

На правах рукописи

Денисенко Наталья Павловна

**ОПТИМИЗАЦИЯ ФАРМАКОТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ С ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ
НА ОСНОВЕ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ**

14.01.04 Внутренние болезни

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва – 2018

Работа выполнена в ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор

Сизова Жанна Михайловна

член-корреспондент РАН,

доктор медицинских наук, профессор

Сычев Дмитрий Алексеевич

Официальные оппоненты:

Джулай Галина Семеновна - доктор медицинских наук, профессор, ФГБОУ ВО «Тверской государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедра факультетской терапии, заведующий кафедрой

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

Ведущая организация:

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского» Минздрава России.

Защита состоится «__» _____ 2018 года в __ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.040.13 на базе ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет) по адресу: 119991, 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, Москва, Зубовский бульвар, 37/1 и на сайте организации: <https://sechenov.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2017 г.

Ученый секретарь Диссертационного Совета

доктор медицинских наук, профессор

Дроздов Владимир Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации

Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки обнаруживается у 1,3 миллионов жителей Российской Федерации и представляет собой заболевание, для которого характерны обострения, снижающие качество жизни пациентов, а возможные осложнения требуют госпитализации, нередко хирургического или эндоскопического вмешательства и являются угрожающими для жизни [Александрова Г.А. и др., 2016]. Ингибиторы протонной помпы (ИПП) признаны основными препаратами для лечения больных язвенной болезнью, в том числе ассоциированной с *Helicobacter pylori* [Ивашкин В.Т. и др., 2016]. Эффективность лечения зависит от ряда факторов, из которых немаловажное значение имеют индивидуальные особенности пациентов, которые заключаются в генетически обусловленной активности ферментов биотрансформации и белков-переносчиков, участвующих в процессе транспорта ингибиторов протонной помпы [Сычев Д.А., 2011; Кукес В.Г. и др., 2015]. Полиморфизмы генов системы цитохрома P-450 и гликопротеина Р обуславливают высокую вариабельность фармакокинетики и фармакодинамики ИПП у пациентов-носителей данных полиморфизмов. При применении ИПП в стандартной дозе у носителей отдельных генетических полиморфизмов возможен неудовлетворительный ответ на терапию, что было показано в многочисленных исследованиях [Shirai N., 2001; Furuta T. et al., 2001; Кучерявый Ю.А., 2009]. Тем не менее, в литературе существуют противоречивые результаты исследований и мета-анализов, которые говорят об отсутствии связи между фармакогенетическими особенностями пациентов и ответом на терапию ингибиторами протонной помпы, что обуславливает необходимость дальнейшего изучения данной проблемы. Открытым остается вопрос о роли фармакогенетических маркеров (CYP2C19, ABCB1) в прогнозировании особенностей клинического течения язвенной болезни, а также использовании других фармакогенетических маркеров для прогнозирования эффективности терапии ИПП. Сформулированные выше проблемы определили актуальность темы настоящего исследования.

Степень разработанности проблемы

Имеющиеся в литературе данные о связи фармакогенетических особенностей пациентов с ответом на ИПП представляют в основном отдельные ретроспективные исследования, результаты которых противоречивы. Многие исследователи показали значимость полиморфизмов CYP2C19 и ABCB1 в фармакокинетику и фармакодинамике ИПП, а также в эффективности эрадикационной терапии [Furuta T. et al., Clin Pharmacol Ther, 2007; Padol S. et al., 2006]. Тем не менее, в ряде других работ, в том числе мета-

анализах, таких связей не было установлено [McNicholl A.G. et al., 2012]. Несмотря на то, что в рекомендациях Маастрихт V приводится утверждение о том, что ответ на ИПП в значительной мере обусловлен полиморфизмами CYP2C19 и ABCB1, в данных рекомендациях, наряду с другими российскими и зарубежными рекомендациями, не содержится указаний о необходимости внедрения фармакогенетического тестирования в клиническую практику [Malfertheiner P. et al., 2017]. Требуются крупные проспективные исследования с участием пациентов различных расовых и этнических групп, которые помогут решить вопрос о влиянии фармакогенетических особенностей пациентов с язвенной болезнью на эффективность терапии ИПП и тактике по коррекции терапии (в отношении дозы или смены препарата внутри группы) в зависимости от обнаруженных полиморфизмов, а также других особенностей пациентов.

Цель исследования

Оценка значения фармакогенетического тестирования по CYP2C19 и ABCB1 для прогнозирования эффективности терапии ИПП у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки.

Задачи исследования:

1. оценить состояние процесса биотрансформации омепразола по отношению концентрации метаболита 5-гидроксиомепразола к концентрации омепразола в моче у носителей различных генотипов по аллельным вариантам CYP2C19*2, CYP2C19*3, CYP2C19*17 среди больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки;
2. сопоставить клинические особенности течения язвенной болезни с генотипами пациентов по аллельным вариантам CYP2C19*2, CYP2C19*3, CYP2C19*17 на фоне терапии омепразолом;
3. сопоставить клинические особенности течения язвенной болезни с генотипами пациентов по аллельному варианту C3435T ABCB1 на фоне терапии омепразолом;
4. сравнить качество жизни пациентов с язвенной болезнью до и после лечения омепразолом, а также сопоставить качество жизни пациентов с их генотипами по аллельным вариантам CYP2C19*2, CYP2C19*3, CYP2C19*17 и C3435T ABCB1;
5. провести мета-анализ исследований, проводившихся на популяции славян и изучавших влияние генотипа по CYP2C19 на эффективность эрадикации *Helicobacter pylori* (H. pylori) при использовании стандартной тройной терапии на основе ИПП у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки;
6. изучить частоты аллельных вариантов и генотипов по полиморфизмам CYP2C19*2, CYP2C19*3, CYP2C19*17 у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, проживающих в Московском регионе.

