

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

РУМЯНЦЕВ НИКОЛАЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ

**АНАЛИЗ ПРИМЕНЕНИЯ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО
ТЕСТИРОВАНИЯ ДЛЯ ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ ПРИМЕНЕНИЯ
ПЕРОРАЛЬНЫХ АНТИКОАГУЛЯНТОВ И СТАТИНОВ У
ПАЦИЕНТОВ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ В УСЛОВИЯХ
ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ЦЕНТРА ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ
МЕДИЦИНЫ**

14.03.06 – фармакология и клиническая фармакология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, Олефир
Юрий Витальевич

Научный консультант:

академик РАН, д.м.н., профессор Кукес
Владимир Григорьевич

Москва – 2017

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	17
1.1 Применение антикоагулянтов непрямого действия для профилактики тромбоэмболических осложнений у пациентов с фибрилляцией предсердий.....	17
1.2 Риск тромботических осложнений у пациентов с фибрилляцией предсердий	24
1.3 Основы применения антикоагулянтов непрямого действия.....	29
1.4 Актуальные проблемы безопасности и эффективности проведения терапии варфарином при традиционном алгоритме дозирования варфарина	31
1.5 Фармакогенетический подход к подбору дозы варфарина.....	37
1.6. Современный подход и особенности проведения гиполипидемической терапии	43
1.7 Применение статинов для профилактики осложнений сердечно-сосудистых заболеваний с точки зрения оценки соотношения польза/риск на фоне их применения.....	47
Проблемы безопасности при применении статинов.....	48
1.8 Патогенез развития статин-индуцированной миопатии	53
1.9 Роль генетических факторов в патогенезе поражения мышечной ткани на фоне терапии статинами. Фармакогенетический подход в профилактике миопатии на фоне терапии статинами.....	59
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	67
2.1 Общая схема исследования	67
2.2 Характеристика пациентов I группы. Анализ эффективности и целесообразности внедрения фармакогенетического тестирования при применении варфарина по сравнению с традиционным алгоритмом дозирования	68
2.3 Характеристика пациентов II группы. Оценка эффективности и целесообразности применения фармакогенетического тестирования у пациентов, принимающих статины	73
2.4 Забор крови	75

2.5 Биохимические методы исследования	76
2.6 Методика определения МНО.	76
2.7 Методика определения CYP2C9 и VKORC1.....	76
2.8 Методика определения полиморфизма гена SLCO1B1	80
2.9 Оценка доступности фармакогенетического тестирования и частоты его применения врачами в рутинной клинической практики	82
2.10 Статистическая обработка результатов	83
ГЛАВА 3. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ПРИ НАЗНАЧЕНИИ ВАРФАРИНА.	84
3.1 Изучение частоты выявления полиморфных вариантов CYP2C9	84
3.2 Сравнение основных оцениваемых показателей между пациентами групп ФГ «+» и ФГ «-»	88
3.3 Анализ отдаленных результатов эффективности и безопасности проводимой терапии у пациентов, прошедших фармакогенетическое тестирование	91
ГЛАВА 4. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СТАТИНОВ У ПАЦИЕНТОВ И ЕЕ ЗАВИСИМОСТИ ОТ РЕЗУЛЬТАТОВ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ.....	96
4.1 Изучение частоты встречаемости полиморфных вариантов SLCO1B1 и структура назначения статинов.....	96
4.2 Анализ отдаленных результатов терапии статинами, у пациентов, прошедших фармакогенетическое тестирование	100
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	108
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	121
ВЫВОДЫ	123
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	126
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	127
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	129

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Сердечно-сосудистые заболевания занимают первое место среди причин смертности и потери трудоспособности в большинстве развитых стран в структуре общей смертности населения [295]. В опубликованном отчете Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) за 2008 год от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) в мире умерло 17.3 миллионов человек, что составило 30% от всех случаев смерти, сердечно-сосудистые заболевания являются основной причиной смертности и инвалидизации среди населения развитых стран [295]. По данным Федеральной службы государственной статистики смертность от ССЗ на территории Российской Федерации (РФ) за 2012 год составила 54% от всех случаев смертности населения в том числе дорожно-транспортных происшествий и травм. Среди всех умерших почти 30% приходится на лиц трудоспособного возраста (более 560 тыс. человек в год), из них 80% – мужчины. Смертность среди мужчин трудоспособного возраста в 4,1 раза превышала смертность среди женщин [292]. Следует отметить, что показатель смертности от сердечно-сосудистых заболеваний среди населения Российской Федерации превышает более, чем в 4 раза соответствующий показатель у жителей Евросоюза и составляет 385,6 человек VS 95,9 человек на 100 тысяч населения в год соответственно.

Следует учитывать, что на территории РФ, как и других стран, медицинская статистика не отражает в полной мере истинную картину распространенности ССЗ, диагностика которых в значительной степени зависит от доступности первичной медицинской помощи населению, от отношения пациента к своему здоровью, распространенности «самолечения» среди пациентов по причине отсутствия должного контроля за реализацией рецептурных лекарственных препаратов, а также назначения препаратов с недоказанной эффективностью и/или в недостаточных дозах [254; 293]. Снижение смертности от ССЗ находится на одном из первых мест среди задач реализуемой в РФ государственной программы «Развитие здравоохранения». Среди ожидаемых результатов - снижение смертности от болезней системы

кровообращения до среднемирового уровня - до 622,4 случая на 100 тыс. населения [267].

В настоящее время к назначаемой фармакотерапии предъявляются очень высокие требования: препарат должен обладать высоким профилем эффективности и безопасности, максимально удобной для применения лекарственной формой (кратность применения, удобство применения выбранной лекарственной формы), а также минимальной частотой развития нежелательных лекарственных реакций. Выполнение вышеописанных принципов может значительно повысить приверженность к лечению со стороны пациента [250]. Решение данных задач лежит в основе развития относительно нового направления медицинской науки - персонализированной медицины. В конце 1950-х годов прошлого века впервые появились сообщения о том, что выраженность и индивидуальная вариабельность ответа на проводимую фармакотерапию может быть связана с генетическими факторами. Так появилось новое направление медицинской науки – клиническая фармакогенетика, которая на сегодняшний день является главным инструментом персонализированной медицины.

Клиническая фармакогенетика - раздел клинической фармакологии и клинической генетики, изучающий роль и влияние генетических факторов на формировании терапевтического ответа организма человека на введение лекарственных препаратов: эффективность и безопасность их применения, а также позволяющий прогнозировать частоту развития нежелательных лекарственных явлений на фоне проводимой фармакотерапии. Использование молекулярно-генетических технологий позволяет индивидуализировать применение лекарственных средств, что в свою очередь помогает достичь максимальной безопасности и эффективности проводимой фармакотерапии.

Главной целью внедрения фармакогенетического тестирования в практику врача-интерниста заключается в выявлении генетических особенностей конкретного пациента, с целью прогноза ответа на введение ЛС, подбора индивидуальной дозы ЛП, особенно для ЛП обладающих узким терапевтическим диапазоном, а также прогнозирование возникновения возможных осложнений проводимой

фармакотерапии. Для решения данных задач в настоящее время для выявления полиморфизма генов, отвечающих за фармакологический ответ конкретного пациента, применяется фармакогенетическое тестирование.

Степень разработанности проблемы

В настоящее время в литературных источниках опубликовано большое количество работ и активно обсуждается роль генетических факторов и их влияние на эффективность и безопасность проводимой фармакотерапии [250]. Большое число научных работ посвящены проблемам применения фармакогенетического тестирования с целью повышения эффективности и безопасности проводимой терапии варфарином [4; 37; 58; 84; 85; 96 и др.]. Достоверно известно, что носительство «медленных» аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 фермента CYP2C9 приводит к снижению скорости биотрансформации варфарина [250]. Данная информация внесена в инструкцию по медицинскому применению варфарина. Кроме того, на эффективность и безопасность применения варфарина значительное влияние оказывает полиморфизм гена VKORC1 – у носителей генотипа AA по полиморфному маркёру G1639A при применении варфарина в соответствии с традиционным алгоритмом эпизоды повышение МНО выше терапевтических значений и кровотечения встречаются со значительно большей частотой, чем в остальной популяции [284]. Для индивидуализации применения варфарина разработана методика, основанная на определении полиморфных вариантов CYP2C9 и VKORC1. Информативность данной методики подтверждена результатами крупного метанализа [202], опубликованном в 2013 году, в котором показана тесная взаимосвязь между носительством полиморфных вариантов CYP2C9 и VKORC1 и выраженностью антикоагулянтного эффекта на фоне терапии варфарином [202]. В исследовании зарубежном исследовании EU-PACT UK, включавшем 455 пациентов проведен сравнительный анализ эффективности использования традиционного и фармакогенетического подхода к дозированию варфарина. Показано преимущество применения данной методики – у пациентов, которым проводилось фармакогенетическое тестирование время нахождения пациента в пределах терапевтического диапазона МНО было выше, кроме того, данным пациентам

требовалось меньшее время для достижения целевых значений МНО. В группе пациентов, прошедших фармакогенетическое тестирование не зарегистрировано ни одного случая повышения МНО выше 4.0. Проведение фармакогенетического подбора дозы рекомендовано FDA, всем пациентам, которым планируется назначение варфарина [Table of Valid Genomic Biomarkers in the Context of Approved Drug Labels. URL: <http://www.fda.gov>].

На территории Российской Федерации также проведен ряд исследований, посвященных изучению эффективности данной методики. Так, в исследовании Гаврисюк Е.В целевое МНО было достигнуто у 100% пациентов, у которых применялось фармакогенетическое тестирование, в то время как в группе контроля целевой уровень МНО достигнут лишь у 40% пациентов, кроме того, эпизоды повышения МНО >3 у пациентов группы контроля встречались в 6.5 раз чаще, чем у пациентов, прошедших фармакогенетический мониторинг [223]. В проспективном исследовании Я.В. Новиковой показаны схожие результаты: у пациентов группы, которым проводилось фармакогенетическое тестирование, удалось достичь сокращения сроков подбора дозы варфарина, а также снижения частоты выхода МНО за пределы терапевтических значений [257].

Не смотря, на большое количество работ отечественных и зарубежных авторов, в данных работах не проведена оценка отдаленных результатов эффективности и безопасности проводимой терапии варфарином в зависимости от выявленного полиморфного варианта CYP2C9 и VKORC1. Кроме того, не проведена комплексная оценка значения данной методики с позиций преемственности медицинской помощи т.е. этапов лечения – с момента выписки пациентам из стационара и дальнейшего лечения пациента в условиях амбулаторного отделения для определения целесообразности применения фармакогенетического тестирования с точки зрения возможности повышения безопасности и эффективности терапии варфарином. Для решения вопросов и оценки необходимости внедрении данной технологии в перечень доступных исследований в лечебно-профилактических учреждениях следует провести более полные исследования с учетом вышеописанных факторов.

В целом, статины обладают достаточно благоприятным профилем безопасности и эффективности, хорошо переносятся пациентами, однако на фоне их применения следует учитывать возможность возникновения нечастого, но потенциально опасного, иногда жизнеугрожающего состояния – статин-индуцированной миопатии и рабдомиолиза. Частота поражения мышечной ткани по данным различных исследований варьирует в широком диапазоне – от 0 до 16% [20; 24; 34; 217; 51]. Наиболее часто развитие данного нежелательного явления связывают с генетическим полиморфизмом гена *SLCO1B1*, кодирующего органический анион-транспортирующий полипептид *OATP1B1*, отвечающий за захват гепатоцитами различных ЛС, включая препараты группы статинов [151; 152; 160]. По данным, полученным в метаанализе, включавшем 20 исследований у пациентов, носителей полиморфного варианта *c.521CC SLCO1B1* «мышечные» симптомы на фоне применения статинов развивались в 2 раза чаще, чем у остальной популяции пациентов. Частота развития появления «мышечных симптомов», связанных с применением статинов может достигать 60% у носителей аллельного варианта *SLCO1B1*5* на фоне применения высоких доз статинов - по литературным данным у гомозиготных носителей гена *SLCO1B1* риск развития поражения мышечной ткани на фоне терапии статинами в 16.9 раз выше, чем в популяции в целом [126; 180]. По некоторым данным полиморфизм *SLCO1B1* также может влиять на эффективность гиполипидемической терапии статинами - у пациентов, носителей минорного аллеля *rs445925* отмечено более быстрое и выраженное снижение ЛПНП. [167]. У носителей гена *rs4149056 SLCO1B1* также зарегистрирована сниженная эффективность терапии статинами. [117] FDA рекомендовано ограничить применение симвастатина в дозе 80 мг/сутки т.к. риск миопатий при применении симвастатина в дозе 80 мг/сутки составляет 0.9% по сравнению с 0.02%, при применении в дозе 20 мг/сутки.

Таким образом, в настоящее время показано, что применение фармакогенетического тестирования может существенно повысить безопасность и эффективность проводимой терапии фармакотерапии варфарином и статинами. Однако, эффективность данной методики может значительно варьировать в условиях разных стран в зависимости от распространенности носительства генетических

полиморфизмов от этнических факторов, особенностей организации медицинской помощи в различных странах. По данной причине требуется тщательная комплексная многофакторная оценка эффективности внедрения и применения данной методики в клинической практике в условиях стационара и поликлинических отделений на территории Российской Федерации. Кроме того, требуется разработка отечественных методических рекомендаций по применению фармакогенетических исследований с учетом многофакторной оценки эффективности применения данной в условиях стационара и поликлинических отделений.

Цель исследования

Оценить целесообразность внедрения фармакогенетического мониторинга в рутинную клиническую практику на примере анализа и оценки отдаленных результатов влияния выявленного генетического полиморфизма на эффективность и безопасность проводимой терапии варфарином и статинами, а также индивидуализации применения пероральных антикоагулянтов и статинов у пациентов терапевтического профиля в условиях функционирования центра персонализированной медицины.

Задачи исследования

1. Оценить целесообразность внедрения фармакогенетического мониторинга в рутинную клиническую практику на примере пациентов, получающих варфарин и статины.
2. Проанализировать частоту развития нежелательных лекарственных явлений на фоне терапии непрямых антикоагулянтами и статинами у пациентов, прошедших фармакогенетический мониторинг на госпитальном и постгоспитальном этапе лечения.
3. Провести анализ отдаленных результатов лечения у пациентов, прошедших фармакогенетическое тестирование, а также оценить генетического полиморфизма на эффективность и безопасность проводимой терапии у пациентов, прошедших фармакогенетический на фоне проводимой терапии варфарином и статинами.
4. Сравнить особенности и эффективность применения непрямого антикоагулянта варфарина при использовании фармакогенетического и традиционного алгоритмов

дозирования у пациентов с высоким риском тромботических осложнений в условиях центра персонализированной медицины и многопрофильного стационара у пациентов при первичном назначении варфарина.

5. Оценить возможную взаимосвязь и влияние носительства полиморфных вариантов *SLCO1B1* на исходный уровень ЛПНП, общего холестерина, а также его влияние на отдаленные результаты проводимой терапии статинами.
6. Оценить распространенность полиморфизма *CYP2C9*, *VKORC1*, *SLCO1B1* среди популяции жителей города Москва.
7. Оценить информированность врачей о показаниях к проведению фармакогенетического тестирования, а также доступность проведения фармакогенетического тестирования в лечебно-профилактических учреждениях города Москвы.

Научная новизна

1. Впервые в Российской Федерации, проведен анализ отдаленных результатов внедрения фармакогенетического тестирования, его влияния на эффективность и безопасность проводимой фармакотерапии с целью оценки эффективности применения данной методики, а также целесообразности внедрения фармакогенетического тестирования в рутинную клиническую практику на примере пациентов, получающих варфарин и статины.
2. В условиях центра персонализированной медицины показано, что активное внедрение фармакогенетического тестирования в рутинную клиническую практику с целью персонализации режима дозирования варфарина и статинов может иметь преимущества в виде значительного снижения частоты нежелательных явлений, а также за счет снижения связанных с этим затрат. Например, у пациентов, которым показано назначение варфарина фармакогенетическое тестирование может позволить достичь сокращения сроков стационарного лечения больных, снизить частоту развития нежелательных явлений (в том числе больших и малых кровотечений) как на госпитальном этапе, так и с точки зрения отдаленных результатов, в том числе за счет более быстрого достижения терапевтического диапазона МНО, а также за счет

увеличения времени нахождения пациента в пределах терапевтического диапазона МНО, по сравнению с пациентами, у которых применяется традиционный алгоритм дозирования варфарина, который используется сегодня у пациентов большинства многопрофильных стационаров.

