную реактивность тромбоцитов на фоне тикагрелора у пациентов с ОКС.
 10. Минимальная равновесная концентрация тикагрелора, метаболит тикагрелора, клопидогрела, метаболическое отношение 6-бета-гидрокортизол/кортизол при приеме тикагрелора достоверно не предсказывают уровень остаточной реактивности тромбоцитов на фоне терапии и не позволяет прогнозировать развитие резистентности к терапии тикагрелором и клопидогрелом.
 11. Алгоритмы биоинформатического анализа позволяют предсказать смертность от всех причин и уровень остаточной реактивности тромбоцитов у пациентов острым коронарным синдромом в сочетании с фибрилляцией предсердий, получающих клопидогрел, а также уровень остаточной реактивности тромбоцитов, получающих тикагрелор. Предложенная схема терапии позволяет выявлять пациентов-кандидатов на фармакогенетическое тестирование и персонализированный выбор ингибитора P2Y₁₂-рецепторов, в основе которого лежит использование оптимального комплекса клинико-демографических и молекулярных (фармакогенетических и фармакоэпигенетических) маркеров.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для определения целесообразности проведения фармакогенетического тестирования рекомендуется оценка факторов риска, ассоциированных с резистентностью к клопидогрелу у пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями.
2. Для персонализации применения ингибиторов P2Y₁₂-рецепторов у пациентов с ОКС, ОКС и фибрилляцией предсердий, ишемическим инсультом рекомендуется фармакогенетическое тестирование по: CYP2C19 (rs4244285), PEAR1 (rs822442, rs41273215), CYP4F2 (rs2108622), P2Y₁₂ (rs2046934).
3. Для прогнозирования антиагрегантного действия тикагрелора у пациентов с ОКС не рекомендуется фармакогенетическое тестирование и рекомендуется оценка уровней циркулирующих в плазме микроРНК-126, микроРНК-150, микроРНК-223.
4. Для прогнозирования антиагрегантного действия ингибиторов P2Y₁₂-рецепторов рекомендуется уравнение, выведенное на основе биоинформатического анализа влияния

исследуемых молекулярных биомаркеров прогнозирования ответа на тикагрелор у пациентов с ОКС, что позволит предсказывать возможную неэффективность терапии или геморрагические осложнения.

5. С учетом неоднородности распределения частоты клинически значимых фармакогенетических маркеров прогнозирования ответа на ингибиторы P2Y₁₂-рецепторов, рекомендуется разработка индивидуализированных алгоритмов антиагрегантной терапии в различных регионах компактного проживания этнических групп Российской Федерации.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Mirzaev K.B.** Genetic Polymorphisms of Cytochrome P450 Enzymes and Transport Proteins in a Russian Population and Three Ethnic Groups of Dagestan / **Mirzaev K.B.**, Sychev D.A., Ryzhikova K.A., Konova O.D., Mammaev S.N., Gafurov D.M., Shuev G.N., Grishina E.A., Sozaeva Z.A. // **Genetic testing and molecular biomarkers.** – 2017. – V. 21. – №. 12. – P. 747-753. 8/0,88 с. ИФ – 0,41, Q3. [Scopus]
2. **Mirzaev K.B.** CYP2C19 polymorphism frequency in Russian patients in Central Russia and Siberia with acute coronary syndrome / **Mirzaev K.B.**, Zelenskaya E.M., Barbarash O.L., Ganyukov V.I., Apartsin K.A., Saraeva N.O., Nikolaev K.Y., Ryzhikova K.A., Lifshits G.I., Sychev D.A. // **Pharmacogenomics and personalized medicine.** – 2017. – V. 10. – P. 107. 9/0,97 с. ИФ – 0,85, Q2. [Scopus]
3. **Mirzaev K.B.** Do CYP2C19 and ABCB1 gene polymorphisms and low CYP3A4 isoenzyme activity have an impact on stent implantation complications in acute coronary syndrome patients? / Rytkin E., **Mirzaev K.B.**, Grishina E.A., Smirnov V.V., Ryzhikova K.A., Sozaeva Z.A., Giliarov M.I., Andreev D.A., Sychev D.A. // **Pharmacogenomics and personalized medicine.** – 2017. – V. 10. – P. 243. 8/0,73 с. ИФ – 0,85, Q2. [Scopus]
4. **Mirzaev K.B.** Comparison of CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, ABCB1, and SLCO1B1 gene-polymorphism frequency in Russian and Nanai populations / Sychev D.A., Shuev G.N., Suleymanov S.S., Ryzhikova K.A., **Mirzaev K.B.**, Grishina E.A., Snalina N.E., Sozaeva Z.A., Grabuzdov A.M., Matsneva I.A. // **Pharmacogenomics and personalized medicine.** – 2017. – V. 10. – P. 93. 11/0,57 с. ИФ – 0,85, Q2. [Scopus]
5. **Mirzaev K.B.** Pharmacogenetic testing by polymorphic markers 681G>A and 636G>A CYP2C19 gene in patients with acute coronary syndrome and gastric ulcer in the Republic of Sakha (Yakutia) /