Научная новизна

В диссертационном исследовании впервые:

1. Изучена связь генотипа по CYP2C19 с фенотипом по методике, основанной на определении омепразола и его метаболита 5-гидроксиомепразола в моче, у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки.
2. Исследована связь клинических особенностей течения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки (локализация язвы, наличие обострений и осложнений язвенной болезни в анамнезе) с генотипами пациентов по CYP2C19.
3. Оценена связь клинических особенностей течения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки (локализация язвы, наличие обострений и осложнений язвенной болезни в анамнезе) с генотипами пациентов по ABCB1.
4. Изучена связь качества жизни пациентов до и после лечения омепразолом с генотипами по CYP2C19 и ABCB1 пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки.
5. Проведен мета-анализ исследований, изучавших влияние полиморфизмов CYP2C19 на эффективность тройной эрадикационной терапии на основе ИПП у пациентов-славян с язвенной болезнью.
6. Получены данные о частоте аллельного варианта CYP2C19*17 среди пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки Московского региона России на крупной выборке.

Теоретическая и практическая значимость работы

Данные о распространенности генотипов по CYP2C19 в Московском регионе, результаты мета-анализа исследований по влиянию полиморфизмов CYP2C19 на эффективность эрадикационной терапии у пациентов-славян с язвенной болезнью, а также исследование взаимосвязи клинических и фармакогенетических особенностей пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки могут быть использованы в виде практических рекомендаций для практикующих врачей терапевтов, гастроэнтерологов и клинических фармакологов для оптимизации терапии ИПП.

Основные положения, выносимые на защиту по результатам исследования

1. Установлена связь между генотипом по CYP2C19 и метаболическим отношением 5-гидроксиомепразол/омепразол в моче у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, принимающих омепразол. Методику определения метаболического отношения по омепразолу в моче при дальнейшем усовершенствовании можно рассматривать как перспективный метод фенотипирования CYP2C19.

2. Показано отсутствие связи между клиническими данными пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки (локализацией язвы, наличием осложнений язвенной болезни, обострений язвенной болезни в анамнезе) и генотипами по CYP2C19 и ABCB1.

3. Получены достоверные различия в баллах по диарейному, диспептическому и рефлюксному синдромам по опроснику GSRS, оценивающему качество жизни у гастроэнтерологических пациентов, у пациентов с язвенной болезнью до и через 1,5 месяца после начала лечения без учета носительства генетических полиморфизмов по CYP2C19 и ABCB1. Выявлено отсутствие связи между общим баллом по опроснику GSRS до лечения и через 1,5 месяца после начала лечения и генотипами по CYP2C19 и ABCB1 пациентов с язвенной болезнью.

4. В результате проведенного мета-анализа выявлено, что нормальные метаболиты по CYP2C19 имеют вдвое меньше шансов на успешную эрадикацию *H. pylori* по сравнению с объединенной группой промежуточных и медленных метаболитов по CYP2C19. Достоверно более высокие шансы (в 5,5 раз) на эффективную эрадикационную терапию получены у медленных метаболитов по сравнению с объединенной группой нормальных и промежуточных метаболитов по CYP2C19.

5. Установлена высокая распространенность быстрых метаболитов по CYP2C19 в российской популяции пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, что свидетельствует об актуальности внедрения фармакогенетического тестирования по CYP2C19 для персонализации терапии ингибиторами протонной помпы.

Степень достоверности и апробация результатов

Результаты диссертационной работы получены на достаточных по размеру выборках, с применением сертифицированного оборудования для проведения генотипирования и фенотипирования, а также адекватных методов статистической обработки данных. Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом Первого МГМУ им. Сеченова (протокол №02-15 от 18.02.2015). Положения, выносимые на защиту, выводы и рекомендации основаны на результатах исследования, достоверность которых подтверждена актом проверки первичного материала (от 26.07.2017).

Результаты диссертационного исследования были доложены в виде устного доклада на VI научно-практической конференции молодых ученых с международным участием «Современная медицина: традиции и инновации» (22-23 апреля 2015 года, Москва), XII научно-практической конференции «Биомедицина и биомоделирование» (18-

19 мая 2016 года, Московская область, пос. Светлые горы), VI Международном Интернет Конгрессе специалистов по внутренним болезням Internist (14-17 февраля 2017 года, Москва), XXIV Российском Национальном Конгрессе «Человек и лекарство» (10-13 апреля 2017 года, Москва), IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017» (18-20 апреля 2017 года, Москва), XIII Конгрессе Европейской ассоциации по клинической фармакологии и терапии (24-27 июня 2017 года, Прага, Чешская республика).

Результаты работы были обсуждены на совместном заседании кафедр медико-социальной экспертизы, неотложной и поликлинической терапии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), клинической фармакологии и терапии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России и научно-исследовательского центра ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол № 8 от 08.09.2017).

Личный вклад автора

Автором самостоятельно проведен библиографический поиск и анализ литературных источников по теме исследования, сбор и анализ клинического материала, статистическая обработка, анализ и обобщение результатов, подготовлены текст диссертационной работы, а также публикации по основным результатам работы.

Внедрение результатов работы

Результаты исследования используются в учебном процессе кафедры медико-социальной экспертизы, неотложной и поликлинической терапии ИПО Первого МГМУ им. Сеченова (Сеченовский Университет) и кафедры клинической фармакологии и терапии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» для обучения ординаторов, а также врачей терапевтов и клинических фармакологов, проходящих циклы повышения квалификации.