3. Впервые в РФ выполнен анализ отдаленных результатов частоты развития нежелательных явлений (миопатий) и их возможная взаимосвязь с носительством полиморфных вариантов *SLCO1B1* у пациентов, прошедших фармакогенетический мониторинг в условиях центра персонализированной медицины. Проведена оценка отдаленных результатов влияния носительства полиморфных вариантов *SLCO1B1* на эффективность применения статинов (снижение уровня ЛПНП и общего холестерина до целевых значений) и уровня комплаентности пациентов, прошедших фармакогенетическое тестирование, а также анализ возможной взаимосвязи носительства полиморфных вариантов *SLCO1B1* с исходным уровнем ЛПНП и общего холестерина.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Наука. Полученные данные свидетельствуют о том, что внедрение фармакогенетического тестирования позволяет повысить эффективность и безопасность применения варфарина. Внедрение полученных результатов в повседневную клиническую практику врачей лечебно-профилактических учреждений может снизить число нежелательных явлений на фоне проводимой фармакотерапии, повысить приверженность пациентов к проводимой фармакотерапии.
2. Практическое здравоохранение. Проведение фармакогенетического мониторинга у пациентов, которым планируется назначением варфарина и статинов, внедрено в практику врачей отделения персонализированной медицины ГБУЗ им. М.В. Давыдовского. Проведение фармакогенетического тестирования у пациентов, которым планируется назначение варфарина позволяет сократить сроки госпитализации пациентов, за счет сокращения времени, требуемого для подбора МНО. Кроме того, проведение фармакогенетического тестирования позволяет повысить безопасность проводимой терапии с точки зрения отдаленных

результатов, а также повысить приверженность пациентов к проводимой фармакотерапии.

3. Учебный процесс. Полученные теоретические и практические результаты исследования внедрены в лечебно-диагностическую работу ГКБ № 23 им. М.В. Давыдовского, учебно-педагогический процесс в ходе проведения семинаров и лекций в рамках цикла «Клиническая фармакология» на кафедре клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Соответствие паспорту специальности

Диссертационное исследование Румянцева Н.А. посвящено вопросам повышения эффективности и безопасности применения варфарина и статинов, а также прогнозированию действия варфарина и статинов соответствует формуле специальности 14.03.06 – Фармакология, клиническая фармакология и областям исследований: п. № 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. № 7 - "Исследование фармакокинетики лекарственных средств у здоровых добровольцев и пациентов", п. № 10 – "Разработка методологии и проведение терапевтического лекарственного мониторинга препаратов с учетом клинической эффективности и возможности проявления нежелательного побочного действия лекарственных средств", п. № 14 – "Исследование нежелательного действия лекарственных средств, разработка методов их профилактики и коррекции" и п. № 18 – "Разработка и оптимизация методов фармакотерапии и профилактики заболеваний у различных групп пациентов с учётом их индивидуальных особенностей, включая исследование приверженности фармакотерапии (комплаентности)".

Методология и методы диссертационного исследования

Теоретической базой диссертационного исследования послужили работы предыдущих авторов, в которых показано влияние полиморфных вариантов

изофермента CYP2C9 и гена VKORC1 на выраженность антикоагулянтного эффекта при применении варфарина, а также полиморфизма гена SLCO1B1 на безопасность и эффективность применения статинов. Однако, не в одном из исследований не была проведена комплексная оценка эффективности внедрения данной методики с точки зрения отдаленных результатов лечения, а также после выписки пациента из стационара и на момент оказания медицинской помощи в условиях поликлинических отделений. Перечисленные обстоятельства стали основной для последующего изучения данной проблемы, а также оценке целесообразности применения и внедрения указанных фармакогенетических тестов в перечень лабораторно-диагностических исследований лабораторий ЛПУ

Методологической базой исследования является применение фармакогенетических (ПЦР для определения аллельных вариантов генов, кодирующих CYP2C9 и VKORC1, а также SLCO1B1) и лабораторно-диагностических методов (общий и биохимический анализ крови, ЭКГ, ЭХО-КГ), для изучения роли генетического полиморфизма изофермента CYP2C9 и гена VKORC1 в прогнозировании антикоагулянтного эффекта при назначении варфарина, SLCO1B1 для прогнозирования эффективности и безопасности применения статинов.

Внедрение результатов работы

Результаты исследования используются в учебном процессе кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней лечебного факультета Первого МГМУ им. Сеченова (Сеченовский Университет) для обучения студентов лечебного факультета в рамках цикла «Клиническая фармакология», ординаторов и аспирантов. Полученные теоретические и практические результаты исследования внедрены в лечебно-диагностическую работу ГКБ № 23 им. М.В. Давыдовского. Полученные результаты использованы в процессе написания 2 методических пособий для студентов, ординаторов и врачей общей практики, посвященных проблемам персонализированной медицины.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Среди пациентов, жителей Москвы выявлена высокая частота встречаемости носительства «медленных» аллельных вариантов CYP2C9 среди пациентов,

- способных повышать чувствительность к варфарину выявлена у 41.1% пациентов, включенных в исследование. Носительство генотипа VKORC1 AA выявлено у 31.1%.
2. Применение фармакогенетического тестирования – определение CYP2C9, VKORC1 показано всем пациентам, которым планируется назначение варфарина т.к. существенно повышает безопасность и эффективность проводимой терапии варфарином, особенно на этапе подбора дозы варфарина.
 3. Применение фармакогенетического подхода к дозированию варфарина может существенно повысить безопасность проводимой терапии в долгосрочной перспективе.
 4. Выполнение фармакогенетического мониторинга – генотипирования по CYP2C9 и VKORC1 показано всем пациентам, которым планируется назначение варфарина с целью снижения риска геморрагических осложнений, в связи с чем целесообразно включение данного исследования в перечень медицинских услуг в системе ОМС.
 5. Одной из главных проблем для внедрения фармакогенетического тестирования в клиническую практику является низкая доступность фармакогенетического тестирования в лечебных учреждениях города Москвы, а также низкая информированность практических врачей о возможности и показаниях к проведению фармакогенетического тестирования.
 6. В лечебно-профилактических учреждениях города Москвы выявлена низкая доступность экспресс-определения МНО с помощью портативных приборов контроля МНО, что в ряде случаев существенно затрудняет своевременную коррекцию дозы варфарина.
 7. Применение фармакогенетического тестирования повышает приверженность пациентов к проводимой терапии варфарином и статинами.
 8. Частота выявления носительства С аллели среди пациентов жителей города Москва в целом оказалась схожа с остальной популяцией пациентов жителей Российской Федерации – частота носительства генотипа аллельного гена SLCO1B1*5 - ТС составила 25.48%, СС – 5.4%.

9. Взаимосвязи между носительством различных генотипов SLCO1B1 и исходным уровнем ЛПНП, общего холестерина, а также исходных значений КФК, АЛТ и АСТ не выявлено.
10. Носительство полиморфных вариантов SLCO1B1 не оказывает влияние на эффективность проводимой терапии статинами.
11. Выявление пациентов, носителей генотипов TC и CC гена SLCO1B1*5 при выполнении фармакогенетического тестирования позволяет выявить пациентов, которым требуется регулярно проводить контроль маркеров безопасности на фоне проводимой терапии статинами.

Степень достоверности и апробация результатов

В ходе выполнения данной работы применялось высокотехнологичное лабораторное оборудование и современные методы обследования пациентов, в результате чего получен значительный объем экспериментальных данных. Анализ полученных данных проводился в соответствии с адекватными общепринятыми методами и критериями статистической обработки, что позволяет сделать вывод о высокой степени достоверности полученных результатов исследования. Методы исследования выбраны в соответствии с поставленными целями и задачами. Положения, выносимые на защиту, выводы и рекомендации основаны на результатах исследования, достоверность которых подтверждена актом проверки первичной документации.

Результаты, полученные в данной научной работе, были доложены на II Ежегодной конференции «Вотчаловские Чтения» (г. Москва, 02.06.2016), XI Национальном конгрессе терапевтов (г. Москва, 23.11.2016), конференции «Клиническая фармакология в развитие методологии персонализированной медицины» (г. Москва, 14.04.2017). Результаты работы были обсуждены на заседании кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (протокол № 12 от 05.07.2017).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 10 печатных работ, в том числе 6 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 156 стандартных страницах компьютерного текста формата А4 и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных наблюдений, заключения, выводов и практических рекомендаций. Список литературы включает 80 отечественных и 217 зарубежных научных работ. Работа иллюстрирована таблицами и рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Применение антикоагулянтов непрямого действия для профилактики тромбоэмболических осложнений у пациентов с фибрилляцией предсердий.

Фибрилляция предсердий(ФП) – наджелудочковая тахикардия, для которой характерна быстрая, нерегулярная и хаотичная предсердная активность с последующим снижением механической функции предсердий. ФП – одна из наиболее распространенных форм нарушения сердечного ритма, ее распространенность среди взрослого населения удваивается с каждым последующим десятилетием жизни: увеличивается с 0.5% в возрасте 50-59 лет до 9-15% среди пациентов старше 80 лет [146]. В странах Европейского Союза распространённость ФП достигает 6 млн человек, что на фоне общего старения популяции позволяет прогнозировать 2-х кратное увеличение распространенности в течение ближайших 50 лет [21]. Наиболее частой причиной, приводящей к ФП являются сердечно-сосудистые заболевания: приобретенные и врожденные пороки клапанов сердца (наиболее часто митрального), ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда, артериальная гипертензия, различные кардиомиопатии, миокардит, перикардит, которые приводят к структурному ремоделированию предсердий и желудочков, миокардит, перикардит, состояния после хирургических операций. Среди экстракардиальных выделяют чрезмерное употребление этанола («синдром праздничного сердца», тиреотоксикоз, электротравму, пневмонию, хроническую обструктивную болезнь легких [71], хроническую болезнь почек [175], хирургические манипуляции на органах грудной клетки, ожирение [64]. При большинстве данных состояний лечение основного заболевания часто приводит к купированию пароксизмов ФП [256]. По данным полученным Hsu J.C. и соавторами ВИЧ-инфекция также является фактором риск развития ФП.

До 40% случаев пароксизмальной ФП и до 25 % постоянной ФП диагностируется у пациентов молодого возраста, не страдающих ССЗ [105]. В исследовании Fox C.S., Parise H. и соавт., включавшем более 2200 пациентов показано, что более у 30 % пациентов с ФП у родителей была ФП в анамнезе [61]. По

данным Saffitz J. в механизме развития ФП большую роль могут играть генетические мутации [177].

В результате ремоделирования миокарда процессов происходят фиброзные изменения миокарда, за счет пролиферации и дифференцировкой фибробластов в миофибробласты, повышенному отложению соединительной ткани, что в итоге приводит к электрической диссоциации мышечных пучков и как следствие к неравномерному проведению электрического импульса [25]. Наиболее распространенной теорией развития ФП является теория очаговых механизмов и гипотеза множественных мелких волн, при этом возможно и их сочетание друг с другом. Очаговые механизмы развиваются в результате триггерной активности и циркуляции возбуждения по типу «повторного входа» (microreentry), что приводит к поступлению множества импульсов из автономных очагов сердечной мышцы. Более короткий период данных зон делает их схожими с клетками синусового узла.

Дальнейшие изменения предсердий развиваются и на фоне уже имеющейся ФП, происходит укорочение рефрактерного периода предсердий, с дальнейшим увеличением поступления кальция через каналы L-типа и увеличения количества калия в клетках миокарда. Поступление кальция в клетки замедляется, что приводит к нарушению обмена энергии в миофибриллах. Вышеописанные механизмы приводит к снижению сократительной способности предсердий, замедлению кровотока в предсердиях из-за нарушения их сократительной способности, что в свою очередь и приводит к образованию тромбов преимущественно в ушке левого предсердия.

Системные тромбоэмболии являются основной причиной смерти и инвалидизации пациентов с ФП. Ежегодно по всему миру ишемический инсульт развивается почти у 3 млн человек, что приводит к инвалидизации почти в 60% случаев, при этом до половины больных умирает в течение первого года после ишемического инсульта [136]. У пациентов с ФП риск развития ишемического инсульта почти в 5 раз выше, чем в общей популяции пациентов. Частота развития ишемических инсультов у пациентов с ФП, неклапанной этиологии достигает 6%.

По данным, основанных на результатах Фрамингемского исследования риск развития ишемического инсульта у пациентов с фибрилляцией предсердий, не получающих адекватную антикоагулянтную терапию, достигает 35%, что до 5 раз выше, чем у пациентов без кардиологической патологии [211]. Следует отметить, что кроме повышенного риска ишемического инсульта у данной группы пациентов значительно повышен риск тромбоэмболии легочной артерии, острого инфаркта миокарда, венозных тромбозов [100]. В настоящее время по причине высокой социальной значимости, высокой смертности и инвалидизации пациентов, перенесших тромбоэмболические осложнения, на первое место выходит вопрос безопасности и эффективной профилактики данных осложнений. Данная проблема актуальна для врачей, работающих на всех уровнях оказания медицинской помощи – от поликлинических врачей до врачей специализированных отделений.

В текущем десятилетии количество пациентов, получающих оральные антикоагулянты увеличивается ежедневно, что вызвано очень высокой распространенностью сердечно-сосудистых заболеваний, числом пациентов с высоким риском тромбоэмболических осложнений, а также за счет резко возросшего числа кардиохирургических вмешательств, в том числе по протезированию клапанов сердца. Следует отметить, что на увеличение частоты применения пероральных антикоагулянтов оказывает влияние такой значимый фактор как старение населения в целом, а значит увеличение количества пациентов, которым показано проведение терапии антикоагулянтами. Go A.S. и соавторами установлено, у пациентов старше 60 лет распространенность фибрилляции предсердий достигает 3,8%, у пациентов старше 80 лет – 9% [75]. Так, например, на территории США в течение последних 15 лет число выписанных рецептов на варфарин возросло с 21 млн до 30 млн в год. С увеличением частоты применения антикоагулянтов можно ожидать увеличение, связанных с их применением побочных эффектов, поэтому проведение комплекса мероприятий, направленных на повышение эффективности и безопасности их применения становится особенно важно [25].

На сегодняшний день одними из препаратов выбора для профилактики тромбоэмболических осложнений являются антагонисты витамина К (варфарин). В

течение почти 75 лет непрямые антикоагулянты стали наиболее часто используемыми препаратами для профилактики тромбоэмболических осложнений. Антагонисты витамина К, а именно варфарин – наиболее часто используемый препарат данной группы. Существует большое количество исследований, где показана высокая эффективность варфарина для профилактики тромбоэмболических осложнений, например, у пациентов с фибрилляцией предсердий применения пероральных антикоагулянтов позволяет снизить риск развития инсульта на 62 %, развития повторных эпизодов венозной тромбоэмболии на 90 %. [285].

Впервые, преимущество применения пероральных антикоагулянтов над препаратами ацетилсалициловой кислоты для профилактики ТЭО при фибрилляции предсердий показано в 1983 году в исследовании James H. и соавторов [95]. В дальнейшем в двойном слепом рандомизированном исследовании AFASAK [161] было показано преимущество монотерапии варфарином над терапией ацетилсалициловой кислотой для профилактики тромбоэмболических осложнений – у пациентов группы, получавших варфарин частота данных осложнений была в 4 раза меньшей, чем в группе пациентов, получавших ацетилсалициловую кислоту, при этом, у частота кровотечений была больше в группе терапии варфарином – зарегистрировано 21 кровотечение у пациентов данной группы vs 2 кровотечения на фоне терапии ацетилсалициловой кислотой. В клиническом исследовании «Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Trial II» [SPAF II] проведено сравнение эффективности проводимой терапией ацетилсалициловой кислотой и варфарином – при сравнительном анализе частота осложнений, связанных с тромбозами в группе варфарина была на 30% меньшей, однако у этих пациентов также наблюдалась большая частота кровотечений [99]. Среди пациентов старшей возрастной группы кровотечения на фоне терапии ацетилсалициловой кислотой встречались с частотой 1,6% в год, варфарина — 4,2% (у пациентов младше 75 лет 0,9 и 1,7% соответственно). По данным, полученным Miao L. и соавторами [141] поддерживающая доза варфарина у пациентов в возрасте от 10 до 90 лет снижается примерно на 0,2 мг каждые 10 лет, независимо от генотипа и веса пациента.