- Fedorinov D.S., **Mirzaev K.B.**, Ivashchenko D.V., Temirbulatov I.I., Sychev D.A., Maksimova N.R., Chertovskih J.V, Popova N.V., Tayurskaya K.S., Rudykh Z.A. // **Drug metabolism and personalized therapy**. – 2018. – V. 33. – №. 2. – P. 91-98. 7/0,87 с. ИФ=0,35, Q2 [Scopus]
6. **Mirzaev K.B.** The ABCB1, CYP2C19, CYP3A5 and CYP4F2 genetic polymorphisms and platelet reactivity in the early phases of acute coronary syndromes / **Mirzaev K.B.**, Rytkin E., Ryzhikova K.A., Grishina E.A., Sozaeva Z.A., Fedorinov D.S., Konova O.D., Giliarov M.I., Belyakova G.A., Andreev D.A., Sychev D.A. // **Drug metabolism and personalized therapy**. – 2018. – V. 33. – №. 3. – P. 109-118. 9/0,75с. ИФ=0,35, Q2 [Scopus]
 7. **Mirzaev K.B.** Pharmacogenetic testing by polymorphic markers G1846A (CYP2D6*4) and C100T (CYP2D6*10) of the CYP2D6 gene in coronary heart disease patients taking $\beta\beta$ -blockers in the Republic of Sakha (YAKUTIA) / Fedorinov D.S., **Mirzaev K.B.**, Mustafina V.R., Sychev D.A., Maximova N.R., Chertovskikh J.V., Popova N.V., Tarabukina S.M., Rudykh Z.A. // **Drug metabolism and personalized therapy**. – 2018. – V. 33. – №. 4. – P. 195-200. 9/0,5 с. ИФ=0,35, Q2 [Scopus]
 8. **Мирзаев К.Б.** Распространенность полиморфного маркера rs2244613 гена карбоксилэстеразы 1 типа (CES1), ассоциированного с низким риском кровотечений при применении дабигатрана, у русских и в трех этнических группах республики Дагестан / Абдуллаев Ш.П., **Мирзаев К.Б.**, Маммаев С.Н., Гафуров Д.М., Китаева Е.Ю., Шпрах В.В., Рыжикова К.А., Шуев Г.Н., Гришина Е.А., Созаева Ж.А., Сычев Д.А. // **Клиническая фармакология и терапия**. – 2018. – Т. 27. – №. 4. – С. 87-90. 3/0,27 с. ИФ = 0,667 [Перечень ВАК]
 9. **Мирзаев К.Б.** Фармакогенетические и клинические предикторы низкой эффективности клопидогрела у пациента с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей: описание клинического случая / Андреева М.А., **Мирзаев К.Б.**, Сычев Д.А., Рыжикова К.А., Покровский А.В., Харазов А.Ф. // **Рациональная фармакотерапия в кардиологии**. – 2018. – Т. 14. – №. 5. – С. 699-702. 3/0,6 с. ИФ – 0,16, Q4. [Scopus]
 10. **Мирзаев К.Б.** Частота полиморфизмов генов CYP2C19 и ABCB1, ассоциированных с изменением антиагрегантного действия клопидогрела, у русских и бурят / 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. // **Сибирское медицинское обозрение**. – 2018. – №. 3. – С. 43-50. 7/0,87 с. ИФ – 0,49. [Перечень ВАК]
 11. **Мирзаев К.Б.** Влияние аллельного варианта CYP4F2*3 на антиагрегантное действие клопидогрела у пациентов с острым коронарным синдромом / **Мирзаев К.Б.**, Конова О.Д., Гришина Е.А., Рыжикова К.А., Созаева Ж.А., Андреев Д.А., Гиляров М.Ю., Сычев Д.А. //