Соответствие паспорту специальности

Диссертационное исследование соответствует формуле специальности 14.01.04 «Внутренние болезни» и пунктам 2 и 5 областей исследования данной специальности, а также формуле специальности 14.03.06 «Фармакология, клиническая фармакология» и пунктам 12 и 18 областей исследования данной специальности.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией, и 2 статьи в зарубежных изданиях.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, трех глав, включая обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа изложена на 135 страницах печатного текста, содержит 47 таблиц, 12 рисунков. Список литературы включает 97 источников, из них 20 отечественных, 73 зарубежных и 4 ссылки на электронные ресурсы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Исследование состоит из трёх частей: клинической части, мета-анализа и популяционного исследования. Клиническая часть проводилась на базе Городской поликлиники №2 г. Москвы, Городской поликлиники №108 филиал 3 г. Москвы, терапевтического отделения Больницы Центросоюза РФ г. Москвы, поликлиники и инфекционного отделения ГКБ имени С.П. Боткина г. Москвы. Поиск исследований для включения в мета-анализ проводился в базах данных публикаций в сети Интернет, а также в Центральной научной медицинской библиотеке. Популяционная часть представлена заключениями по направлениям на фармакогенетическое тестирование пациентов с язвенной болезнью желудка или двенадцатиперстной кишки многопрофильного медицинского холдинга «СМ-Клиника», г. Москва. Генотипирование пациентов по CYP2C19 и ABCB1 проводилось на базе НИЦ ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (руководитель: к.б.н. Гришина Е.А., исполнители: Рыжикова К.А., Созаева Ж.А.). Фенотипирование пациентов путем определения концентраций омепразола и 5-гидроксидомепразола в моче проводилось на базе лаборатории клинической фармакологии ФГБУ «ГНЦ «Институт иммунологии» ФМБА (руководитель: к.фарм.н. Смирнов В.В.).

Характеристика пациентов, включенных в клиническую часть

В клиническую часть исследования было включено 68 пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, принимающих омепразол, из них 24 мужчины (35%), 44 женщины (65%). Средний возраст пациентов составил $53,3 \pm 15,0$ лет. Критериями включения пациентов в исследование были: наличие письменного информированного согласия пациента на участие в исследовании; установленный диагноз язвенной болезни желудка или двенадцатиперстной кишки на основании гастродуоденоскопии и анамнеза (состояние обострения или ремиссии; в случае ремиссии – наличие других показаний для приема ИПП); приём омепразола в дозе 20 мг 2 раза в сутки в момент включения в исследование и назначение для приема на срок не менее 7 дней. Критериями исключения из исследования были: повышенная чувствительность к

омепразолу или вспомогательным компонентам препарата, смена в процессе лечения омепразола на другой ИПП, прием пациентом нескольких ИПП одновременно, несоблюдение протокола исследования, тяжелые сопутствующие заболевания, сопровождающиеся органной недостаточностью, беременность и период лактации, детский возраст до 18 лет. В момент включения в исследование и спустя 1,5 месяца после начала лечения (при очном посещении либо по телефону) пациенты проходили анкетирование с использованием опросника GSRS (Gastrointestinal Symptom Rating Scale – шкала оценки желудочно-кишечных симптомов).

Характеристика исследований, включенных в мета-анализ

Целью мета-анализа было объединение результатов исследований, проведенных на популяции славян, чтобы ответить на следующий вопрос: «Влияет ли генотип по CYP2C19 на эффективность эрадикации *H. pylori* при использовании стандартной тройной терапии с ИПП у взрослых пациентов-славян с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки?» Критериями включения в мета-анализ были: оригинальное исследование, возраст обследуемых старше 18 лет, подтвержденный диагноз язвенной болезни желудка или двенадцатиперстной кишки у включенных в исследование пациентов, подтверждение ассоциации язвенной болезни с *H. pylori*, наличие результатов генотипирования по CYP2C19 с определением CYP2C19*2, CYP2C19*3 аллельных вариантов, применение схемы стандартной тройной терапии, наличие результатов эрадикации в группах с различными полиморфизмами по CYP2C19, проведение исследования на популяции славян (Россия, Украина, Белоруссия, Польша, Болгария, Сербия, Чехия, Словакия, Словения, Хорватия, Черногория). Критериями исключения служили: обзорные статьи, представление результатов исследований в относительных величинах (в процентах) вместо абсолютных численных первичных данных, дублирующие публикации.

В результате поиска релевантных исследований для включения в мета-анализ было отобрано 4 работы, насчитывающие 622 пациента с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, из которых три являются российскими исследованиями и одно – исследованием из Польши [Елохина Е.В. и др., 2015; Оганесян Т.С., 2008; Корнюков Г.В., 2008; Gawrońska-Szklarz B. et al., 2010].

Характеристика пациентов, включенных в популяционную часть

В популяционную часть работы было включено 971 заключение фармакогенетического тестирования по CYP2C19, выполненное в течение двух лет (октябрь 2011 года – октябрь 2013 года), у российских больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, обратившихся за медицинской помощью в Москве.

Среди пациентов было 428 (44%) мужчин и 543 (56%) женщины в возрасте от 15 до 88 лет ($44,6 \pm 11,9$ лет).

Определение полиморфизмов генов CYP2C19 и ABCB1

У каждого пациента, включенного в исследование, проводился забор 6 мл цельной венозной крови. Для определения полиморфизмов CYP2C19*2 (G681A, rs4244285), CYP2C19*3 (G636A, rs4986893), CYP2C19*17 (C-806T, rs12248560) и ABCB1 (C3435T, rs1045642) методом полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени применялся набор реагентов «ФармакоГенетика Клопидогрел» на детектирующем амплификаторе DTlite (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия).

Фенотипирование CYP2C19 в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией

Забор 10,5 мл мочи у 59 пациентов осуществлялся утром между 8 и 9 часами утра после трёх дней приема омепразола дважды в день непосредственно перед очередным приемом препарата натошак на четвертый либо более поздний день лечения. Для хроматографирования полученных проб применяли хроматограф Agilent 1290 Infinity. Метаболическая активность изофермента CYP2C19 оценивалась по отношению концентрации основного метаболита 5-гидроксиомепразола, который образуется под действием CYP2C19, к омепразолу в моче. Чем больше оказывалось метаболическое отношение 5-гидроксиомепразол/омепразол в моче, тем выше считалась активность изофермента CYP2C19.

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка данных по клинической и популяционной частям работы проводилась с помощью пакета SPSS Statistics 22 (IBM, США), для мета-анализа – в программе Review Manager версии 5.3.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты генотипирования пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки по CYP2C19 и ABCB1

Результаты генотипирования представлены в Таблицах 1–2.