За последние 20 лет проведено огромное количество исследований, посвященных проблемам безопасности, различным режимам дозирования, сравнению эффективности антиагрегантной терапии и терапии антикоагулянтами для предотвращения тромбоэмболических осложнений (ацетилсалициловая кислота, клопидогрел и непрямые антикоагулянты) у пациентов группы риска, в том числе у пациентов с фибрилляцией предсердий. [193; 134; 19; 213]. На основании анализа объединённой базы клинических исследований, посвященных эффективности антитромботической терапии показано, что терапия оральными антикоагулянтами, в том числе, варфарином уменьшает риск развития тромбоэмболии на 67% по сравнению с 22% при терапии ацетилсалициловой кислотой. При этом четко показано, что предполагаемая польза проводимой терапии варфарином значительно превышает (снижение смертности на 25% в год) возможный риск кровотечений (не более 4% в год) [48]. Несмотря на то, что эффективность антикоагулянтной терапии для предотвращения тромбозов и тромбоэмболий не вызывает сомнений, по данным, полученным Рычковым А.М. в 2010 году у пациентов с фибрилляцией предсердий, а также у пациентов с высоким риском тромбоэмболических осложнений, госпитализированных в специализированный кардиологический стационар только 4% пациентов, получали адекватную антикоагулянтную терапию. По данным других российских исследователей получены более обнадеживающие, но очень схожие результаты: более 30% пациентов с ФП неклапанной этиологии в рутинной клинической практике получают неадекватную антитромботическую терапию. При этом данная тенденция, хоть и в меньшей степени характерна и для ведущих клиник РФ. Так, по данным, полученным Сулимовым В.А. и соавторами [279] в ретроспективном исследовании, включавшем 677 пациентов с фибрилляцией предсердий, находившихся на лечении в УКБ№ 1 ПМГМУ им. И.М. Сеченова только 63.4% пациентов получали адекватную терапию антикоагулянтами, 24.2% получали ацетилсалициловую кислоту, в 12.4% случаев антикоагулянтная терапия не была назначена. При этом среди всех назначений примерно в 75% случаев в качестве антикоагулянта был назначен– варфарин, однако только у 21,7% больных достигнут адекватный антикоагулянтный эффект (60% и более времени пребывания в

терапевтическом диапазоне МНО 2,0-3,0) [279]. В проспективном исследовании, включавшем 243 пациента с установленными диагнозами ФП и ИБС, был проведен анализ назначаемой фармакотерапии. Всем пациентам было показано назначение антикоагулянтной терапии, однако антикоагулянты были назначены только 3,7% пациентов данной группы, 67,9% пациентам назначена антиагрегантная терапия, 28,4% больных вовсе не получали антитромботическую терапию [263]. Анализ медицинской документации одного из амбулаторных учреждений города Москва показал, что терапия варфарином назначена только 51% пациентов с постоянной формой фибрилляции предсердий, при этом целевые значения МНО были достигнуты только у 8% пациентов [223]. Недостаточная частота назначения адекватной антикоагулянтной терапии характерна и за пределами Российской Федерации – так, по результатам опроса среди более, чем 1500 пациентов с постоянной формой фибрилляции предсердий, выписанных из стационаров Австрии – 43% пациентов, госпитализированных с фибрилляцией предсердий, не получали адекватной антитромботической терапии, только 26% пациентов получали варфарин, 31% - ацетилсалициловую кислоту [206]. В США у 78% пациентов, экстренно госпитализированных с диагнозом ишемический инсульт или транзиторная ишемическая атака на фоне фибрилляции предсердий, не назначался варфарин, только у 40% пациентов терапия варфарином проводилась после выписки [54]. Кроме того, среди группы пациентов высокого и очень высокого риска тромбоэмболических осложнений только у 54% пациентов проводилась терапия антикоагулянтами, в том числе варфарином.

Полученные данные свидетельствуют о недостаточно эффективной профилактике тромбоэмболических осложнений у пациентов группы риска, что в свою очередь может привести к увеличению частоты ТЭО и как следствие инвалидизации и потери трудоспособности в том числе и пациентов трудоспособного возраста. При этом риск данных осложнений у пациентов данной группы может достигать 35% [272]. Частота ишемических инсультов у пациентов с постоянной фибрилляцией предсердий может достигать 0.5% в год у молодых пациентов и до 12% в год у пожилых пациентов [272]. Среди наиболее вероятных причин столь низкого

% адекватной проводимой антикоагулянтной терапии служит страх врачей и пациентов перед возможным возникновением кровотечений на фоне терапии антикоагулянтами, а также сложность подбора дозы и необходимостью контроля МНО на фоне терапии варфарином [279]. Решением данной проблемы может стать активное внедрение и широкое применение новых представителей данного класса препаратов – ривароксабана, дабигатрана и апиксабана в клиническую практику. Удобство их применения связано с отсутствием необходимости титрования дозы – препараты применяются в постоянной поддерживающей дозе, отсутствие необходимости соблюдения «варфариновой» диеты, быстрое развитие антикоагулянтного действия, а также удобство применения – отсутствие необходимости регулярных визитов поликлинику для контроля МНО. Однако, некоторые преимущества новых препаратов данного класса одновременно могут быть и их «слабыми» местами: короткий период полувыведения –потенциально может способствовать повышению риска тромботических осложнений при нерегулярном приеме препаратов; не требуется регулярный контроль МНО – отсутствие разработанных маркеров эффективности проводимой терапии и достижения адекватного уровня антикоагулянтного эффекта, в связи с этим невозможность быстрой и точной оценки степени гипокоагуляции в чрезвычайных ситуациях, например при необходимости выполнения экстренного оперативного вмешательства, а также жизнеугрожающих кровотечениях. Кроме того, в условиях применения данных препаратов на территории Российской Федерации лимитирующим фактором также становится высокая стоимость данных лекарственных препаратов против применения варфарина. В исследовании Колбина А.С. [241], выполненном в Санкт-Петербурге при моделировании стоимости лечения пациентов с ТЭЛА в течении 6 месяцев после эпизода тромбоза при применении ривароксабана, дабигатрана и варфарина получены следующие результаты: терапия дабигатраном была дешевле терапии варфарином и ривароксабаном на 7,76% и 5,24%, соответственно, за счёт того, что при проведении терапии варфарином наибольшие затраты были связаны с затратами системы ОМС на амбулаторном этапе по причине необходимости в регулярном контроле МНО. При этом у пациентов,

получавших терапию варфарином затраты на антикоагулянт были самыми низкими в группе [241]. Однако, в ходе данного исследования не учитывалась стоимость лечения для пациента в условиях функционирования системы здравоохранения Российской Федерации. Для пациента стоимость терапии наиболее часто определяется ценой лекарственного препарата в аптечной сети. При сравнении данного параметра стоимость месяца терапии дабигатраном для пациента может быть до 30 раз выше стоимости терапии варфарином, что объясняется отсутствием на фармацевтическом рынке воспроизведенных («генерических») препаратов группы новых пероральных антикоагулянтов. По данной причине проблема безопасности и эффективности проводимой терапии варфарином будет актуальна еще долгое время.

Одной из мер, направленных на повышение эффективности и безопасности терапии варфарином может послужить проведение фармакогенетического мониторинга пациентов, которым планируется назначение варфарина. Необходимо провести оценку эффективности внедрения фармакогенетического тестирования в условиях стационара, оценить возможность его внедрения в рутинную клиническую практику врача стационара, а также оценить влияние фармакогенетического тестирования на отдаленные результаты терапии варфарином с точки зрения эффективности и безопасности у пациентов на территории РФ. В результате проведенного исследования будет возможно оценить основные преимущества и недостатки применения современного клинико-фармакологического подхода к применению НАК, а также оценить частоту кровотечений на фоне приема НАК и контроль за антикоагулянтным эффектом у пациентов с постоянной формой ФП.

1.2 Риск тромботических осложнений у пациентов с фибрилляцией предсердий

Наиболее опасным осложнением у пациентов с ФП является развитие тромбоэмболических осложнений, до 70% которых поражает сосуды, отвечающие за адекватное кровоснабжение головного мозга, при этом частота данных эпизодов почти в 10 раз превышает частоту других ТЭО, отчасти данный феномен может быть объяснён, за счет большей частоты бессимптомных ТЭО. Также следует отметить, что у пациентов с ФП острый инфаркт миокарда может быть вызван локальным окклюзионным тромбозом [5; 92]. Многочисленные исследования показали, что риск

развития ТЭО у пациентов с ФП, неклапанной этиологии в 5 раз превышает риск ТЭО у пациентов с синусовым ритмом, а при клапанной ФП в 17 раз [206]. До 20% всех ишемических инсультов возникает по причине ТЭО на фоне фибрилляции предсердий. [25].

Первопричиной возникновения всех ТЭО при ФП является стаз крови с дальнейшим формированием тромбов в структурно измененном левом предсердии или желудочке. Наиболее частой локализацией формирования тромбов, в виду анатомических и функциональных особенностей своего строения является ушко левого предсердия – полость, конусовидной формы с неровной внутренней поверхностью, в результате чего происходит снижение скорости тока крови и формирование тромбов. По данным метаанализа 23 исследований источником тромботических осложнений у пациентов с неклапанной ФП в 91% случаев было ушко левого предсердия. Кроме того, источником формирования тромбов и ТЭО у пациентов с ФП может быть и левый желудочек (ЛЖ) [189]. Формирование тромбов при ФП носит динамический характер – наибольшую опасность представляют только сформировавшиеся тромбы, что связано с их высокой подвижностью, а, следовательно, высоким риском отрыва и окклюзии просвета сосудов. Необходимо отметить, что риск развития повторных ишемических инсультов у пациентов с ФП составляет по разным данным может достигать от 12 до 20% в течение первого года после перенесенной мозговой катастрофы [190; 132]. Данные о частоте развития ТЭО, в том числе ишемических инсультов основаны на клинических проявлениях, которые очевидно не отражают реальную частоту «тихих» ТЭО, без четкой клинической симптоматики, выявляемых только по данным проведенных клинико-инструментальных исследований. Накоплено большое количество сообщений о выявлении существенных изменений эндокарда левого предсердия с пациентов с ФП: эндокардиальный отек, утолщение эндокарда фиброзно-эластической тканью, появлением участков «оголения» эндокарда, что приводит к агрегации тромбоцитов. Несомненно, в процессе тромбообразования немаловажную роль играет нарушение синтеза NO, в результате чего происходит эндотелиальная адгезия моноцитов и тромбоцитов, что приводит к образованию тромбов [11]. Fu R. и соавторы [65]

доказали взаимосвязь повышения следующих биомаркеров и повреждения эндотелия: фактор Виллебранда, тромбомодулина и Е-селектина.

Необходимо отметить, что структурное ремоделирование предсердий при ФП также способствует развитию гиперкоагуляции, за счет замедленного тока крови и патологических изменений миокарда [10]. Немаловажную роль в генезе тромбообразования у пациентов с ФП играет активация локальной системы тромбообразования – о чем свидетельствует повышение уровня D-димера и тромбоглобулина, III и IV тромбоцитарного фактора, комплекса тромбин–антитромбин III выявляемых у пациентов с пароксизмом ФП, продолжительностью более 12 часов. Повышение маркеров гиперкоагуляции сохранялось в течение 7 дней после восстановления синусового ритма [79]. В исследовании RE-LY, в котором участвовали 6216 пациентов с ФП, показана четкая корреляция уровня D-димера и риска внезапной сердечно-сосудистой смертности, в независимости от степени риска по CHADS2. В исследовании ARISTOTLE, получены схожие результаты, доказана взаимосвязь риска ТЭО с повышенным уровнем D-димера. При нарушении равновесного состояния процессов образования фибрина/ фибринолиза нарушается динамическое равновесие между свертывающей и противосвертывающей системами что может приводить к тромбообразованию в сосудах и/или сердце [30]. В результате повреждения сосудистой стенки происходит снижение тромборезистентных свойств эндотелия в результате контакта с кровью таких лигандов как коллаген, фибронектин, фактор Виллебранда, ламинин и тромбосподин, обладающих высокой аффинностью к гликопротеиновым рецепторам IIb и IIIa. По этой причине взаимодействие поврежденной сосудистой стенки с тромбоцитами ведет к их быстрой адгезии, и высвобождению большого количества медиаторов: тромбина, тромбоксана A2, аденозиндифосфата, серотонина и адреналин. В результате их соединения с рецепторами тромбоцитов происходит агрегации адгезированных тромбоцитов, затем происходит дегрануляция тромбоцитов с последующим выделением хемотаксинов, факторов свертывания крови и вазоконстрикторных веществ [78]. Стабилизация и формирование тромба происходит под действием системы коагуляции в зоне адгезии и агрегации тромбоцитов путем продукции фибриногена в

фибрин. Выявление маркеров фибринолиза у пациентов с ФП (повышение концентрации тканевого активатора плазминогена, ингибитора тканевого активатора плазминогена и снижение уровня плазмин-антиплазминового комплекса) следует расценивать как ответ на произошедшее протромботическое осложнение [11].

Большая частота развития тромботических осложнений у пациентов с фибрилляцией предсердий несет в себе серьезные социальные и экономические последствия, что послужило основанием для проведения большого количества исследований, посвященных поиску факторов риска возникновения ТЭО и их профилактики. На основании полученных данных создаются шкалы стратификации риска развития ТЭО, определяющие тактику лечения и необходимость назначения анти тромботической терапии. По мнению экспертов европейского общества кардиологов деления рисков, на «низкие», «умеренные» и «высокие» недостаточно, поскольку данные термины не отражают истинный риск развития ТЭО у пациентов с ФП. Первая попытка разработки шкалы стратификации риска предпринята в 1993 г. в исследовании SPINAF [56]. В данном исследовании выделены следующие факторы высокого риска ТЭО: пожилой возраст, ишемический инсульт или транзиторные ишемические атаки в анамнезе артериальная гипертензия, сниженная фракция выброса левого желудочка. Также среди дополнительных факторов риска выделены: сахарный диабет, женский пол, ишемическая болезнь сердца, заместительная гормональная терапия у женщин в постменопаузе.

Европейской ассоциацией кардиологов предложена градация степени риска ФП по степени риска развития ишемического инсульта. Выделяют следующие группы пациентов:

- «большие факторы риска»: возраст ≥ 75 лет, ишемический инсульт или транзиторная ишемическая атака в анамнезе, предшествующие системные тромбоэмболии. Пациентов с сопутствующей клапанной автоматически следует относить к группе «высокого риска».
- «клинически важные небольшие факторы риска» (ранее обозначаемые как «умеренные»): сердечная недостаточность (фракция выброса ЛЖ ≤ 40 %)), артериальная гипертензия, сахарный диабет.

- Другие «клинически важные небольшие факторы риска» (ранее обозначаемые как «факторы низкого риска»): женский пол, возраст 65–74 года, сопутствующие ССЗ (инфаркт миокарда в анамнезе, ИБС, атеросклероз).

В большом количестве случаев нередко могут иметь место комбинации двух и более «клинически важных небольших факторов риска», что следует расценивать как высокий риск ТЭО [25].

В настоящее время для оценки риска ТЭО у пациентов с неклапанной ФП широко распространена и наиболее часто используется шкала CHADS2 (Cardiac Failure, Hypertension, Age, Diabetes, Stroke) и ее усовершенствованная версия - CHA2DS2-VASc [http://www.mdcalc.com/chads2-score-for-atrial-fibrillation-stroke-risk/#about-equation]. Данная шкала позволяет произвести оценку риска развития ТЭО у конкретного больного с учетом вышеперечисленных факторов. Она создана на основании данных анализа системных ТЭО у пациентов с ФП, не получавших антикоагулянтную терапию. Факторы риска и баллы для подсчета указаны на таблице 1.

Таблица 1

Расчет риска ишемического инсульта по CHA2DS2-VASc

Критерий	Количество баллов
Хроническая сердечная недостаточность	+1
Артериальная гипертензия	+1
Возраст <75 лет	+1
Сахарный диабет	+1
Ишемический инсульт или ТИА в анамнезе или ТЭО в анамнезе	+2

Хроническая сердечная недостаточность, артериальная гипертензия, возраст старше 75 лет и сахарный диабет, равны 1 баллу, а ишемический инсульт, ТИА или ТЭО в анамнезе 2 баллам. При наличии у пациента 3 баллов – риск ТЭО в течении года составляет 5.9%, 6 баллов – 18.2%. Всем пациентам, с результатами больше 2 баллов рекомендовано назначение антикоагулянтной терапии. У пациентов с ФП, с низким

риском ТЭО (набравшим 0 баллов по данной шкале) по некоторым данным сохраняется риск ТЭО до 3% в течение года, однако, данной группе пациентов достаточно назначения ацетилсалициловой кислоты. Так у пациентов с постоянной формой ФП, имеющих один балл по шкале CHADS₂-Vasc, при назначении ацетилсалициловой кислотой риск ТЭО составляет 12,9%, а у пациентов, не получавших антитромботической терапии- около 20 % [76; 113].