- Рациональная фармакотерапия в кардиологии.** – 2018. – Т. 14. – №. 1. – С. 47-52. 5/0,71 с. ИФ – 0,16, Q4. [Scopus]
12. **Mirzaev K.B.** Effects of the rs2244613 polymorphism of the CES1 gene on the antiplatelet effect of the receptor P2Y₁₂ blocker clopidogrel / **Mirzaev K.B.**, Osipova D.V., Kitaeva E.J., Shprakh V.V., Abdullaev S.P., Andreev D.A., Mumladze R.B., Sychev D.A. // **Drug metabolism and personalized therapy.** – 2019. – V. 34. – №. 3. – P. 20180039. 6/0,54 с. ИФ=0,35, Q2 [Scopus]
 13. **Mirzaev K.B.** ADME pharmacogenetics: future outlook for Russia / **Mirzaev K.B.**, Fedorinov D.S., Ivashchenko D.V., Sychev D.A. // **Pharmacogenomics.** – 2019. – V. 20. – №. 11. – P. 847-865. 8/2 с. ИФ – 0,54, Q3. [Scopus] [Обзорная статья]
 14. **Mirzaev K.B.** Genotyping and phenotyping CYP3A4/CYP3A5: no association with antiplatelet effect of clopidogrel / **Mirzaev K.B.**, Samsonova K.I., Potapov P.P., Andreev D.A., Grishina E.A., Ryzhikova K.A., Sychev D.A. // **Molecular biology reports.** – 2019. – V. 46. – №. 4. – P. 4195-4199. 4/0,57 с. ИФ – 0,53, Q3. [Scopus]
 15. **Mirzaev K.B.** Genetic determinants of dabigatran safety (CES1 gene rs2244613 polymorphism) in the Russian population: multi-ethnic analysis / Sychev D.A., Abdullaev S.P., **Mirzaev K.B.**, Ryzhikova K.A., Shuyev G.N., Sozaeva Z.A., Grishina E.A., Mammaev S.N., Gafurov D.M., Kitaeva E.Y., Shprakh V.V., Suleymanov S.S., Bolieva L.Z., Sozaeva M.S., Zhuchkova S.M., Gimaldinova N.E., Sidukova E.E., Asoskova A.V., Mumladze R.B. // **Molecular biology reports.** – 2019. – V. 46. – №. 3. – P. 2761-2769. 8/0,44 с. ИФ – 0,53, Q3. [Scopus]
 16. **Мирзаев К.Б.** Мультиэтнический анализ кардиологических фармакогенетических маркеров генов цитохрома Р-450 и мембранных транспортеров в российской популяции / **Мирзаев К.Б.**, Федоринов Д.С., Иващенко Д.В., Сычев Д.А. // **Рациональная фармакотерапия в кардиологии.** – 2019. – Т. 15. – №. 3. - С. 393-406. 13/3,25 с. ИФ – 0,16, Q4. [Scopus] [Обзорная статья]
 17. **Мирзаев К.Б.** Микро-РНК, как новый биомаркер активности системы цитохрома Р-450: значение для прогнозирования антиагрегантного действия ингибиторов P2Y₁₂- рецепторов. / Рыткин Э.И., **Мирзаев К.Б.**, Буре И.В., Сычев Д.А. // **Терапевтический архив.** – 2019. – Т. 91. – №. 8. - С. 115-117. 2/0,66 с. ИФ – 0,18, Q4. [Scopus] [Обзорная статья]
 18. **Мирзаев К.Б.** Полиморфизм генов CYP2C19 и ABCB1, ассоциированный с изменением активности клопидогрела, у больных ишемическим инсультом: клинические и этнические аспекты / Сычев Д.А., Шпрах В.В., Китаева Е.Ю., **Мирзаев К.Б.** // **Клиническая фармакология и терапия.** – 2019. – Т. 28. – №. 3. – С. 79-84. 5/1,25 с. ИФ – 1,1. [Перечень ВАК]