Таблица 1

**Распределение полиморфизмов по CYP2C19
среди российских пациентов с язвенной болезнью**

Фенотип по CYP2C19	Генотип по CYP2C19	Количество пациентов	Частота, %
Нормальные метаболизаторы	*1/*1	30	44,1
Промежуточные метаболизаторы	*1/*2	12	17,6
	*2/*17	3	4,4
	*3/*17	1	1,5
Медленные метаболизаторы	*2/*2	2	3,0
Быстрые метаболизаторы	*1/*17	18	26,5
	*17/*17	2	2,9
Итого		68	100,0

Таблица 2

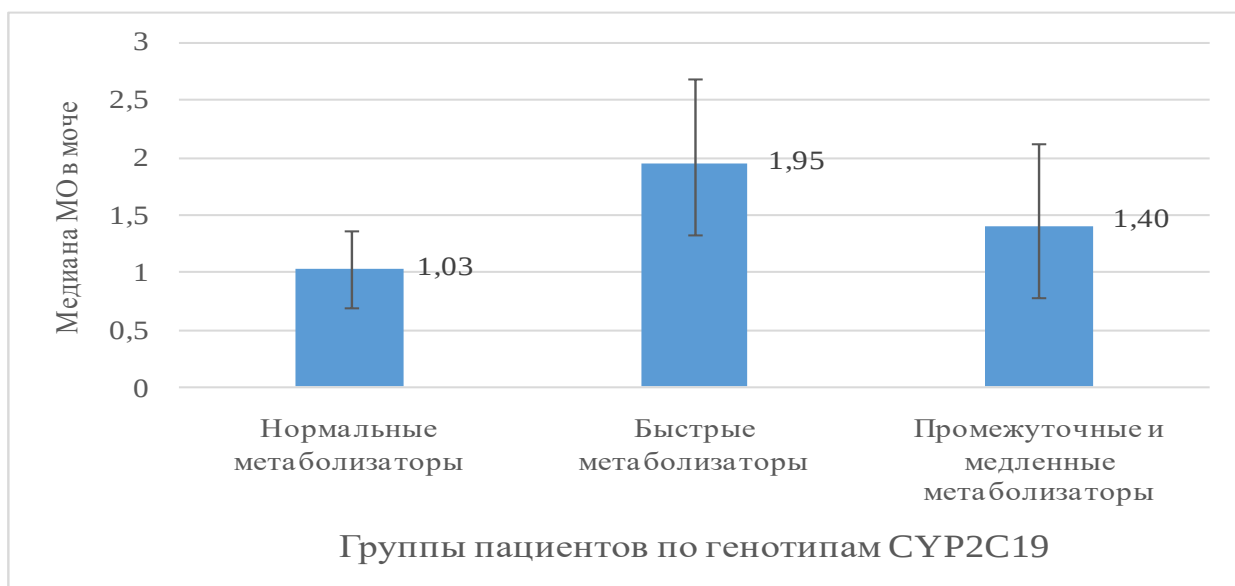
Распределение пациентов с язвенной болезнью по полиморфизму C3435T ABCB1

Полиморфизм	Генотип	Количество пациентов	Частота, %
C3435T ABCB1	CC	15	22,0
	CT	35	51,5
	TT	18	26,5

Обнаруженные частоты генотипов соответствовали ожидаемым по уравнению Харди-Вайнберга, $p > 0,05$ (CYP2C19*2: $p = 0,50$; CYP2C19*3: $p = 0,95$; CYP2C19*17: $p = 0,70$; C3435T ABCB1: $p = 0,80$), что свидетельствует о том, что распределение частоты генотипов в данной выборке пациентов отражает их распределение в популяции в целом. Частота встречаемости аллельных вариантов: CYP2C19*17 – 19,1%, CYP2C19*2 – 14,0%, CYP2C19*3 – 0,7%, T ABCB1 – 52%.

Оценка взаимосвязи между фенотипированием и генотипированием CYP2C19 у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки

Результаты фенотипирования CYP2C19 по 5-гидроксимепразол/омепразол в моче у 59 больных язвенной болезнью, генотипированных по CYP2C19, представлены на Рисунке 1.



**Рисунок 1. Медиана метаболического отношения
5-гидроксиомепразол/омепразол в моче у пациентов с
различными генотипами по CYP2C19**

Было обнаружено статистически достоверное различие по метаболическому отношению (5-гидроксиомепразол/омепразол) в моче (тест Манна-Уитни) между нормальными и быстрыми метаболизаторами ($p=0,001$), а также при множественном сравнении в тесте Крускала-Уоллиса ($p=0,005$) (Таблица 3).

Таблица 3

**Различия в метаболическом отношении
(5-гидроксиомепразол/омепразол) в моче у носителей различных фенотипов,
предсказанных по генотипу по CYP2C19**

Группы по фенотипу, предсказанному по генотипу CYP2C19	Различия по метаболическому отношению в моче
НМ vs БМ	$p=0,001$
ПМ+ММ vs НМ	$p=0,105$
БМ vs ПМ+ММ	$p=0,132$
НМ vs БМ vs ПМ+ММ	$p=0,005$

Оценка взаимосвязи между клиническими особенностями течения язвенной болезни у пациентов и их генотипом по CYP2C19

Проводился поиск ассоциации генотипов по CYP2C19 и клинических данных пациентов с помощью точного критерия Фишера (Таблица 4).

Таблица 4

Распределение пациентов по генотипам по CYP2C19 и клиническим показателям

Параметр		Генотип по CYP2C19			Итого	Тест Фишера
		НМ	БМ	ПМ+ММ		
Локализация язвы	желудок	9	4	8	21	p=0,29
	ДПК	17	13	8	38	
Наличие обострений ЯБ	не было	20	11	13	44	p=0,49
	были	7	5	2	14	
Осложнения ЯБ в анамнезе	не было	19	17	13	49	p=0,26
	было	11	3	5	19	

Не было обнаружено статистически значимых различий в распределении генотипов по CYP2C19 у пациентов в зависимости от локализации язвы в желудке или в двенадцатиперстной кишке (из анализа исключены пациенты с локализацией язвы и в желудке, и в двенадцатиперстной кишке), наличия обострений язвенной болезни после установления диагноза (из анализа исключено 10 пациентов с впервые диагностированной язвенной болезнью), наличия осложнений язвенной болезни в анамнезе ($p>0,05$).