1.3 Основы применения антикоагулянтов непрямого действия

В начале 1920-х годов на территории США произошла неописанная ранее вспышка заболеваний среди коров: после выполнения небольших процедур, таких как подпиливание рогов, а иногда и спонтанно возникали выраженные кровотечения, от которых большая часть животных скончалась [112]. В ходе проведенных исследования в 1921 году ветеринар-патологоанатом Фрэнк Шофилд выявил, что все животные ели заплесневелый силос из сладкого клевера. В дальнейшем в ходе экспериментов Шофилд разделил нормальные и испорченные стебли клевера из одного стога сена и кормил данными образцами кроликов: состояние тех, кто поедал неиспорченные стебли не изменилось, кролики, получавшие испорченные стебли умирали от кровотечений, что было обусловлено антикоагулянтными свойствами испорченных стеблей. Само действующее вещество не удавалось выделить до 1940 года, в 1940 году Кэмпбелла выделили подробно описать полученное соединение - 3,3'-метиленбис-(4-гидроксикумарин). Первый лекарственный препарат, созданный на основе данного соединения, положивший основу класса непрямых антикоагулянтов стал Дикумарол, который был запатентован в 1941 году. В дальнейшем работы над изучением производными дикумарола были продолжены и в 1948 году синтезирован варфарин. Первые литературные данные, связанные с применением варфарина в медицинской практике описаны в 1955 году, он был назначен президенту США Дуайту Эйзенхауэру. До 1978 точный механизм действия варфарина оставался неясным, пока в ходе экспериментов не было показано, что варфарин ингибирует фермент эпоксид редуктазу и, следовательно, нарушает метаболизм витамина К.

На протяжении более 70 лет непрямые антикоагулянты являются одними из наиболее часто используемых препаратов для профилактики тромбоэмболий и

тромбозов у пациентов с высоким риском осложнений сердечно-сосудистых заболеваний. Среди всех препаратов данной группы антагонисты витамина К наиболее часто используются в клинической практике на территории Российской Федерации. Несмотря на то, что в 2009 года в Российской Федерации зарегистрированы новые оральные антикоагулянты – дабигатрана этексилат и ривароксабан, а в 2012 году аписксабан, не требующие контроля МНО при их применении варфарин остается наиболее часто назначаемым препаратом данной группы [225].

Варфарин является антикоагулянтом непрямого действия, антикоагулянтный эффект которого развивается на 5-7 день с момента начала терапии. Антикоагулянтный эффект при применении варфарина обусловлен нарушением синтеза витамин К-зависимых факторов свёртывания крови II, VII, IX и X, а также белков C, S и Z в печени [62], за счет подавления гамма-глутамил карбоксилазы, которая необходима для карбоксилирования остатков глутаминовой кислоты, отвечающей за связь факторов свертывания с фосфолипидной поверхностью эндотелия кровеносных сосудов. Реакция карбоксилирования возможна происходит путем карбоксилирования посредством фермента карбоксилаза окисленной формы витамина К (витамин К гидрохинон) в витамин К эпоксид. В дальнейшем происходит превращение витамин К эпоксид в витамин К и витамин К гидрохинон под воздействием витамин К эпоксид редуктазы (VKORC). Варфарин ингибирует эпоксид редуктазу [208], а именно VKORC1 субъединицу [173, 174], тем самым снижая концентрацию витамина К и витамин К гидрохинона в тканях, которые ингибируют карбоксилирующую активность глутамил карбоксилазы. В результате карбоксилирования предшественников факторов свертывания крови не происходит, что приводит к неспособности факторов свёртывания с эндотелиальной поверхностью кровеносных сосудов т.е. они переходят в неактивное состояние. В течение 5-7 дней запасы активных факторов заканчиваются в результате чего проявляется антикоагулянтный эффект.

Таким образом образование факторов свёртывания сохраняется, но в отсутствии декарбоксилирования их функциональность значительно снижена (PIVKA (proteins

induced [by] vitamin K absence/antagonism — белки, индуцированные отсутствием/антагонизмом витамина K)), чем и обуславливает антикоагулянтное действие варфарина.

1.4 Актуальные проблемы безопасности и эффективности проведения терапии варфарином при традиционном алгоритме дозирования варфарина

Основным методом контроля за эффективностью проводимой терапии варфарином является контроль уровня МНО [248, 249]. Появление портативных аппаратов для самоконтроля МНО дало пациентам возможность регулярного и качественного контроля МНО на фоне приема варфарина в домашних условиях, что может повысить приверженность пациентов к лечению, снизить число эпизодов гипо- и гиперкоагуляции на фоне терапии варфарином [50], а также способствовать улучшению качества жизни на фоне варфаринотерапии за счет уменьшения количества необходимых визитов в лечебно-профилактические учреждения, связанные с необходимостью контроля МНО [187].

Высокая эффективность варфарина для профилактики тромботических осложнений доказана множеством клинических исследований. Применение варфарина у пациентов с фибрилляцией предсердий может позволить уменьшить риск развития инсульта на 62 %, развития повторных эпизодов венозного тромбоза на 90 %. В послеоперационном периоде для пациентов с установленными искусственными клапанами сердца наиболее важным жизнеугрожающим осложнением является развитие тромботических осложнений, которые развиваются за счет тромбообразования на поверхности искусственного клапана, при этом риск данных осложнений без проведения адекватной антикоагулянтной терапии может достигать 22% в год [86]. Применение варфарина снижает общую смертность больных фибрилляцией предсердий на 25% [81], снижая риск инсульта и других тромботических осложнений на 67%. Применение варфарина в клинической практике у пациентов с фибрилляцией предсердий позволяет предотвратить до 40 тысяч инсультов в год, что может позволить сэкономить до 600 млн долларов ежегодно [69]. В целом применение варфарина у

пациентов группы высокого риска тромботических осложнений может позволить снизить риск тромботических осложнений на 75% [118], именно поэтому очень важно проведение адекватной и эффективной антикоагулянтной терапии у пациентов группы риска – пациентов с фибрилляцией предсердий, протезированными клапанами сердца.

Следует отметить, что при применении антикоагулянтной терапии вместе с снижением риска тромботических осложнений возможно развитие жизнеугрожающих геморрагических осложнений, что особенно часто встречается среди пациентов группы низкого уровня контроля за МНО. Частота больших кровотечений на фоне терапии варфарином может достигать 5,2% в год, среди которых по разным данным от 0,07 до 0,7% могут быть фатальными. По данным за 2003-2004 гг. в США препараты группы антикоагулянтов занимали первое место среди всех причин смертельных нежелательных явлений [5]. Малые (нежизнеугрожающие) кровотечения встречаются намного чаще - до 15% пациентов, получавших варфарин имели 1 эпизод кровотечения в год. [118]. Выделяют следующие факторы риска развития геморрагических осложнений на фоне терапии варфарином: низкая приверженность пациента к проводимой терапии (нарушение режима дозирования, нерегулярный контроль МНО, несоблюдение «варфариновой» диеты), пожилой возраст, пищевые и лекарственные взаимодействия, генетически-детерминированную чувствительность к варфарину. Тактика ведения таких пациентов при повышении МНО и возникновении геморрагических осложнений, в следствии гипокоагуляции определяется степенью тяжести гипокоагуляции, наличием потенциальных источников кровотечений и необходимостью инвазивных вмешательств [226, 227]. Рекомендована отмена антикоагулянтной терапии, введение фитоменадиона (витамина K1), введение концентрата протромбинового комплекса, рекомбинантного фактора VII и свежезамороженной плазмы. В Российской Федерации из предлагаемой схемы возможно лишь прекращение проводимой терапии варфарином и внутривенное введение свежезамороженной плазмы.

Учитывая серьезность возможных осложнений на фоне терапии варфарином, возникающих несмотря на всю жесткость лабораторного контроля, большой опыт

применения варфарина, разработанных схем подбора частота кровотечений может достигать 26%, в том числе больших и фатальных до 4,2% [77]. Главным условием профилактики кровотечений на фоне проводимой терапии варфарином служит эффективный и регулярный контроль за уровнем МНО. Проведенные клинические исследования показали, что оптимальное равновесие между эффективностью проводимой терапии и риском развития осложнений находится в 3-х диапазонах значений МНО для различных групп пациентов: МНО = 2,0-3,0 (у пациентов с фибрилляцией предсердий); 2,5-3,5 (у пациентов с протезами клапанов сердца и/или мерцательная аритмия); и в диапазоне <2 у пациентов старше 70 лет [290, 291.]. Установлено, что повышение уровня МНО выше 3.0 не дает дополнительного преимущества с точки зрения профилактики тромбоэмболических осложнений, при этом риск развития кровотечений возрастает более, чем в 2.5 раза. Риск возникновения внутричерепных кровотечений при МНО = 3,5–4,0 повышается в 4,6 раз, при повышении уровня МНО выше 4.0-6.0 риск – в 8,8 раз (у пациентов старше 70 лет – в 19,3 раза) [77; 158]. Целевой уровень МНО часто находится за пределами целевого МНО на этапе выписки пациентов из стационара – так, например, в исследовании академика РАН Петрова В.И. показано, что целевой уровень МНО (2.0-3.0) был достигнут только у 28% пациентов на госпитальном этапе, среднее число измерений МНО на госпитальном этапе составило 2.32, что по мнению автора происходит по причине неадекватных доз варфарина, а также недостаточно эффективного мониторинга МНО на госпитальном этапе [264; 265].

Важным аспектом на пути к повышению безопасности и эффективности проводимой терапии варфарином является обучение пациента, направленное на повышение информированности пациента о проводимой терапии и необходимости постоянного контроля МНО, а также контроль уровня знаний пациентов, а также повышение мотивации к проводимой терапии. На пути решения данной проблемы стоит вопрос организации и распределения рабочего времени врача, а также доступности «экспресс»-контроля уровня МНО, в том числе с помощью приборов самоконтроля МНО. По данным, полученным в сравнительном исследовании: при сравнении данных по качеству проводимой антикоагулянтной терапии при

наблюдении пациентов в условиях специализированного антикоагулянтного центра в сравнении с пациентами общей сети получены следующие результаты: частота кровотечений у пациентов, проходивших лечение в условиях специализированного отделения была значительно меньшей и составляла 8% vs 35% соответственно; частота тромбоэмболий у данной группы пациентов также была значительно ниже: 3% vs 12% соответственно; кроме того у пациентов случаи обращения за экстренной медицинской помощью и госпитализаций, связанные с осложнениями проводимой терапии варфарином наблюдались в 4 и более раз реже [32]. На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что тщательный контроль МНО, а также информированность пациента и возможность постоянного контакта с лечащим врачом может существенно повысить эффективность и безопасность проводимой терапии варфарином.

Огромную проблему, связанную с проводимой терапией варфарином составляет непредсказуемость выраженности терапевтического эффекта при стандартном режиме дозирования варфарина, что в свою очередь требует частого контроля МНО. Не смотря на простоту определения МНО, вопрос доступности мониторинга МНО стоит достаточно остро - на сегодняшний день не все лечебно-профилактические учреждения оснащены необходимым оборудованием, в связи с чем, часто результаты анализа известны только на следующий день, а в некоторых случаях и позже, что недопустимо на этапе подбора дозы варфарина [279]. Доза варфарина, у различных пациентов, требуемая для достижения «целевого» уровня МНО может сильно варьировать в диапазоне 0.5-20 мг в сутки у различных пациентов. Такая большая вариабельность дозы связана с такими индивидуальными особенностями пациентов, как возраст, пол, телосложение, сопутствующие патологии, рацион питания, совместно применяемые лекарственного препарата, генетически детерминированные изменения фармакокинетики и фармакодинамики варфарина и др. [283].

Антикоагулянтный эффект кумариновых производных обусловлен воздействием на VKORC1, который при участии -фактора НАД-Н является катализатором перехода витамина K1 эпоксида в витамин K1 гидрохинон витамин-К. K1 гидрохинон витамин-К в свою очередь является ко-фактором фермента гамма-глутарил карбоксилазы,

отвечающего запосттрансляционное у-карбоксилирование глутамат-содержащих белков из белков-предшественников [284]:

- витамин К-зависимых белков системы свертывания крови: факторов свертывания крови II (тромбин, F2), VII (F7), IX (F9), X (F10);
- компонентов противосвертывающей системы - протеинов С (циркулирует в виде профермента и активируется на эндотелии комплексом тромбин/тромбомодулин в активную форму), S и Z.
- белков костного метаболизма (BGLAP), тканевого матрикса (MGP), апоптоза (GAS6).

После всасывания из желудочно-кишечного тракта антикоагулянты, производные кумарина связываются с белками плазмы крови на 98-99%, оставшаяся часть фракции, несвязанная с белками плазмы крови остается активной. Связывание происходит при помощи кислого альфа1-гликопротеин, также обозначаемый в литературе как оросомукоид [284]. В организме кислый альфа1-гликопротеин представлен двумя изоформами: ORM1, с которым в большей степени связывается S-варфарин и S-аценокумарол и ORM2. Метаболизм стереоизомеров варфарина происходит за счет воздействия различных изоферментов [96]: активный изомер варфарина - S-варфарин подвергается метаболизму в основном за счет изофермента CYP2C9. Его малоактивный изомер - R-варфарин, метаболизуется под действием ферментов 2 фазы биотрансформации (CYP3A4 и в меньшей степени - CYP1A1, CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18 и CYP2C19).

Наиболее изученными являются «медленные» аллельные варианты CYP2C9*2 и CYP2C9*3 гена CYP2C9 (аминокислотные замены Arg144Cys и Ile359Leu, соответственно), у пациентов, носителей данных аллельных вариантов наблюдается более низкая активность CYP2C9, что в результате чего скорость биотрансформации лекарственных средств существенно снижается и возрастает их концентрации в плазме крови [250]. Активность CYP2C9 у носителей аллельного варианта *2 составляет 12 % от обычной, при этом у носителей *3 аллели ферментативная активность снижена значительно в большей степени и составляет всего 5% от нормальной [250].

Впервые, в 2005 году итальянскими учеными проведено исследование, в котором принимали участие 147 пациентов было показано, что на эффективность и безопасность при терапии варфарином, кроме CYP2C9, влияет и VKORC1, кодирующий витамин-К-эпоксидредуктазный комплекс [37]. Так у пациентов, у которых на фоне проводимой терапией варфарином возникали эпизоды чрезмерной гипокоагуляции в 93% случаев оказались носителями аллеля 1639A. Среди пациентов, у которых не удавалось достичь целевых значений МНО при применении варфарина в терапевтических дозах - в 86% были гомозиготными носителями аллеля 1639G. Частоты встречаемости этих аллелей в трех этнических группах (белые, негры, азиаты) коррелируют с межрасовыми различиями в дозах варфарина [72]. Высокая распространенность аллеля 1639A у китайцев и малайцев приводит к широкой распространенности сверхчувствительности к варфарину в этих этнических группах. Напротив, носительство аллеля 1639A крайне редко встречается у представителей негроидной расы, в связи с чем им чаще требуются высокие поддерживающие дозы варфарина [7].

Установлено, что у пациентов с генотипом AA по полиморфному маркеру G1639A при проведении терапии варфарином по традиционной схеме статистически значимо более часто отмечаются кровотечения, «выходы» за пределы терапевтического диапазона МНО [271; 283]. По результатам множества других работ, выполненных отечественными исследователями получены схожие результаты: у пациентов с выявленным полиморфизмом CYP2C9*2, CYP2C9*3 и наличием аллеля А гена VKORC1, поддерживающая доза варфарина была ниже, а целевые значения МНО достигались в более короткие сроки [222; 242; 269].

Таким образом, на фармакокинетику и фармакодинамику варфарина, кроме различных белков, значительное влияние оказывает большое количество генов, чей полиморфизм может вызывать широкую индивидуальную чувствительность к варфарину, чем и обусловлен широкий диапазон доз варфарина, требующихся для достижения целевого диапазона МНО.

1.5 Фармакогенетический подход к подбору дозы варфарина

С учетом высокого риска, сопряженного с применением непрямых антикоагулянтов, в настоящее время, основным приоритетом является повышение эффективности и безопасности, проводимой антикоагулянтной терапии, а также контроль за достижением адекватного антикоагулянтного эффекта. С этих позиций наиболее перспективным представляется применение фармакогенетического мониторинга с целью подбора дозы варфарина, с учетом индивидуальных особенностей пациента, что должно способствовать уменьшению сроков подбора дозы после инициации терапии варфарином, а также уменьшению частоты эпизодов выхода МНО за пределы терапевтического диапазона. На основании полученных результатов исследований, показавших взаимосвязь носительства различных генов с выраженностью эффекта варфарина F.Gage и соавторами [69; 70] был разработан алгоритм выбора дозы варфарина на основании результатов фармакогенетического мониторинга. Калькулятор расчета дозы в соответствии с использованием данного алгоритма размещен на сайте <http://warfarindosing.org>.