19. **Mirzaev K.B.** CYP2C19*17 May Increase the Risk of Death Among Patients with an Acute Coronary Syndrome and Non-Valvular Atrial Fibrillation Who Receive Clopidogrel and Rivaroxaban / Sychev D.A., Baturina O.A., **Mirzaev K.B.**, Rytkin E., Ivashchenko D.V., Andreev D.A., Ryzhikova K.A., Grishina E.A., Bochkov P.O., Shevchenko R.V. // **Pharmacogenomics and personalized medicine.** – 2020. – V. 13. – P. 29. 9/0,1,5с. ИФ – 0,85, Q2. [**Scopus**]
20. **Мирзаев К.Б.** Новые фармакогенетические маркеры риска кровотечений на фоне применения прямых оральных антикоагулянтов / **Мирзаев К.Б.**, Иващенко Д.В., Володин И.В., Гришина Е.А., Акмалова К.А., Качанова А.А., Скрипка А.И., Миннигулов Р.М., Морозова Т.Е., Батурина О.А., Леванов А.Н., Шелехова Т.В., Калинин А.И., Напалков Д.А., Соколова А.А., Андреев Д.А., Сычев И.Н., Бочков П.А., Сычев Д.А. // **Рациональная фармакотерапия в кардиологии.** – 2020. – Т. 16. – №. 5. - С. 670-677. 7/0,35 с. ИФ – 0,16, Q4. [**Scopus**]
21. **Mirzaev K.B.** Clinically relevant pharmacogenetic markers in Tatars and Balkars / Abdullaev S.P., **Mirzaev K.B.**, Burashnikova I.S., Shikaleva A.A., Kachanova A.A., Abdullaev S.P., Akmalova K.A., Sozaeva Z.A., Grishina E.A., Sozaeva M.S., Rytkin E.I., Sychev D.A. // **Molecular biology reports.** – 2020. – Т. 47. – №. 5. – С. 3377-3387. 6/0,5с. ИФ – 0,53, Q3. [**Scopus**]
22. Rytkin E. Selection of miRNAs for clopidogrel resistance prediction / Rytkin E., **Mirzaev K.B.**, Bure I.V., Sychev D.A. // **Meta Gene.** – 2020. – V. 25. – P. 100745. 5/1,4 с. ИФ – 0,2, Q4. [**Scopus**]
23. **Mirzaev K.B.** Interethnic differences in the prevalence of main cardiovascular pharmacogenetic biomarkers / **Mirzaev K.B.**, Abdullaev S., Akmalova K., Sozaeva J., Grishina E., Shuev G., Bolieva L., Sozaeva M., Zhuchkova S., Gimaldinova N., Sidukova E., Serebrova S., Asoskova A., Shein A., Poptsova M., Suleymanov S., Burashnikova I., Shikaleva A., Kachanova A., Fedorinov D., Sychev D. // **Pharmacogenomics.** – 2020. – V. 21. – №. 10. – P. 677-694. 7/0,33 с. ИФ – 0,54, Q3. [**Scopus**]

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АДФ - Аденозиндифосфат

АСК – Ацетилсалициловая кислота

ВОЗ - Всемирная организация здравоохранения

ДИ - Доверительный интервал

ГХ-ХМС - Газовая хроматография с масс-спектрометрией

ЖХ-ХМС - Жидкостная хроматография с масс-спектрометрией

ИБС – Ишемическая болезнь сердца

ИПП - Ингибиторы протонной помпы

ЛКА – левая коронарная артерия

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

ЛС – лекарственное средство

МИС - медицинские информационные системы

ОКС - Острый коронарный синдром

ОТП – Обедненная тромбоцитами плазма

ОШ - Отношение шансов

ПНА/ПМЖВ – передняя нисходящая артерия/передняя межжелудочковая ветвь

иАПФ- ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента

ССЗ - Сердечно-сосудистые заболевания

ТИА - Транзиторная ишемическая атака

ФП – Фибрилляция предсердий

ADME - Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion

ANN - Artificial Neural Networks

BARC - Bleeding Academic Research Consortium

CRUSADE - Can Rapid risk stratification of Unstable angina patients Suppress ADverse outcomes with Early implementation of the ACC/AHA guidelines

EGAPP - Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention

EMA - European Medicines Agency

ESC - European Society of Cardiology

ESRS - The Essen Stroke Risk Score

IGV - Integrative Genomic Viewer

LTA - light transmission aggregometry

MLS - Machine Learning Systems

NIHSS - National Institutes of Health Stroke Scale

PFA - Platelet Function Assay

PLATO - PLATelet inhibition and patients Outcome

PMDA - Pharmaceuticals and Medical Devices Agency Japan

ROTEM - Rotation Thromboelastometry

SD - standard deviation

SYNTAX - Synergy between Percutaneous Coronary Intervention with TAXUS

TEG - Thrombelastography

VASP-P Vasodilator-stimulated Phosphoprotein-phosphorylation