Оценка взаимосвязи между клиническими особенностями течения язвенной болезни у пациентов и их генотипом по ABCB1

Проводился поиск ассоциации генотипов по ABCB1 и клинических данных пациентов с помощью точного критерия Фишера (Таблица 5).

Таблица 5

Распределение пациентов по генотипам по ABCB1 и клиническим показателям

Параметр		Генотип по C3435T ABCB1			Итого	Тест Фишера
		CC	CT	TT		
Локализация язвы	желудок	5	11	5	21	p=0,73
	ДПК	7	18	13	38	
Наличие обострений ЯБ	не было	10	23	11	44	p=1,00
	были	3	7	4	14	
Осложнения ЯБ в анамнезе	не было	8	28	13	49	p=0,17
	было	7	7	5	19	

Не было обнаружено статистически значимых различий в распределении генотипов CC, CT и TT по C3435T ABCB1 у пациентов в зависимости от локализации язвы в желудке или в двенадцатиперстной кишке, наличия обострений язвенной болезни после установления диагноза, наличия осложнений язвенной болезни в анамнезе ($p>0,05$).

Оценка качества жизни по опроснику тяжести гастроэнтерологических симптомов GSRS у пациентов с язвенной болезнью до и после лечения

В анкетировании по опроснику GSRS приняло участие 23 (33,8% от общей выборки) пациента (Таблица 6).

Таблица 6

Баллы по опроснику GSRS до и после лечения у пациентов с язвенной болезнью

Параметр	До лечения	После лечения	Тест Уилкоксона
Общий балл по GSRS	27,26 ± 10,94	24,74 ± 9,02	$p=0,21$
Диарейный синдром	3,65 ± 1,53	5,00 ± 3,21	$p=0,04$
Диспептический синдром	8,83 ± 4,33	6,00 ± 3,28	$p=0,004$
Констипационный синдром	4,43 ± 2,27	5,09 ± 2,92	$p=0,33$
Абдоминальная боль	4,70 ± 2,53	4,22 ± 3,01	$p=0,29$
Рефлюксный синдром	5,70 ± 3,21	4,43 ± 1,93	$p=0,04$

Не получено достоверных различий в общем балле по опроснику GSRS у пациентов с язвенной болезнью до и после лечения ($Z=-1,25$, $p=0,21$) без учета носительства генетических полиморфизмов по CYP2C19 и ABCB1.

Средние баллы по диспептическому и рефлюксному синдромам оказались достоверно ниже после лечения, что может говорить об эффективности лечения ИПП. Средний балл по диарейному синдрому оказался достоверно выше после лечения, что может свидетельствовать о развитии неблагоприятных побочных реакций на терапию, в том числе на эрадикационную терапию.

При анализе ассоциаций общего балла как до лечения, так и после лечения по опроснику GSRS и генотипа по CYP2C19 не было получено статистически достоверных различий в тесте Манна-Уитни, а также при множественном сравнении в тесте Крускала-Уоллиса ($p>0,05$). При анализе ассоциаций общего балла по опроснику GSRS и генотипа по C3435T ABCB1 также не было получено статистически достоверных различий ($p>0,05$).

Мета-анализ эффективности эрадикационной терапии на основе ИПП у пациентов-славян с язвенной болезнью в зависимости от носительства полиморфизмов CYP2C19

Пациенты, относящиеся к промежуточным и медленным метаболитам по CYP2C19, были объединены в группу ПМ+ММ. При сравнении эффективности эрадикационной терапии в группе нормальных метаболитов с объединенной группой ПМ+ММ по данным трех исследований, в которые вошло 370 пациентов, оказалось, что шансы на успешную эрадикацию в общей группе ПМ+ММ достоверно выше в 1,9 раз, чем у нормальных метаболитов (OR=1,90, 95%CI: 1,08–3,34, p=0,03) (Рисунок 2). Гетерогенность данных отсутствовала ($I^2 = 0\%$, p = 0,74).

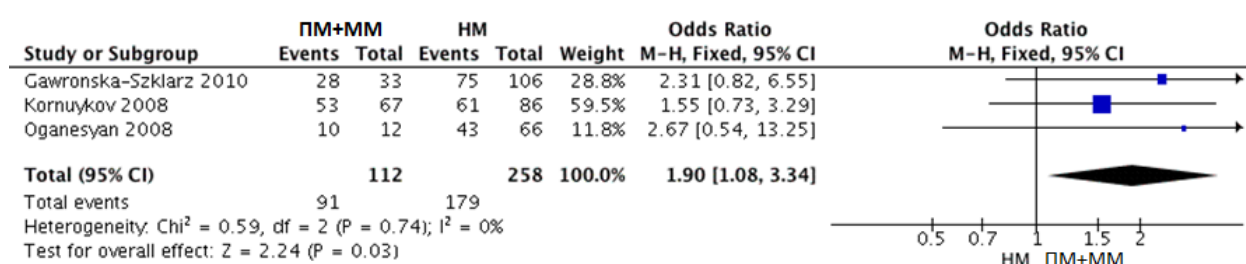


Рисунок 2. Форест график сравнения эффективности эрадикации *H. pylori* между нормальными метаболитами (НМ) и объединенной группой промежуточных и медленных метаболитов (ПМ+ММ) по CYP2C19

Пациенты, относящиеся к нормальным и промежуточным метаболитам по CYP2C19, были объединены в группу НМ+ПМ. Для сравнения эффективности эрадикации *H. pylori* в группе медленных метаболитов с объединенной группой НМ+ПМ, было отобрано четыре исследования, включающие 622 пациента. По результатам мета-анализа, шансы на успешную эрадикацию *H. pylori* у медленных метаболитов оказались в 5,5 раз выше, чем в объединенной группе НМ+ПМ (Рисунок 3) (OR=5,48, 95%CI: 1,51–19,93, p=0,01). Гетерогенность данных отсутствовала ($I^2 = 0\%$, p = 0,66).