По данным современных исследований проведение фармакогенетического подхода у пациентов, которым планируется назначение варфарина может позволить практически трехкратно снизить частоту развития эпизодов чрезмерной гипокоагуляции, а также вдвое снизить количество госпитализаций по поводу кровотечений и тромботических осложнений [271; 283; 284]. В течении последних 20 лет в большом количестве исследований, в том числе в британском исследовании, включавшем 714 пациентов влияние генетики показано, что проведение фармакогенетического тестирования позволяет достаточно точно предсказать начальную дозу варфарина при проведении фармакогенетического мониторинга, включающего определение генотипов гена VKORC1, кодирующий молекулу-мишень варфарина (носительство аллеля А по полиморфному маркеру G-1639A) и CYP2C9, отвечающий за биотрансформацию активного изомера варфарина (носительство аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3) [203; 204]. В исследованиях, посвященных изучению влияния носительства аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 на фармакокинетику, фармакодинамику, эффективность и безопасность

варфарина у здоровых добровольцев установлено, что носительство «медленных» аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 ассоциировалось с более высокими концентрациями S-варфарина и снижением его клиренса [125]. Риск развития кровотечений у группы пациентов, носителей CYP2C9*2 и CYP2C9*3 до 3-х раз выше, чем у пациентов, у которых данный полиморфизм не обнаружен [257].

Таблица 2

Распространенность полиморфных вариантов CYP2C9 среди представителей различных популяций [172]

Популяция	n	*1	*2	*3
Турки	499	79.4	10.6	10
Русские	290	72.6	10.5	6.7
Хорваты	177	83.9	12.4	3.7
Испанцы	157	69.5	14.3	16.2
Французы	151	77	15	8
Бельгийцы	121	82.2	10	7.4
Бразильцы	331	84.9	8.6	6.5
Бенинцы	111	95.5	0	0
Мексиканцы	169	86	8	6
Египтяне	247	82	12	6
Канадцы	114	91	3	6
Инуиты	151	100	0	0
Южные индийцы	346	88	4	8
Китайцы	394	96.3	0.1	3.6
Японцы	140	98.9	0	1.1
Корейцы	574	98.9	0	1.1
Вьетнамцы	157	97.8	0	2.2

Как видно из таблицы 2 частота выявления полиморфных вариантов CYP2C9 *2 и *3 среди различных этносов значительно варьирует. Полиморфные варианты *2

и *3 практически не встречаются у азиатов, жителей северной Америки – инуитов, но довольно сильно распространены среди европейской популяции – испанцев – 14.3% и 16.2%, бельгийцев – 10% и 7.4%, французов – 15% и 8% [Ro172]. По данным различных исследований до 32% пациентов российской популяции являются носителями полиморфных вариантов *2 и *3 гена CYP2C9, что обуславливает высокую актуальность применения фармакогенетического мониторинга среди российских пациентов [227]. М. Higashi выполнено ретроспективное исследование, в которое включено 185 пациентов, получавших варфарин [85]. Период наблюдения составил 13 месяцев. Установлено, что носительство хотя бы одной мутантной аллели CYP2C9 ассоциировано со значительно более высоким риском кумуляции варфарина и его передозировки (отношение рисков (OR) 1,40; 95% ДИ: 1,03-1,90), а также увеличением разброса диапазона поддерживающих доз варфарина (OR 0,65; 95% ДИ: 0,45-0,94), а также со значительным повышением риска «больших» и «малых» кровотечений (OR 2,39; 95% ДИ: 1,18-4,86) [85].

Средняя доза варфарина, требующаяся для достижения целевых значений МНО была выше у пациентов, носителей генотипа GG (7,0 мг) гена VKORC1, чем у пациентов с генотипом GA (5,1 мг, $p < 0,001$) и AA (3,7 мг; $p < .001$). Пациентам, носителям генотипа GG также требовалась большая доза варфарина (6,9 мг), чем пациентам носителям аллели GA (5,2 мг; $p < 0.05$) или генотипом AA (5,3 мг, $p = 0,065$). Доза варфарина, необходимая для достижения терапевтического диапазона МНО была значительно выше у пациентов, носителей генотипа 1173GG VKORC1 или 1 гаплотипа CYP2C9. В исследовании Wadelius M., включавшего 201 пациента, показано, что носительство различных генотипов гена VKORC1 может объяснить до 29-30% вариабельности дозы варфарина [205]. Похожие данные получены и в исследовании Rieder M. – до 25% случаев вариабельности терапевтического ответа на проводимую терапию варфарином объяснялись носительством различных генотипов VKORC1. Частота встречаемости генотипа А гена VKORC1 в различных этнических группах представлена в таблице 3.

Таблица 3

Распространенность аллеля А гена VKORC1 в различных этнических группах

Популяция	n	Частота аллеля А (%)	Источник
Англичане	297	47	Sconce E.A. et al., 2005
Испанцы	105	52	Montes R. et al., 2006
Китайцы	95	91	Yuan H.Y. et al., 2005
Немцы	200	42	Geisen C. et al., 2005
Французы	263	42	Bodin L. et al., 2005
Шведы	201	39	Wadelius M. et al., 2005
Японцы	93	93	Kimura R. et al., 2006, 2007
Японцы	260	89	Obayashi K. et al., 2006

С учетом невозможности переноса этих данных на пациентов российской популяции принято решение о проведение отечественного исследования Варфаген, в котором принимали участие 232 пациента из Москвы, Вятки, Нижнего Новгорода, Новосибирска, Челябинска, Санкт-Петербурга, Архангельска, которое завершилось в 2013 году. Продолжительность исследования составила 6 месяцев. По результатам исследования было продемонстрировано преимущество применения фармакогенетического подхода к дозированию варфарина: применение данной методики позволяло достичь сокращения достижения целевых значений МНО, снижения частоты развития чрезмерной гипокоагуляции, снижение частоты «больших» кровотечений. Установлено, что чрезмерно быстрые темпы достижения антикоагулянтного эффекта в большинстве случаев было связано с носительством аллельных вариантов CYP2C9 2*2, 3*3 или 2*3, а также генотипа AA гена VKORC1 или их одновременным носительством. Кроме того, показано, что даже однократный прием амиодарона, который часто назначается пациентам в связи с пароксизмами фибрилляции предсердий оказывает значительное влияние на дозу варфарина, в течение 30 дней до назначения варфарина оказывает значительное влияние на дозу варфарина, необходимую для достижения целевых значений МНО. Частота носительства генотипов VKORC1 и CYP2C9, влияющих на чувствительность к

варфарину составила 60,9% и 31,8% соответственно. При этом частота комбинаций с наибольшей чувствительностью к варфарину AA VKORC1 +CYP2C9*2/*2 +CYP2C9*3/*3 + CYP2C9*2/*3 достигла 19,37% [226].

В крупном обзоре, Verhoef T.I., опубликованном в 2013 году проведен мета-анализ и обзор зарубежных исследований, по результатам которых также показана тесная взаимосвязь между выявленным полиморфизмом CYP2C9 и VKORC1 и выраженностью антикоагулянтного эффекта на фоне терапии варфарином [202]. В масштабном шведском исследовании, включавшем 1053 пациента, показано, что полиморфизмом VKORC1 и CYP2C9 определяется ~30% и ~ 12% вариабельности дозы варфарина соответственно. В исследовании Гаврисюк и соавторов, целевое МНО было достигнуто у 100% пациентов, у которых применялось фармакогенетическое тестирование, в то время как в группе контроля целевой уровень МНО достигнут лишь у 40% пациентов [223]. Через месяц после начала терапии эпизоды повышения МНО>3 у пациентов группы контроля встречались в 6.5 раз чаще, чем у пациентов, прошедших фармакогенетический мониторинг. Показатель TTR в основной группе составил 79%, и 32% в группе контроля соответственно. В дальнейшем контроль МНО осуществлялся 1 раз в месяц, без предварительного звонка врача в группе контроля ежемесячно проходили проверку 8% больных (3 человека), что подчёркивает важность быстрого и максимально точного подбора доз при начале терапии варфарином, так как это может приводить к снижению нежелательных явлений при приеме варфарина у пациентов, которые не проводят регулярный контроль МНО. Коэффициент корреляции между расчетной на основании результатов проведенного фармакогенетического мониторинга и подобранной дозой варфарина составил 0,93, что указывает на высокую точность применения данного метода. [223]. Кох Н.В. проведено похожее исследование в группе из 34 пациентов (по 17 человек в каждой). У пациентов, у которых подбор дозы варфарина проводился на основании фармакогенетического алгоритма подбора дозы удавалось достичь терапевтического диапазона МНО в среднем на 5 дней раньше, чем при традиционном алгоритме дозирования. Частота эпизодов повышения МНО, выше 3,5, также была ниже у пациентов, к которым применялся

фармакогенетический подход (3,1 и 7,7% соответственно, $p = 0,03$). У пациентов, носителей аллельных вариантов CYP2C9 *2 и *3 отмечалась большая лабильность показателей МНО на протяжении курса терапии варфарином, а также увеличение сроков подбора дозы варфарина [247]. В исследовании EU-РАСТ UK, включавшем 455 пациентов в 2-х группах проведен сравнительный анализ результатов применения традиционного и фармакогенетического подхода к дозированию варфарина. В качестве одной из первичных точек оценки эффективности выбрано время нахождения пациента в пределах терапевтического диапазона МНО, которое составило 60.3% и 67.4% соответственно, кроме того у пациентов второй группы требовалось меньшее время для достижения целевых значений МНО. В группе пациентов, прошедших фармакогенетическое тестирование не зарегистрировано ни одного случая повышения МНО выше 4.0. В проспективном исследовании Я.В. Новиковой, включавшем 2 группы пациентов – 150 пациентов, у которых применялся традиционный алгоритм дозирования варфарина и 156, у которых выбор дозы был основан на результатах фармакогенетического мониторинга. У пациентов группы, прошедшей фармакогенетическое тестирование, удалось достичь сокращения сроков подбора дозы варфарина, кроме того, частота выхода МНО за пределы терапевтического диапазона у данной группы пациентов было значительно меньшим [257]. В сравнительном проспективном исследовании Карасева А.В. показано, что применение фармакогенетического тестирования в условиях стационара приводило к сокращению сроков госпитализации пациентов, а также увеличению числа пациентов, выписанных из стационара с достижением целевого диапазона МНО [227].

Активное внедрение фармакогенетического тестирования, для пациентов, которым планируется назначение варфарина, в клиническую практику может значительно снизить затраты на оказание медицинской помощи у данной группы пациентов. Затраты на оказание медицинской помощи пациентам, прошедших фармакогенетическое тестирование были значительно меньше по сравнению с группой контроля и составили 263.05 и 506.66 рублей на человеко-месяц соответственно [284]. Однако, следует отметить, что полученные данные были

рассчитаны на основании стоимости выполнения фармакогенетического тестирования 850 рублей, в то время как стоимость выполнения данного исследования в ряде лабораторий может достигать 12000 рублей, что при данной стоимости не может обеспечить экономии средств на оказание медицинской помощи [284].

Таким образом, по имеющимся данным применение фармакогенетического тестирования может существенно повысить безопасность и эффективность проводимой терапии варфарином, однако, для более точной оценки целесообразности внедрения данного метода в рутинную клиническую практику врачей на территории Российской Федерации требуется проведение масштабных отечественных исследований у пациентов. С учетом данных, полученных в большом количестве исследований, частота носительства полиморфных вариантов генов, влияющих на терапевтический эффект применяемой фармакотерапии, может сильно варьировать в различных популяциях необходима разработка методических рекомендаций по применению фармакогенетического тестирования с учетом оценки данных параметров в популяции различных субъектов Российской Федерации.

В данном исследовании впервые на территории Российской Федерации проведена оценка эффективности внедрения фармакогенетического подхода к дозированию варфарина в рутинную клиническую практику с точки зрения оценки влияния данной методики на отдаленные результаты лечения пациентов.

1.6. Современный подход и особенности проведения гиполипидемической терапии

Сердечно-сосудистые заболевания(ССЗ) на сегодняшний день остаются одной из ведущих причин заболеваемости и смертности по всему миру, в том числе и на территории Российской Федерации [258], по данным Федеральной службы государственной статистики смертность от ССЗ на территории РФ занимает первое место в общей структуре смертности населения и составляет более 50% от всех случаев смертности населения в т.ч. ДТП и травм [228]. Снижение смертности от сердечно-сосудистых заболеваний находится на одном из первых мест среди задач

реализуемой в РФ государственной программы «Развитие здравоохранения» [267]. Наиболее эффективной стратегией снижения смертности от ССЗ является снижение уровня артериального давления и липидного обмена. Назначение препаратов группы статинов для коррекции липидного обмена считается одним из главных подходов к профилактике и лечению сердечно-сосудистых заболеваний, а также предотвращении коронарных и цереброваскулярных катастроф [12; 142]. Как было указано выше назначение препаратов группы статинов показано всем перенесшим острый всем пациентам с ишемической болезнью сердца вне зависимости от исходного уровня общего холестерина и липопротеинов низкой плотности (уровень доказательности А), кроме того, в рекомендациях Европейского общества кардиологов указано, что больным артериальной гипертонией без явных признаков атеросклеротического поражения сосудов, но с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений (вероятность развития неблагоприятных исходов $\geq 20\%$ в течение 10 лет) также возможно лечение статинами, даже если у пациентов определяется нормальный уровень ЛПНП и общего холестерина [255]. В метаанализе Brugts, включавшем 10 исследований крупных исследований (70388 человек) показано снижение общей смертности при применении статинов (коэффициент риска 0,88, доверительный интервал 0,81-0,96), кроме того доказана достаточно высокая безопасность длительного применения статинов [22].

Однако, не смотря на доказанную высокую эффективность статинов частота их назначения на территории РФ относительно невысока, не только у больных с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений, но и у пациентов с ИБС, а также других заболеваний в патогенетической основе которых лежит атеросклеротическое поражение сосудов. По мнению профессора Маколкина В.И. [255] наиболее вероятно это связано с:

- низкой приверженностью к терапии статинами (отсутствие достаточного количества времени у врача и неосведомленностью пациента о целях и пользе липидснижающей терапии;
- стремлением к краткому «курсовому» приему статинов со стороны пациентов;

- назначением низких, зачастую малоэффективных доз препарата, что связано с опасением врачей (в большинстве случаев необоснованным) получить побочные эффекты.

Кроме того, важной проблемой остается длительный и регулярный прием данной группы препаратов, однако среди российской популяции пациентов по данным Шальной С.А. через 3 года после начала терапии статинами прием статинов продолжают менее 6% больных, при этом целевые значения ЛПНП достигаются только у трети пациентов [295].

Учитывая высокую частоту назначения статинов в низких, неэффективных дозах, Национальным обществом по изучению атеросклероза [294] проведена экспертная оценка проблема. Эксперты констатировали крайне низкую частоту назначения статинов, применение низких доз статинов, а также крайне низкую частоту (4%) достижения целевых уровней ХС ЛПНП ($<1,8$ ммоль/л). Основной причиной названы опасения врачей относительно развития побочных эффектов на фоне терапии статинов, особенно риск развития поражения скелетной мускулатуры. а также то, что для достижения целевых значений ЛПНП требуется индивидуальный подход к выбору оптимальных доз статинов.

Как было показано в 2-х исследованиях, выполненных Young F. и Ford E. смертность от осложнений сердечно-сосудистых заболеваний возможно сократить от 44% до 60% с помощью проведения профилактических мероприятий, направленных на уменьшение и степень выраженности факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [60; 214], а также своевременной диагностике и лечении данных заболеваний. Среди основных факторов риска развития осложнений сердечно-сосудистых заболеваний следует выделить артериальную гипертензию, гиперлипидемии, сахарный диабет, ожирение, курение табака, злоупотребление алкоголем, малоподвижный образ жизни [214. Среди пациентов российской популяции следует среди основных причин высокой заболеваемости и смертности от сердечно-сосудистых заболеваний можно выделить: [60]:

- высокую распространенность факторов риска сердечно-сосудистой патологии и отсутствие мультидисциплинарного системного подхода к профилактике и сокращению распространенности факторов риска среди пациентов;
- отсутствие достоверных статистических данных об эпидемиологии и структуре заболеваемости сердечно-сосудистыми заболеваниями;

За последние несколько лет в России отмечается тенденция к снижению смертности от заболеваний сердечно-сосудистой системы, однако данный показатель все еще существенно превышает развитые страны, например, страны Европейского Союза, где данный показатель из расчета на 100000 населения среди мужчин и женщин существенно ниже (573 против 81 и 173 против 28, соответственно) [258]. Основными причинами смертности в структуре общей смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации являются ишемическая болезнь сердца и цереброваскулярная болезнь. В возрастной группе 25-64 лет смертность от сердечно-сосудистых заболеваний может достигать 74.9% среди мужчин и 72.2% среди женщин [295]. Аналогичные данные получены и в США, где смертность от ишемической болезни сердца и цереброваскулярной болезни среди мужчин и женщин по состоянию на 2009 год составляет 69 % (52% и 17% соответственно [Heart Disease and Stroke Statistics – 2009]. В Фремингемском исследовании доказана прямая корреляция между смертностью населения от ССЗ и уровнем холестерина в плазме крови. По этим причинам были инициирован ряд исследований, в ходе которых предпринимались попытки снижения уровня ЛПНП, общего холестерина у пациентов. Первоначально с этой целью использовались немедикаментозные методы лечения (диета, изменение образа жизни, отказ от курения, коррекция метаболических нарушений). Результаты исследования Oslo Study, проведенном в 1981 году показали, что соблюдение и отказ от курения приводило к снижению уровня общего холестерина крови у пациентов в среднем на 13%, и снижало вероятность развития инфаркта миокарда на 47%.

1.7 Применение статинов для профилактики осложнений сердечно-сосудистых заболеваний с точки зрения оценки соотношения польза/риск на фоне их применения

Статины ингибируют фермент гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазу и в течении последнего десятилетия стали ключевыми препаратами в лечении атеросклероза и предотвращении коронарных и цереброваскулярных катастроф. Статины являются препаратами первой линии для снижения уровня ЛПНП и общего холестерина. Прием статинов при отсутствии противопоказаний рекомендован всем пациентам, перенесшим острый коронарный синдром с подъемом /без подъема ST, независимо от исходного уровня ЛПНП [228]. По рекомендациям Европейского обществом кардиологов статины должны назначаться всем больным ишемической болезнью сердца, независимо от уровня холестерина и ЛПНП (уровень доказательности А). Плацебо-контролируемое исследование ASCOLT-LLA, в котором проведено сравнение применения аторвастатина с плацебо было досрочно прекращено в связи со снижением числа конечных точек исследования в группе аторвастатина, но результатов его достоверного влияния на общую смертность за 3 года наблюдения получено не было. В исследовании WOSCOPS, в котором принимали участие мужчины в возрасте 45-64 лет со средним уровнем общего холестерина в крови $7,0 \pm 0,6$ ммоль/л без перенесенного инфаркта миокарда в анамнезе [28] установлено, что назначение правастатина в дозе 40 мг в сутки достоверно снижало 5-летний риск смерти от ИБС и инфаркта миокарда на 35%. Результаты мета-анализа, проведенного Brugts и соавторами [22], включавшего данные 10 исследований (70388 человек) показали, что применение статинов существенно снижает риск смерти от коронарных цереброваскулярных событий. Впервые показано снижение общей смертности при применении статинов (коэффициент риска 0,88, доверительный интервал 0,81-0,96), также доказана достаточно высокая безопасность длительного применения статинов. Высокая эффективность гиполипидемического действия статинов доказана в большом количестве международных многоцентровых исследований: WOSCOPS, MIRACL, CARE, CARDS, GALAXY, ASCOTT-LLA, REVERSAL, ASTEROID, JUPITER, 4S;

Наиболее эффективными препаратами для коррекции липидного обмена являются препараты группы статинов [12]. В исследованиях показано, что применение статинов в течение 3-6 лет снижает риск развития инфаркта миокарда, нестабильной стенокардии и смертельных исходов на 25-30% [89; 134; 182; 35; 46; 179].

Однако, по данным различных исследований до 37% пациентов не достигают снижения значений ЛПНП и общего холестерина до целевых значений, таким образом терапия статинами у данной группы пациентов оказывается неэффективной [176]. Основными проблемами, приводящими к неэффективности терапии статинами являются: несоблюдение пациентами рекомендуемой гиполипидемической диеты, нерегулярный прием статинов, опасения врачей перед возможным развитием нежелательных явлений на фоне проводимой терапии статинами и как следствие назначение низких, неэффективных доз статинов, самостоятельное прекращение приема препаратов пациентами, а также возникновение нежелательных явлений (в том числе «мышечных» симптомов). В то время как эффект статинов в снижении уровня общего холестерина, ЛПНП и, следовательно, в снижении риска осложнений сердечно-сосудистых заболеваний сохраняется только при длительном (многолетнем) постоянном приеме. По этой причине важным условием на пути к повышению эффективности проводимой терапии статинами является постоянная работа с пациентом, в том числе с целью формирования представления о необходимости постоянного лечения и невозможности прохождения курсового лечения, а также возможность постоянного контакта пациента с лечащим врачом. Таким образом решение данных задач лежит в основе повышения эффективности проводимой терапии статинами, а также приверженности пациентов к лечению.

Проблемы безопасности при применении статинов

Не смотря на в целом хорошую переносимость статинов пациентами, статин-индуцированная миопатия и повышение печеночных трансаминаз могут ограничивать их применение у некоторых пациентов. Частота развития миопатий (в основном миозит-миалгии) может достигать 9% [150]. Данные больных, включенных в различные регистры, свидетельствуют о том, что от 7 до 29% пациентов предъявляют жалобы на развитие симптомов поражения мышц на фоне проводимой

терапии статинами [20; 24; 34; 217; 51]. «Мышечные» симптомы обычно сопровождаются нормальным или повышенной концентрацией КФК, при этом наиболее вероятно возникновение «мышечных» симптомов во многом обуславливает высокую частоту прекращения приема статинов. По данным Chodick G. до 75% пациентов прекращают прием статинов в течение 2 лет после начала терапии [33]. По результатам исследования Cohen J.D., основанном на опросе 10138 пациентов, у 65% пациентов главной причиной несоблюдения рекомендованного режима приема статинов послужило возникновение «мышечных» симптомов [34]. На основании вышеописанной информации можно сделать вывод о том, что высокая распространенность статин-индуцированного поражения мышц оказывает значительное отрицательное влияние на отдаленные результаты терапии статинами. В 2013 году опубликованы результаты масштабного ретроспективного исследования, включавшего более 46 тысяч пациентов, получавших препараты группы статинов. Терапия статинами была ассоциирована с повышением риска поражения мышечной ткани на 19% ($p < 0,001$), дислокаций, растяжений и вывихов на 13% ($p = 0,001$), риска возникновения жалоб на боли в мышцах на 9% ($p = 0,02$) [275].

Статин-индуцированная «самолимитирующая» миопатия, которая исчезает на фоне прекращения приема статинов, является наиболее частым побочным эффектом препаратов данной группы и встречается с частотой до 10%. Степень выраженности мышечных симптомов может варьировать от миалгии, средней степени выраженности до явного рабдомиолиза, который разрешается спустя недели или месяцы после прекращения приема статинов. При выполнении биопсии мышцы обычно выявляется 2 тип атрофии волокон, некроз мышечных волокон или заполненные липидами вакуоли внутри мышечных волокон. Обширный анализ генома показал тесную взаимосвязь между риском развития статин-индуцированной миопатии (на фоне приема 40-80 мг симвастатина) и носительством полиморфизма одиночного нуклеотида rs4363657, расположенном на интроне 11 SLCO1B1 на хромосоме 12. Этот ген кодирует органический анион-транспортирующий полипептид ОАТР1В1, который расположен на синусоидальной мембране гепатоцитов, отвечающий за захват гепатоцитами различных ЛС, включая статины и

кислоты статинов. Аллель «С» гена *SLCO1B1* может позволить разделить пациентов на группы риска возникновения статин-индуцированной миопатии, так шанс ее развития составляет 18% у пациентов, гомозиготных по данной аллели. В исследовании Mikko Niemi [151] показано значимое влияние выявления носительства определенных полиморфных вариантов *SLCO1B1* на фармакокинетику правастатина – у мужчин с генотипом с.521СС среднее значение $AUC_{0-\infty}$ было выше на 274%, чем у пациентов с генотипом с.521ТТ и на 102%, чем у носителей генотипа с.521ТС. У женщин, носителей данных генотипов данные показатели были выше на 147% и 142% соответственно. При этом данных о влиянии полиморфизма *SLCO1B1* на фармакокинетику флувастатина не получено. В исследовании Tornio A. [198] сходные данные получены и для симвастатина [160]– у пациентов, носителей генотипа с.521СС C_{max} была выше на 162% и 200% выше, чем у носителей генотипа с.521ТТ и с.521ТС соответственно. Также описано влияние носительства полиморфных вариантов с.521ТТ и с.521ТС гена *SLCO1B1* на фармакокинетику аторвастатина и розувастатина, причем его полиморфизм в наибольшей степени изменяет фармакокинетику аторвастатина, чем липофильного розувастатина [198]. Частота носительства медленного аллельного варианта гена *SLCO1B1**5 в европейской популяции по разным данным варьирует и может составлять от 15% до 21.6% [23]. Как указано выше, носительство медленных аллельных вариантов *SLCO1B1* может существенно увеличивать концентрацию статинов в плазме крови, что является фактором риска развития статин-индуцированной миопатии. В настоящее время на территории США, в инструкцию по применению розувастатина включена информация о влиянии носительства полиморфных вариантов с.521ТТ и с.521ТС на его фармакокинетику. В соответствии с рекомендациями Американской ассоциации кардиологов критерии диагностики статин-индуцированной миопатии включают:

- бессимптомное повышение КФК: стойкое повышение КФК без симптомов мышечной слабости и других мышечных симптомов;
- миалгия без повышения КФК;
- миопатия/миозит без подъёма КФК;

- статин-индуцированный рабдомиолиз: повышение КФК более чем в 10 раз от максимальных значений, повышение креатинина и эпизодическая миоглобинурия (появление коричневого цвета мочи);
- статин-индуцированная некротизирующая аутоиммунная миопатия: редкая прогрессирующая миопатия без признаков значительного мышечного воспаления.

Свое название статин-индуцированная некротизирующая аутоиммунная миопатия получила ввиду патологических особенностей, выявляемых при гистологическом исследовании мышечной ткани и тесной взаимосвязи с появлением аутоантител к анти-гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазе, а также необходимостью проведения иммуносупрессивной терапии. При проведении электромиографии и биопсии мышц определяются признаки некротизирующей миопатии, антитела к гидроксиметилглутарил-КоА-редуктазе. Статин-индуцированная некротизирующая аутоиммунная миопатия (СИНАМ) встречается с частотой 1 случай на 100000 человек, чаще у женщин. В 2-х исследованиях выявлено, у пациентов старше 50 лет 58% и 73% составили пациенты женского пола.

Основными симптомами СИНАМ являются симметричная проксимальная слабость рук или ног, распространенные миалгии, в некоторых случаях сопровождающиеся дисфагией или артралгией. Диагностические критерии СИНАМ указаны в Таблице 4.

Таблица 4

Основные клинические признаки статин-индуцированной некротической аутоиммунной миопатии

Симптомы	Симметричная проксимальная слабость рук или ног ,распространенная миалгия , с или без дисфагией или артралгией
Мышечные ферменты	Высокий КФК (значение > 10 верхних границ референтных значений)
ЭМГ	"Болезненная" миопатия совместно с некротической миопатией

Биопсия мышц	Некротические мышечные волокна без значительного воспалительного инфильтрата вокруг клетки ненекротических волокон; диффузные или фокальные до регулирования МНС в ненекротических волокнах
МРТ	Мышечный и фасциальный отек, атрофия и жировой резонанс, замена изображения

В 2007 году Needham M. и соавторами опубликованы данные о 8 пациентах, у которых диагностированы признаки миопатии на фоне приема статинов, однако, данные симптомы сохранялись и после отмены статинов, при этом выраженность данных симптомов уменьшилась только на фоне начатой иммуносупрессивной терапии глюкокортикостероидами. В 2010 году Grable-Esposito опубликованы данные наблюдений, включавшие 25 пациентов с мышечными симптомами – мышечной слабостью, повышением КФК и признаками СИНАМ без значительных признаков воспаления мышечной ткани по данным биопсии. На фоне отмены статинов не отмечено прекращения вышеописанных симптомов, мышечные симптомы также регрессировали только на фоне начатой иммуносупрессивной терапии. По различным данным свою эффективность в лечении СИНАМ показали преднизолон, метотрексат, азатиоприн, микофенолятмофетилем, ритуксимаб, циклоспорин и внутривенное введение иммуноглобулинов. Случаи СИНАМ описаны на фоне проводимой терапии различными статинами, такими как симвастатин, ловастатин, правастатин, флувастатин и аторвастатин, в виду этого наиболее вероятным представляется, что данный побочный эффект связан общим патогенетическим механизмом, а не взаимосвязан с применением какого-то отдельного препарата данной группы. Указанные случаи развития СИНАМ могли развиваться у пациентов с различной продолжительностью проводимой терапии статинами: через несколько месяцев или несколько лет после начала терапии. Только у половины больных данные симптомы возникали в течение первого года лечения. Патогенез СИНАМ в настоящее время неясен, однако все большее внимание в патогенезе их развития отводится роли генетического полиморфизма. У всех пациентов с прогрессирующей мышечной слабостью и / или выраженным

повышением КФК несмотря на фоне прекращения приема статинов нужно предполагать возможность развития статин-индуцированной некротизирующей аутоиммунной миопатии.

1.8 Патогенез развития статин-индуцированной миопатии

Роль коэнзим-Q10 в патогенезе статин-индуцированной миопатии

Коэнзим-Q10 открыт Crane и коллегами в 1957 году, представляет собой жирорастворимый хинон, расположенный на гидрофобной части клеточных мембран. Практически половина от всего количества CoQ10, содержащегося в теле человека поступает вместе с пищей, остальная часть образуется путем эндогенного синтеза. CoQ10 участвует в транспорте электронов во время окислительного фосфорилирования в митохондриях, защищая их от оксидативного воздействия свободных радикалов и участвует в восстановлении активных форм антиоксидантов – аскорбиновой кислоты и токоферола. Активно обсуждается роль CoQ10 в развитии поражения мышц на фоне терапии статинами [13]. Транспорт CoQ10 главным образом происходит с помощью ЛПНП. Выявлено, что на фоне назначения статинов в тромбоцитах и лимфоцитах происходит снижение уровня CoQ10, также статины ингибируют синтез пиррофосфата – промежуточного продукта синтеза CoQ10, а также синтез фарнезил пиррофосфата, который является промежуточным продуктом в синтезе CoQ10. На основании этих данных и известной роли CoQ10 в процессе энергосинтеза в митохондриях выдвинуто предположение о том, что дефицит CoQ10 участвует в патогенезе статининдуцированной миопатии [40; 145].

В 1990 году опубликованы данные 2-х исследований, в ходе которых показано, что статины снижают уровень циркулирующего CoQ10 у крыс и человека [209; 59]. С тех пор проведено 6 рандомизированных клинических исследований, в которых продемонстрировано, что статины снижают уровень CoQ10 плазмы крови по разным данным в диапазоне от 16 до 54% [73; 13; 38; 145; 40; 98]. В масштабном исследовании Davidson, включавшем 1049 пациентов отмечено снижение уровня CoQ10 плазмы крови на 38% и 27% после начала лечения аторвастатином в дозе 10-20 мг в сутки и ловастатином в дозе 20-40 мг в сутки соответственно. Снижение

уровня CoQ10 в крови на фоне терапии статинами также приводит к снижению уровня ЛПНП. Транспорт CoQ10 осуществляется с помощью ЛПНП ($58 \pm 10\%$), ЛПВП ($26 \pm 8\%$) и ЛПОНП+ ЛПСНП ($16 \pm 8\%$). В исследованиях на животных также показано, что статины могут снижать уровень убихинона в сердечной мышце и печени [66; 131].

Вполне ожидаемо, что, если дефицит CoQ10 приводит к развитию статиновой миопатии, его уровень в скелетной мускулатуре должен быть снижен. Однако, назначение симвастатина или правастатина в высокой дозе более 50 мг/кг в сутки в течение 14 дней не уменьшало концентрацию убихинона в скелетной мускулатуре животных, получавших любой из препаратов. Похожие данные получены и при исследовании на кроликах, у которых применялся симвастатин – данных о влиянии симвастатина на уровень убихинона скелетной мускулатуры не получено [66]. При исследовании у людей у группы пациентов, получавших ловастатин в дозе 20 мг в сутки концентрация CoQ10 в мышцах через 4 недели применения препарата, оказалась на 47% выше [110].

Влияние статинов на уровень CoQ10 в мышцах может иметь дозозависимый эффект. В 2005 году в исследовании, в которое включены пациенты, получавшие симвастатин в дозе 80 мг в сутки, аторвастатин 40 мг в сутки или плацебо в течение 8 недель показано снижение уровня CoQ10 в мышечной ткани на 34% в группе пациентов, получавших симвастатин [157]. Также назначение высокой дозы симвастатина приводило к снижению активности дыхательной цепи митохондрий миоцитов, выдвинуто предположение, что при исходно низком уровне CoQ10 до начала терапии статинами, начатая терапия статинами может значительно снижать содержание CoQ10 в плазме и тканях.