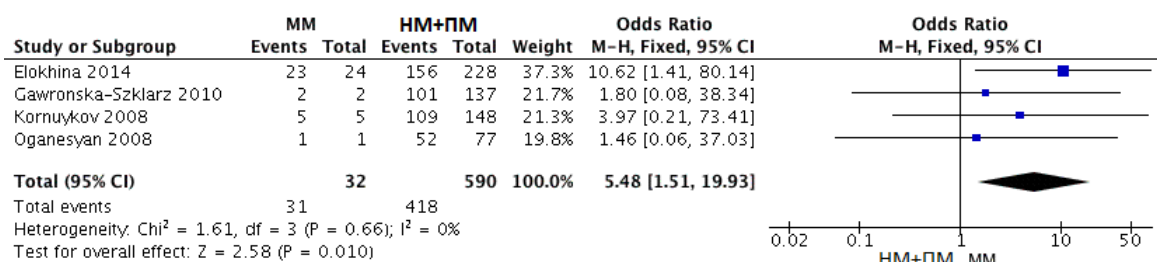


Рисунок 3. Форест график сравнения эффективности эрадикации *H. pylori* между медленными метаболиторами (ММ) и объединенной группой нормальных и промежуточных метаболиторов (НМ+ПМ) по CYP2C19

Популяционное исследование распространенности полиморфизмов CYP2C19 среди российских пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки

Результаты анализа заключений по направлениям на фармакогенетическое тестирование по CYP2C19 971 пациента с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки представлены в Таблице 7.

Таблица 7

**Распространённость полиморфизмов по CYP2C19
среди пациентов с язвенной болезнью**

Фенотип по CYP2C19	Генотип по CYP2C19	Количество пациентов	Итого	Частота, %
Нормальные метаболиторы	*1/*1	317	317	32,65
Промежуточные метаболиторы	*1/*2	165	251	25,85
	*2/*17	78		
	*1/*3	7		
	*3/*17	1		
Медленные метаболиторы	*2/*2	14	17	1,75
	*3/*3	1		
	*2/*3	2		
Быстрые метаболиторы	*1/*17	320	386	39,75
	*17/*17	66		

Обнаруженные частоты генотипов, представленные в Таблице 7, находятся в соответствии с уравнением Харди-Вайнберга, $p > 0,05$ (CYP2C19*2: $p = 0,17$; CYP2C19*17:

p=0,29), за исключением генотипов по аллельному варианту CYP2C19*3, для которых соответствие уравнению Харди-Вайнберга не соблюдается, вероятно, в связи с низкой частотой данного аллельного варианта у европеоидов. Частота аллельных вариантов составила: для CYP2C19*17 – 27,4%, что соответствует наиболее высоким показателям распространенности данного полиморфизма среди европейцев, для CYP2C19*2 – 14,0%, для CYP2C19*3 – 0,6%, что соответствует литературным данным по европеоидам. Наиболее частым оказался генотип быстрых метаболизаторов по CYP2C19.

Предлагается рассмотреть место фармакогенетического тестирования по CYP2C19 в оптимизации фармакотерапии больных язвенной болезнью, ассоциированной с *Helicobacter pylori* (Рисунок 4).

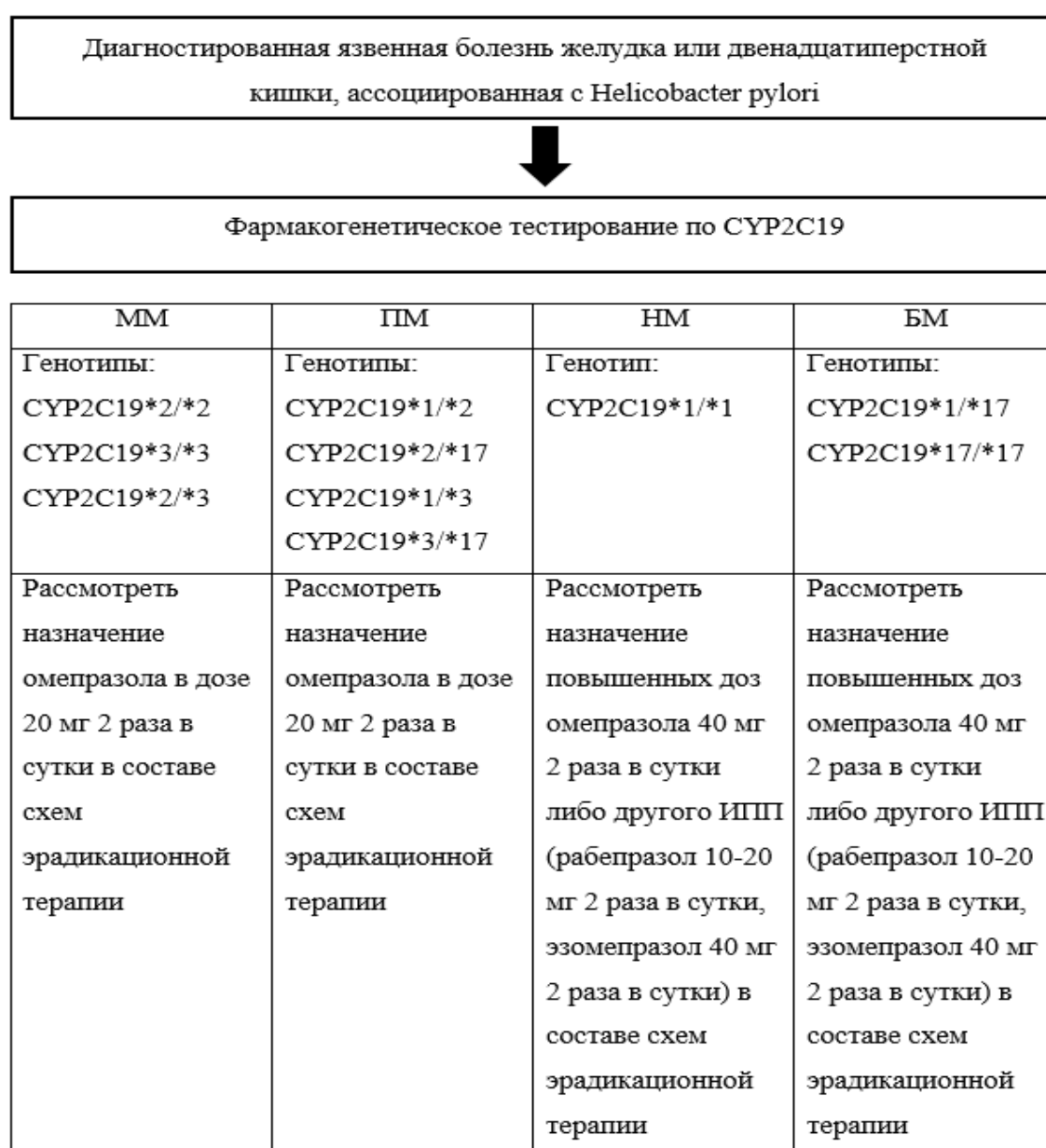


Рисунок 4. Возможное место фармакогенетического тестирования по CYP2C19 в оптимизации фармакотерапии пациентов с язвенной болезнью

Предложенный подход к оптимизации фармакотерапии пациентов с язвенной болезнью требует верификации в проспективных исследованиях и основан на Рекомендациях Маастрихт V 2016 года, Клинических рекомендациях Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению язвенной болезни 2016 года, Рекомендациях Голландской рабочей группы по фармакогенетике Королевской Голландской ассоциации клинических фармацевтов 2011 года и собственных результатах исследования влияния полиморфизмов CYP2C19 на эффективность тройной эрадикационной терапии на основе ингибиторов протонной помпы у пациентов-славян с язвенной болезнью в мета-анализе [Ивашкин В.Т. и др.; 2016; Malfertheiner P. et al.; 2016; Swen J.J. et al., 2011].

Полученные в нашем исследовании данные могут быть приняты во внимание для повышения эффективности терапии ИПП, особенно омепразолом, у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. Данные по распространенности аллельных вариантов и генотипов CYP2C19 на крупной выборке пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки могут быть полезны в дальнейших популяционных исследованиях.

ВЫВОДЫ

1. Установлены достоверные различия по метаболическому отношению (5-гидроксиомепразол/омепразол) в моче между нормальными и быстрыми метаболиторами по CYP2C19 ($p=0,001$), а также при множественном сравнении трёх групп: нормальных, быстрых и объединенной группы промежуточных и медленных метаболиторов по CYP2C19 ($p=0,005$). У носителей аллельного варианта CYP2C19*17 получены достоверно более высокие показатели метаболического отношения 5-гидроксиомепразол/омепразол в моче по сравнению с не-носителями CYP2C19*17 ($p=0,006$).

2. Выявлено отсутствие связи между клиническими данными пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки (локализацией язвы, обострениями в анамнезе, наличием осложнений язвенной болезни) и генотипом по CYP2C19 ($p>0,05$).

3. Показано отсутствие связи между клиническими данными пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки (локализацией язвы, обострениями в анамнезе, наличием осложнений язвенной болезни) и генотипами CC, CT и TT по C3435T ABCB1 ($p>0,05$).

4. Получено отсутствие достоверных различий в общем балле по опроснику GSRS, оценивающему качество жизни у гастроэнтерологических пациентов, у пациентов

с язвенной болезнью до лечения и через 1,5 месяца после начала лечения в общей выборке без учета носительства генетических полиморфизмов по CYP2C19 и ABCB1 ($p=0,21$). Выявлены достоверные различия в баллах по диарейному ($p=0,04$), диспептическому ($p=0,004$) и рефлюксному ($p=0,04$) синдромам у пациентов с язвенной болезнью до и после лечения в общей выборке без учета носительства генетических полиморфизмов по CYP2C19 и ABCB1, при этом средние баллы по диспептическому и рефлюксному синдромам оказались достоверно ниже после лечения, средний балл по диарейному синдрому оказался достоверно выше после лечения. Показано отсутствие различий в общем балле по анкетированию GSRS до и после лечения у носителей полиморфизмов по CYP2C19 и C3435T ABCB1.

5. По результатам мета-анализа установлено, что шансы на успешную эрадикацию в объединенной группе медленных и промежуточных метаболизаторов по CYP2C19 в 1,9 раз выше, чем у нормальных метаболизаторов по CYP2C19 (OR=1,90, 95%CI: 1,08–3,34, $p=0,03$; гетерогенность: $I^2=0\%$, $p=0,74$) среди пациентов-славян с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. По результатам мета-анализа также выявлено, что шансы на успешную эрадикацию у медленных метаболизаторов по CYP2C19 более, чем в 5 раз выше (OR=5,48, 95%CI: 1,51–19,93, $p=0,01$; гетерогенность: $I^2=0\%$, $p=0,66$) по сравнению с объединенной группой промежуточных и нормальных метаболизаторов по CYP2C19 среди пациентов-славян с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки.

6. Среди российских пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки Московского региона выявлено 39,8% быстрых метаболизаторов, 25,9% промежуточных метаболизаторов, 1,8% медленных метаболизаторов по CYP2C19. Частота быстрого аллельного варианта CYP2C19*17 составила 27,4%, медленных аллельных вариантов CYP2C19*2 – 14,0%, CYP2C19*3 – 0,6%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Применение методики фенотипирования CYP2C19 по омепразолу и метаболиту в моче рекомендуется использовать как дополнение к фармакогенетическому тестированию по CYP2C19 для комплексной оценки метаболической активности CYP2C19 у пациентов с язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки.