Также опубликованы данные исследований, в которых проводилось изучение уровня CoQ10 у пациентов с зарегистрированными случаями миопатии. У 47% пациентов (у 17 из 36 пациентов), с предполагаемой статин-индуцированной миопатией, выявлено снижение уровня CoQ10 в 2 и более стандартных отклонений от средних значений [191]. Не до конца ясно, но возможно, что снижение уровня CoQ10 в мышцах обусловлено снижением физической активности пациентов со статин-индуцированными миопатиями в следствии развития мышечных симптомов.

Следует предположить, что если снижение уровня CoQ10 приводит к развитию статин-индуцированной миопатии, то это также может отражаться и на снижении функции митохондрий. В исследовании на животных получены данные, что применение ловастатина 20 мг 2 раза в сутки у гвинейских свинок снижало степень фосфорилирования аденозиндифосфата в митохондриях кардиомиоцитов и миокарде [42]. Эти изменения наблюдались по большей части у старших животных – старше 2-х лет и не наблюдались у животных в возрасте 2-4 месяцев, подтверждая возможную зависимость развития миопатии от возраста пациента. Pinieux и соавторы исследовали отношение лактата к пирувату сыворотки крови у людей как непрямого маркера функции митохондрий. У пациентов, получавших статины соотношение лактат/пируват было выше у людей с гипертрилицеридемиями вне зависимости получали они статины или нет [41]. Таким образом влияние статинов на функцию митохондрий в данном исследовании не установлено. В ряде других исследований также использована гипотеза о влиянии терапии статинами на митохондриальную функцию. При выполнении биопсии мышц у 4 пациентов со статин-индуцированной миопатией, не смотря на нормальный уровень КФК, обнаружена митохондриальная дисфункция, увеличение внутримышечного содержания липидов, уменьшение окрашивания оксидазы цитохрома, повреждение красных мышечных волокон. У 3-х пациентов проведена повторная биопсия мышц после отмены статинов, при которой не обнаружены гистологические аномалии [163]. В 2004 году опубликованы результаты еще одного сравнительного исследования Phillips P. S. [163], в котором принимало участие 16 здоровых добровольцев, которые получали аторвастатин в дозе от 5 до 10 мг в сутки в течении 6 недель. Проведен сравнительный анализ результатов нагрузочных аэробных упражнений здоровых добровольцев с группой пациентов с возникшими миопатиями на фоне терапии статинами, сопровождающиеся подъемом уровня КФК. Статины не оказывали влияния на $VO_2 \max$ у здоровых пациентов, однако значительно снижали его уровень у пациентов с миопатиями, также у этой группы пациентов был значительно удлинен восстановительный постнагрузочный период. Авторы интерпретировали результаты своего исследования как влияние статинов на ухудшении жирового метаболизма у здоровых добровольцев и развитие

миопатий у пациентов, имевших нарушение в жировом метаболизме до лечения статинами, приводящее к осложнениям со стороны мышечной ткани.

В противопоставление данным о митохондриальной дисфункции у пациентов со статиновой миопатией Marcoff и соавторы [133] проанализировали 18 сообщений с данными биопсий у пациентов, у которых зафиксировано развитие миопатии на фоне приема статинов. Только у 2 пациентов выявлен сниженный уровень CoQ10 в мышечной ткани и незначительные признаки митохондриальной дисфункции в виде уменьшения окрашивания оксидазы цитохрома, а также незначительного повреждения красных мышечных волокон. Laaksonen R. [110] проведено исследование концентрации аденозинтрифосфата и других фосфатов с высоким энергетическим потенциалом в скелетных мышцах пациентов исходно до назначения статинов и спустя 6 месяцев после начатой терапии симвастатином в дозе 20 мг в сутки по результатам которого значимых отличий не обнаружено. Lamperti C. также выдвинуто предположение о связи между развитием статиновой миопатии с умеренным снижением содержания CoQ10 в мышечной ткани. При этом, при проведении биопсии мышц у большей части пациентов с доказанной статиновой миопатией не выявлены гистохимические или биохимические признаки поражения митохондрий, а также морфологических признаков апоптоза мышечной ткани. При определении концентрация CoQ10 в мышцах различий с контрольной группой пациентов не получено. В ряде исследований показано, что дополнительное назначение CoQ10 пациентам может увеличивать уровень CoQ10 в крови у пациентов, получавших терапию статинами и уменьшение выраженности симптомов статин-индуцированной миопатии у пациентов, получавших высокие дозы статинов [59; 143].

Ловастатин изначально разработан как потенциально противоопухолевый препарат при его применении в высоких дозах до 45 мг/кг массы тела. Среди 56 онкологических пациентов, получавших 7-дневные курсы ловастатина в дозе 2-45 мг/кг массы тела в сутки на протяжении 2,5 лет, дополнительное назначение CoQ10 240 мг в сутки не снижало частоту развития статин-индуцированной миопатии, но уменьшало выраженность симптомов миопатии по градуированной

шкале, которая включала продолжительность миалгии и степень повышения КФК [195]. В другом исследовании 7 пациентов с аденокарциномой желудка получали ловастатин в дозе 35 мг/кг/сутки последовательно в течение 7 дней. На фоне проводимой терапии всем пациентам дополнительно назначен CoQ10 в дозе 240 мг в сутки, на фоне чего только у 2 пациентов отмечено появление миалгии и мышечной слабости, а также повышение уровня КФК. [103]. Young J.M. [215] проведено рандомизированное исследование, включавшее 44 пациента с дислипидемиями, с предшествующими в течение 12 недель статин-индуцированными миопатиями в анамнезе. Все пациенты получали возрастающие дозы симвастатина от 10 до 40 мг в сутки и CoQ10 в дозе 240 мг в сутки или плацебо. Уровень CoQ10 плазмы крови был выше у пациентов, получавших CoQ10, однако по шкале выраженности миалгий и переносимости статинов не выявлено значимых различий между двумя группами пациентов.

Вмешательство статинов в продукцию CoQ10 подтверждало гипотезу, о том, что дефицит CoQ10 может играть роль в развитии статин-индуцированных миопатий. Хотя статины снижают уровень циркулирующего CoQ10 этот эффект стремится к нулю в результате снижения уровня CoQ10 в ЛПНП и в общем холестерине.

Таким образом, на сегодняшний день, с учетом накопленного большого количества данных возможная связь между дефицитом CoQ10, возникающей на фоне проводимой терапии статинами и риском развития статин-индуцированных миопатий остается сомнительной.

Дефицит витамина D и его роль в патогенезе статин-индуцированной миопатии

Витамин D синтезируется кожей под воздействием на кожу ультрафиолетового света, в основе чего лежит 2 гидроксильных процесса, первый из которых происходит в печени, в результате которой проформа 25-гидроксивитамина D (25(OH) D), а затем в почках происходит гидроксилирование витамина D под действием 1- α гидроксилазы, продуцируемой клетками почек и мышечной ткани.

Дефицит витамина D достаточно распространен в популяции в целом. Более, чем у 90% темнокожих пациентов и пациентов азиатского происхождения в США выявлен дефицит витамина D. Среди белого населения США дефицит витамина D

достигает 75% [2]. Установлено, что низкий уровень 25(OH)D связан с развитием миозитов и снижением функции мышечной ткани [162]. В мышечных клетках содержатся рецепторы к витамину D, которые отвечают за эффективность работы мышечной ткани [128].

В настоящее время активно обсуждается роль дефицита витамина D как одной из причин, лежащих в основе развития миопатии на фоне терапии статинами. Опубликованы данные, что развитие статин-индуцированных миопатий может быть обусловлено дефицитом витамина D. В исследовании у группы, включавшей 21 пациента с симптомами миопатии, вызванными приемом статинов выявлен дефицит витамина D, терапия статинами была отменена. В дальнейшем у 15 пациентов предпринята попытка возобновления терапии статинами на фоне назначения препаратов витамина D, на фоне чего отмечена хорошая переносимость терапии статинами. Только у 1 пациента сохранялись слабовыраженные мышечные симптомы, не требующие отмены статинов [124]. Проведен ретроспективный анализ 64 историй болезни пациентов с гиперлипидемиями, получавших препараты группы статинов. У 39 пациентов (61%) в дальнейшем зарегистрированы миалгии, что в большинстве случаев было ассоциировано с дефицитом витамина D. Ahmed W. [3] проведено исследование по определению уровня 25(OH) D у 621 пациента, получавших статины, среди которых у 128 выявлены мышечные симптомы, при этом уровень витамина D у пациентов с миопатиями был достоверно ниже, чем у бессимптомных пациентов. Lee P. [115] опубликовано сообщение о 11 пациентах со статин-индуцированной миопатией, у 8 из них выявлена недостаточность витамина D, у 3 выраженный дефицит витамина D. После восстановления нормального уровня витамина D 6 пациентов продолжили терапию статинами в прежних дозах, у 4 из 6 пациентов не отмечено никаких симптомов миалгий по меньшей мере в течение 6 месяцев после возобновления терапии. В исследовании Glueck C., [74] включавшем 2360 пациентов с гиперхолестеринемией у 1263 пациентов выявлен дефицит витамина D (54%). Среди 1263 пациентов 775 пациентов получали статины, из них у 223 терапия статинами была прекращена по причине возникновения мышечных симптомов. Выполнено исследование уровня витамина D у 150 пациентов данной

группы – у всех пациентов уровень витамина D был снижен, после инициации терапии витамином D в течение 3 недель в дозе 50000 ЕД терапия статинами возобновлена. У 131 пациента не отмечено никаких симптомов миопатии, у 19 пациентов повторно возникли миалгии и другие мышечные симптомы.

На сегодняшний день ряд исследователей рекомендует проводить определение уровня 25(ОН)D пациентам, которым планируется назначение статинов, а также пациентам, у которых возникли жалобы на миалгии на фоне проводимой терапии статинами т.к. это может улучшить переносимость терапии, дать возможность возобновления терапии у пациентов с непереносимостью статинов в анамнезе [74]. Однако, несмотря на то, что по этим данным возможно предположить, что дефицит витамина D играет важную роль в патогенезе статин-индуцированных миопатий, в ходе дальнейших исследований установлено, что частота развития миопатий у пациентов с низким и нормальным уровнем 25(ОН)D примерно одинакова (59 и 63% соответственно) [124]. Таким образом роль дефицита витамина D в патогенезе развития поражения мышц на фоне проводимой терапии статинами не до конца ясна и нуждается в дальнейшем исследовании.

1.9 Роль генетических факторов в патогенезе поражения мышечной ткани на фоне терапии статинами. Фармакогенетический подход в профилактике миопатии на фоне терапии статинами

В настоящее время установлена взаимосвязь генетической предрасположенности к развитию симптомов поражения мышц на фоне приема статинов. Несмотря на то, что генетическое тестирования у пациентов с миопатией развивается нечасто, в ряде исследований показано, что носительство полиморфных вариантов SLCO1B1. По данным обзора, опубликованного Canestaro W. статин-индуцированная миопатия связана в большей степени именно с полиморфизмами гена SLCO1B1 [26]. В исследовании SEARCH Collaborative Group [180] показано, что отношение шансов развития миопатии составил 4,5 (95% доверительный интервал [ДИ], от 2,6 до 7,7) для носителей аллеля С и 16,9 (95% ДИ 4,7 до 61,1) для носителей СС аллеля по сравнению с ТТ гомозиготами. Более 60% случаев миопатий на фоне

приема симвастатина развивались у носителей аллельного варианта СС. Взаимосвязь носительства rs4149056 (1*5) с развитием миопатии подтверждена в исследовании при приеме 40 мг симвастатина в сутки, кроме того в исследовании также показана взаимосвязь носительства rs4149056 и выраженностью снижения уровня холестерина в ответ на назначение симвастатина [126]. Известно, что носительство хотя бы одной аллели С по аллельному варианту SLCO1B1*5 (T521C) повышает риск развития миопатий на фоне применения статинов в несколько раз [29; 124]. Также описаны случаи развития статин-индуцированных миопатий и при приеме других препаратов группы статинов, например, аторвастатина в дозе более 20 мг [39]. Существует специально разработанная шкала выбора максимально безопасной дозы статинов в зависимости от носительства различных генотипов по SLCO1B1*5 (таблица 4) [15]. На основании вышеописанных данных видно, что существуют тесная взаимосвязь между носительством аллельных вариантов SLCO1B1 и риском развития миопатий.

Всего по состоянию на 1 января 2015 года в мире опубликовано более 800 научных статей, посвященных вопросам влияния генетических факторов и фармакогенетики и на эффективность и безопасность проводимой терапии при применении статинов. Среди них опубликованы данные 166 исследований, 25 из которых посвящено роли SCLCO1B1 (15%). Ген SLCO1B1 кодирует полипептид OATP1B1 – мембранный белок, отвечающий за транспорт органических анионов, принимающий участие в выделении статинов в желчь. [250]. У пациентов, носителей отдельных аллельных вариантов SLCO1B1 отмечается более высокий риск развития нежелательных лекарственных реакций вплоть до развития рабдомиолиза и статин-индуцированной некротизирующей аутоиммунной миопатии [29]. Частота развития миопатий регистрируется у 60% носителей аллельного варианта SLCO1B1*5, при применении высоких доз статинов [126].

По данным, полученным на основании анализа 20 исследований, среди которых 1 исследование, включавшее более 18000 тысяч участников нежелательные лекарственные реакции на фоне применения статинов у пациентов, носителей полиморфного варианта с.521СС нежелательные явления развивались в 2 раза чаще, чем у остальной популяции пациентов. Необходимо отметить, что в большинстве

исследований более высокая частота развития миопатий у пациентов носителей полиморфизма SLCO1B1 с.521CC выявлялась при применении симвастатина, чем при применении розувастатина/аторвастатина [120; 90]. В исследовании, выполненном Branham, показано увеличение риска развития мышечных симптомов у пациентов, носителей аллельного варианта с.521CC, получавших симвастатин (ОШ 3,2, $p>0.05$), сходные данные получены Carr и соавторами [29] - риск развития миопатий у пациентов носителей с.521CC (ОШ 2,08, $p>0.05$) значительно выше, чем у носителей других аллельных вариантов, при этом риск был существенно выше при применении симвастатина (ОШ 3,23, $p>0.05$), а применение аторвастатина не приводило к повышению риска развития миопатии (ОШ 0,693, $p>0.05$). В исследованиях применения симвастатина в дозе 40 мг у пациентов носителей аллеля CC площадь под фармакокинетической кривой симвастатина была выше на 221% по сравнению с носителями генотипа TT rs4149056, получавшими аторвастатин 20 мг или розувастатин 40 мг. Эти изменения объясняются более медленным захватом статинов в печени, обусловленным генетическим полиморфизмом. [167] В исследовании Mikko Niemi [151] показано значимое влияние полиморфизма SLCO1B1 на фармакокинетику правастатина – у мужчин с генотипом с.521CC среднее значение $AUC_{0-\infty}$ было выше на 274%, чем с генотипом с.521TT и на 102%, чем у носителей генотипа с.521TC. У женщин на 147% и 142% соответственно. При этом данных о влиянии полиморфизма SLCO1B1 на фармакокинетику флувастатина не получено. В исследовании Tornio A. [198] сходные данные получены и для симвастатина [160]– у пациентов, носителей генотипа с.521CC C_{max} была выше на 162% и 200% выше, чем у носителей генотипа с.521TT и с.521TC соответственно. Также влияние полиморфизма SLCO1B1 описано для аторвастатина и розувастатина, причем его полиморфизм в наибольшей степени изменяет фармакокинетику аторвастатина, чем липофильного розувастатина [198]. В масштабном ретроспективном исследовании, включавшем 816 пациентов, со статин-индуцированными миопатиями показано, что носительство с.521CC аллеля SLCO1B1 ассоциировано с непереносимостью статинов, при этом увеличение дозы статинов приводило к повышению частоты нежелательных явлений на фоне проводимой терапии, повышенному риску миопатий [43].

Marcianti K.D. показана взаимосвязь между носительством SLCO1B1*5 и повышенным риском развития рабдомиолиза на фоне применения церивастатина [135].