2. Использование фармакогенетических маркеров CYP2C19 и ABCB1 пациентов для прогнозирования особенностей клинического течения язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки показало свою нецелесообразность.

3. Использование опросника GSRS, оценивающего качество жизни у гастроэнтерологических пациентов, может быть полезно для выявления динамики отдельных синдромов до и после терапии ИПП.

4. Внедрение фармакогенетического тестирования по CYP2C19 позволит прогнозировать эффективность стандартных доз ИПП у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки в составе эрадикационных схем. Оптимизация терапии путем коррекции доз ИПП в сторону повышения для быстрых и нормальных метаболитов является перспективным персонализированным подходом к лечению пациентов с язвенной болезнью и требует изучения в проспективных исследованиях.

5. Учитывая высокую распространенность быстрых метаболитов по CYP2C19, применение фармакогенетического тестирования актуально среди пациентов с язвенной болезнью Московского региона.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

H. pylori – Helicobacter pylori	ММ – медленные метаболиты
БМ – быстрые метаболиты	НМ – нормальные метаболиты
ДПК – двенадцатиперстная кишка	ПМ – промежуточные метаболиты
ИПП – ингибиторы протонной помпы	ЯБ – язвенная болезнь

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Pilipenko N.P. (Денисенко Н.П.), Sychev D.A., Grachev A.V., Beloshitskaya T.A.** Prevalence of cytochrome P-450 2C19 gene polymorphisms in Russian patients with acid-related diseases // 1st Meeting of the Baltic Physiological Societies, 10-11 May, 2013, Kaunas, Lithuania. – 2013. – p. 78-79.

2. **Пилипенко Н.П. (Денисенко Н.П.), Сычев Д.А., Грачев А.В., Белошицкая Т.А.** Частота полиморфизмов гена цитохрома P-450 2C19 у российских пациентов с кислотассоциированными заболеваниями // Сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2014», 18-20 марта 2014 г., г. Москва: тезисы / под ред. В.И. Покровского – М.: ООО «Издательство МБА». – 2014. – с. 264-265.

3. **Денисенко Н.П., Сычев Д.А., Сизова Ж.М.** Частота полиморфизмов гена CYP2C19, ассоциированных с измененным фармакологическим ответом на ингибиторы протонной помпы, у российских пациентов с язвенной болезнью // Сборник материалов VI конференции молодых ученых РМАПО с международным участием

«Современная медицина: традиции и инновации», 22-23 апреля 2015 г., г. Москва: тезисы. – 2015. – с.111-112.

4. **Denisenko N.P.**, Sychev D.A., Sizova Zh.M., Grachev A.V., Velikolug K.A. The frequency of CYP2C19 genetic polymorphisms in Russian patients with peptic ulcer treated with proton pump inhibitors // *Clinical Therapeutics*. – 2015. – №37 (8) Supplement. – p. e25.

5. **Денисенко Н.П.**, Сычев Д.А., Сизова Ж.М., Грачев А.В., Великолуг К.А. Высокая распространенность быстрых метаболизаторов по CYP2C19 среди российских пациентов с язвенной болезнью // **Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология**. – 2015. – №118 (6). – с. 11-15.

6. **Денисенко Н.П.**, Сычев Д.А., Сизова Ж.М., Казаков Р.Е., Грачев А.В. Частота полиморфизмов гена CYP2C19, ассоциированных с измененным фармакологическим ответом на ингибиторы протонной помпы, у российских пациентов с язвенной болезнью // **Молекулярная медицина**. – 2015. – № 5. – с. 58-61.

7. Sychev DA, **Denisenko NP**, Sizova ZM, Grachev AV, Velikolug KA. The frequency of CYP2C19 genetic polymorphisms in Russian patients with peptic ulcers treated with proton pump inhibitors // *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. – 2015. – №8. – p. 111-114.

8. **Денисенко Н.П.**, Сычев Д.А., Сизова Ж.М., Рожков А.В., Кондрашов А.В. Влияние полиморфизмов CYP2C19 на эффективность тройной эрадикационной терапии на основе ИПП у пациентов-славян с язвенной болезнью: мета-анализ // **Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология**. – 2016. – №135 (11). – с. 11-16.

9. **Денисенко Н.П.** Распространенность быстрых метаболизаторов по CYP2C19 среди больных язвенной болезнью в Московском регионе // Сборник материалов VII конференции молодых ученых РМАПО с международным участием «Шаг в завтра», 20-21 апреля 2016 г., Москва: тезисы. – 2016. – с.131.

10. Сычёв Д.А., Отделенов В.А., **Денисенко Н.П.**, Смирнов В.В. Изучение активности изоферментов цитохрома P450 для прогнозирования межлекарственных взаимодействий лекарственных средств в условиях полипрагмазии // *Фармакогенетика и фармакогеномика*. – 2016. – №2. – с.4-11.

11. **Денисенко Н.П.**, Сычев Д.А., Сизова Ж.М., Смирнов В.В., Гришина Е.А., Рыжикова К.А. Взаимосвязь между генетическими полиморфизмами по CYP2C19 и метаболическим отношением 5-гидроксиомепразол/омепразол в моче у пациентов с язвенной болезнью // Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017», 18-20 апреля 2017 г., Москва: тезисы. – 2017. – с. 522-523.

12. **Денисенко Н.П.**, Сычев Д.А., Сизова Ж.М., Гришина Е.А., Рыжикова К.А., Созаева Ж.А. Полиморфизм С3435Т гена ABCB1 и клинические особенности больных язвенной болезнью, принимающих ингибиторы протонной помпы // **Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология**. – 2017. – №142 (6). – с. 34-39.

13. **Denisenko NP**, Sychev DA, Sizova ZM, Smirnov VV, Ryzhikova KA, Sozaeva ZA, Grishina EA. Urine metabolic ratio of omeprazole in relation to CYP2C19 polymorphisms in Russian peptic ulcer patients // *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*. – 2017. – №10. – p. 253-259.