Таблица 5

Максимальные безопасные дозы статинов с учетом выявленного генотипа SLCO1B1 [286]

	<i>c.521TT</i>	<i>c.521TC</i>	<i>c.521CC</i>
Симвастатин	80 мг в сутки	40 мг в сутки	20 мг в сутки
Аторвастатин	80 мг в сутки	40 мг в сутки	20 мг в сутки
Правастатин	80 мг в сутки	40 мг в сутки	40 мг в сутки
Розувастатин	40 мг в сутки	20 мг в сутки	20 мг в сутки
Флувастатин	80 мг в сутки	80 мг в сутки	80 мг в сутки

Частота выявления ТС и СС аллелей среди пациентов российской популяции может достигать по разным данным от 30 до 45 %. В исследовании Шуева Г.Н., включавшем 1071 пациента выявлена следующая частота выявления полиморфных вариантов SLCO1B1 - частота выявления генотипа ТТ составила 62% (651 пациент), ТС у 32 (346 пациентов), СС у 6% пациентов (60 пациентов) [298]. Похожие данные также получены Сироткиной А.М., среди 389 пациентов в возрасте $52,47 \pm 12,27$ лет, частота выявления генотипа ТС составила 29%, генотипа СС – в 4% случаев. [273]. Петрова В.И. и соавторы выполнили обследование 258 пациентов, с диагнозом Ишемическая болезнь сердца, которым были назначены препараты группы статинов. Среди опрошенных пациентов, 12%(31 пациент) отмечали жалобы на боли в мышцах, с высокой степенью достоверности связанные с приемом статинов. Проведено исследование аллельных вариантов SLCO1B1*5: в I группе было обнаружено 18 (58%) носителей С-аллеля (генотипы ТС и СС), во II — 10 (37%), в III — 3 (5%), все случаи выявления высоких значений общей КФК выявлены в 1 группе выявлены у носителей С аллеля, в 3 группе у 3 из 4 пациентов с повышенным уровнем КФК также выявлен С-аллель. Кроме того, на основании анализа историй болезни сделан вывод о том, что предиктором развития статин-индуцированной миопатии является длительность применения статинов более 12 месяцев и применение высоких доз статинов. [264].

В исследовании Солодун М.В. получены данные, на основании которых выдвинуто предположение о том, что выполнение фармакогенетического

тестирования может не только повысить безопасность терапии статинами, но и выполнять роль предиктора ответа на лечение. В исследование включено 65 пациентов, перенесших острый инфаркт миокарда, в возрасте от 45 до 75 лет, которым назначена терапия аторвастатином в стационаре, проведено исследование полиморфизма SLCO1B1. При обследовании через 3 месяца после начала терапии аторвастатином у носителей генотипа SLCO1B1 c.521CC не было выявлено достоверного снижения уровня ЛПНП ($p > 0,05$), в то время как пациенты, носители TT и TC генотипов показали статистически значимое снижение ЛПНП ($p < 0,05$). Общая частота выявления генотипов составила: TT – 55,3% ($n=36$), TC – 37,0% ($n=24$), CC – 7,7% ($n=5$); аллель T – 73,8%, аллель C – 26,2% [277]. В крупном метаанализе, выполненном Postmus I. с соавторами в 2014 году, включавшем данные, полученные в ходе 6 рандомизированных (8421 пациент) и 10 обсервационных исследований (10175 пациентов) показано значительное влияние полиморфизма SLCO1B1 на эффективность липидснижающей терапии: у пациентов, носителей минорного аллеля rs2900478 регистрировалась менее выраженное снижение уровня ЛПНП. У пациентов, носителей минорного аллеля rs445925 отмечено более быстрое и выраженное снижение ЛПНП [167].

В работе Соловкиной Ю.В. показано, что наиболее значимыми факторами риска развития статин-индуцированной миопатии являются: длительность применения статинов на протяжении более 12 месяцев (отношение шансов 7,7, $p=0,0002$), прием высоких доз статинов, женский пол (отношение шансов 1,88, $p=0,23$), а также носительство C аллеля гена SLCO1B1 (отношение шансов 2,37, $p=0,0732$), при этом носительство аллельного варианта SLCO1B1*5 является достоверно значимым предиктором статин-индуцированного поражения мышечной ткани у пациентов, принимающих статины на протяжении более 12 месяцев ($p = 0,0028$), вне зависимости от дозы статинов [276]. Мышечные симптомы, достоверно связанные с приемом статинов, имели ряд отличий: симптомы возникали в течение первого года терапии статинами (отношение шансов 2,5; $p=0,0841$), также регистрировалось усиление болевого синдрома при увеличении доз статинов [276].

Выполнение фармакогенетического мониторинга с целью выявления носительства аллельных вариантов SLCO1B1, изменяющих фармакокинетику статинов рекомендовано Экспертами Европейского научного фонда для всех пациентов, которым планируется назначение препаратов группы статинов. Кроме того, в настоящее время FDA рекомендовано ограничить применение симвастатина в дозе 80 мг в сутки т.к. риск развития миопатий при применении симвастатина в дозе 80 мг в сутки составляет 0.9% по сравнению с 0.02% у пациентов, у которых применялся симвастатин в дозе 20 мг в сутки. [57]. Кроме того, на территории США, в инструкцию по применению к симвастатину включены рекомендации по проведению фармакогенетического тестирования, носителям SLCO1B1*5 рекомендовано ограничение дозы до 40 мг в сутки, а гомозиготным носителям до 20 мг в сутки.

Таблица 6

Плейотропные эффекты статинов [178.;279].

Тип клеток	Плейотропный эффект	Аторвастатин	Флувастатин	Ловастатин	Питавакстатин	Правастатин	Розувастатин	Симвастатин
Тромбоциты	Снижение активации Снижение агрегации	Да	Да Да		Да Да		Да	
Эндотелиальные клетки	Увеличение экспрессии/активности eNOS			Да	Да			
	Снижение перекисного окисления		Да		Да		Да	Да
	Увеличение предшественников клеточной продукции эндотелия	Да						Да
Гладкомышечные клетки стенки сосудов	Снижение пролиферации					Да	Да	Да
	Снижение миграции						Да	Да
	Увеличение апоптоза	Да	Да	Да	Да	Да		Да
Макрофаги/моноциты	Снижение пролиферации						Да	Да
	Снижение матричной металлопротеиназы					Да	Да	

	Снижение уровня окисленных ЛПНП			Да	Да			
Внутрисосудистое воспаление	Снижение уровня большого гистосовместимого комплекса-2	Да	Да	Да	Да	Да		
	Снижение уровня С-реактивного белка		Да	Да	Да	Да	Да	

Описанные выше изменения могут приводить к повышению частоты нежелательных лекарственных явлений у носителей с.521СС генотипа, а также к изменению фармакокинетики препаратов, что в свою очередь может приводить к снижению плеiotропных свойств статинов (Таблица 6). В исследовании Хохлова А.А. показано, что носительство генотипа ТС по аллельному варианту SLCO1B1*5 было ассоциировано с увеличением проявлений плеiotропных эффектов при применении аторвастатина: у пациентов, носителей полиморфного варианта ТТ уровень IL-6 был в 2,9 раза выше, чем у пациентов с генотипами СС и СТ.

На текущий момент фармакогенетическое тестирование в рутинной клинической практике при назначении статинов используется нечасто, несмотря на то, что применение данной методики может дать возможность определить максимальные безопасные дозы препаратов у отдельных больных, и как следствие снизить частоту развития статин-индуцированных миопатий, а также дать возможность прогнозирования ответа на назначенную гиполипидемическую терапию. Для оценки целесообразности проведения фармакогенетического мониторинга у пациентов, получающих статины целесообразно выполнение отечественных исследований, направленных на оценку частоты носительства полиморфных вариантов гена SLCO1B1, а также отдаленных результатов фармакогенетического мониторинга у данной группы пациентов с точки зрения влияния носительства определенных полиморфных вариантов SLCO1B1 на отдаленные результаты эффективности и безопасности проводимой терапии статинами.

Таким образом, в настоящее время проведено огромное количество исследований, в которых показано значительное влияние генетических факторов на выраженность фармакологического ответа у каждого отдельного пациента. Полиморфизм генов может оказывать огромное влияние на скорость биотрансформации некоторых лекарственных препаратов, а также значительно изменять их фармакокинетику и фармакодинамику, что в свою очередь может обуславливать повышение частоты развития нежелательных лекарственных явлений на фоне их применения, а также приводить к неэффективности проводимой фармакотерапии.

Кроме того, внедрение фармакогенетического тестирования в рутинную клиническую практику может существенно повысить эффективность проводимой терапии и приверженность к лечению со стороны пациентов. Повсеместное распространение фармакогенетического тестирования в рамках программы усовершенствования медицинской помощи в РФ может привести к уменьшению расходов на медицинскую помощь, повышению качества медицинской помощи населению. Однако, для оценки целесообразности внедрения фармакогенетического мониторинга в рутинную практику врача клинициста необходимо проведение масштабных отечественных исследований.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Общая схема исследования

В исследование и дальнейший анализ включены пациенты, проходившие лечение в Центре Персонализированной Медицины ГKB №23 им. И.В. Давыдовского. В основе выполнения работы лежит проведение клинического исследования, в которое было включено 2 группы пациентов – I группа - пациенты, которым было показано назначение варфарина по поводу неклапанной фибрилляции предсердий (90 пациентов), II группа - пациенты, которым было показано назначение статинов в связи с имеющейся гиперхолестеринемией и/или ишемической болезнью сердца (259 пациентов). Перед началом лечения у всех пациентов выполнялось фармакогенетическое тестирование. У пациентов I группы помимо стандартного спектра лабораторно-диагностических исследований проводилось исследование полиморфных вариантов CYP2C9 и VKORC1, на основании чего проводился дальнейший подбор поддерживающей дозы варфарина с помощью онлайн калькулятора на сайте <http://www.warfarindosing.org/Source/Home.aspx> Пациентам II группы, которым планировалось назначение статинов проводилось определение полиморфных вариантов SLCO1B1. В дальнейшем для оценки эффективности отдаленных результатов проведения фармакогенетического мониторинга, его возможного влияния на эффективность и безопасность проводимой терапии проведено анкетирование пациентов по телефону с помощью специально разработанных анкет-опросников, в случае необходимости пациентам предлагалось проведение очной консультации и выполнение всех необходимых клинико-лабораторных исследований.

Заключительным этапом работы стал опрос врачей-терапевтов и кардиологов, как основной группы врачей, к которым наиболее часто обращаются пациенты с нозологиями, при которых показано применение статинов и/или непрямых антикоагулянтов, с целью изучения осведомленности врачей о возможности и показаниях к проведению фармакогенетического тестирования, а также доступности фармакогенетического тестирования в лечебно-профилактических учреждениях города Москвы.

2.2 Характеристика пациентов I группы. Анализ эффективности и целесообразности внедрения фармакогенетического тестирования при применении варфарина по сравнению с традиционным алгоритмом дозирования

В первую группу включено 90 пациентов с высоким риском развития тромбоэмболических осложнений (с пароксизмальной и постоянной формой фибрилляции предсердий; с тромбоэмболическими осложнениями в анамнезе), проходивших лечение в отделении персонализированной медицины ГКБ №23 им. И.В. Давыдовского за период 2014-2015 гг., которым планировалось назначение варфарина. Выполнение фармакогенетического тестирования рекомендовано FDA, для всех пациентов, которым планируется назначение варфарина [Table of Valid Genomic Biomarkers in the Context of Approved Drug Labels. URL: <http://www.fda.gov>]. Пациентам проводился забор венозной крови для определения полиморфных вариантов CYP2C9 и VKORC1, на основании чего производился расчет стартовой и поддерживающей доз варфарина. Расчет дозы варфарина осуществлялся с учетом данных фармакогенетического тестирования на основе калькулятора, опубликованного на сайте <http://warfarindosing.org/>. В дальнейшем проведен анализ следующих показателей: срок госпитализации, потребовавшийся для достижения целевых значений МНО, количество шагов титрования варфарина, общее количество измерений МНО, эпизоды повышения МНО выше эффективного терапевтического диапазона (2.0-3.0), а также сопоставление реальной применяемой дозы варфарина с предсказанной дозой, определенной на основе расчетов программы на сайте <http://warfarindosing.org/>.

Со всеми пациентами проводились обучающие беседы, направленные на повышение уровня знаний пациентов о проводимой терапии и мотивации к дальнейшему лечению, включавшие информацию о проводимом лечении, возможных осложнениях проводимой терапии, факторов, влияющих на результаты проводимой терапии, а также особенности контроля лечения и режима приема и дозы принимаемого препарата.

После выписки из стационара проводилось анкетирование пациентов группы, прошедших фармакогенетическое тестирование (ФГ «+») по телефону с помощью

специально разработанных анкет-опросников с целью оценки эффективности проводимой терапии, а также оценки контроля над антикоагулянтным эффектом для чего проведена оценка следующих показателей – необходимость коррекции подобранной дозы варфарина, наличия эпизодов выхода МНО за границы терапевтических значений, возникновения эпизодов гипо-, гиперкоагуляции, отмены варфарина, госпитализаций, связанных с приемом варфарина, возникновения тромбоэмболических осложнений на фоне проводимой терапии варфарином, а также общего самочувствия пациентов, соблюдения рекомендованного режима контроля МНО. При необходимости и согласии пациента, пациенты приглашались для очной консультации и дообследования.

Критерии включения пациентов в исследование:

- Пациенты мужского и женского пола 18 лет и старше;
- Наличие показаний к проведению антикоагулянтной терапии (неклапанной фибрилляции предсердий, эпизоды тромбозов в анамнезе);

Критерии не включения пациентов в исследование:

- Наличие противопоказаний к назначению варфарина, согласно действующей инструкции по медицинскому применению препарата (http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=7b6820ff-c4a5-4594-a08d-01c771c3de0b&t=);

-Проводимая терапия варфарином или другими оральными антикоагулянтами на момент включения в исследование;

- Невозможность забора или трудности при заборе крови из кубитальной вены;
- Наличие онкологических заболеваний;
- Алкоголизм или наркозависимость;
- Психические заболевания, недееспособность;
- Беременность, период лактации;
- Трудности при проглатывании таблеток.

Средний возраст пациентов на момент включение в исследование составил 69.87 ± 7.6 лет. В исследовании участвовало 55 пациентки женского пола (61.1%) и 35

пациентов мужского пола (38.88%). В таблице 7 представлена нозологическая характеристика пациентов, включенных в исследование.

Таблица 7

Нозологическая характеристика пациентов первой группы (ФГ «+»)

Диагноз.	N=90
Артериальная гипертония, n (%)	78 (86.6%)
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	79 (87.7%)
Сахарный диабет 1 и 2 типа, n (%)	20 (22.2%)
Нарушение ритма(пароксизмальная и постоянная форма фибрилляции предсердий) , n (%)	90 (100%)
Ожирение, n (%)	50 (55.5%)
Стеатоз печени, n (%)	49 (54.4%)

У всех пациентов данной группы (ФГ «+») (100%) начата терапия варфарином по поводу постоянной или пароксизмальной формы фибрилляции предсердий, наибольшую часть представляли пациенты с диагнозом артериальная гипертония – 86.6% и ишемическая болезнь сердца 87.7%, среди сопутствующих заболеваний наиболее часто регистрировались ожирение – у 55,5%, стеатоз печени -54.4%, а также сахарный диабет 1 и 2 типа – у 22.2%.

В качестве группы сравнения проанализированы данные архивных историй болезней пациентов, у которых применялся традиционный алгоритм дозирования варфарина (ФГ «-»). Всего в анализ включено 70 человек, использованы данные историй болезней пациентов, проходивших лечение в терапевтическом отделении ГКБ №23 им. И.В. Давыдовского за период 2013-2014 гг., соответствовавших следующим критериям:

- Пациенты мужского и женского пола в возрасте 40-85 лет.

- Пациенты с высоким риском развития тромбоэмболических осложнений (с пароксизмальной и постоянной формой фибрилляции предсердий; с тромбоэмболическими осложнениями в анамнезе).
- Пациентам начата терапия варфарином на этапе стационарного лечения.
- Отсутствие противопоказаний к назначению варфарина.

Подбор поддерживающей дозы варфарина у данной группы пациентов осуществлялся с учетом данных инструкции по применению варфарина (http://grls.rosminzdrav.ru/Grls_View_v2.aspx?routingGuid=7b6820ff-c4a5-4594-a08d-01c771c3de0b&t=), по так называемому «традиционному» алгоритму дозирования.

При выполнении анализа истории болезни учитывались следующие параметры:

- Количество измерений МНО.
- Койко-день, на который достигнуты целевые значения МНО (2.0-3.0).
- Среднее количество «шагов» титрования дозы варфарина.
- Средняя начальная доза варфарина.
- Средняя подобранная доза варфарина.
- Количество пациентов, которых МНО при выписке было <1.5; <2.0 и >3.0 и >4.0.
- Отмена варфарина по различным причинам.

Средний возраст пациентов на момент включения в исследование составил 68.91 ± 8.2 лет. Проанализированы данные 70 историй болезни: 44 пациентов женского пола (62.8%) и 26 мужского пола (37.2%). В таблице 8 представлена нозологическая характеристика пациентов, включенных в исследование.

Таблица 8

Нозологическая характеристика пациентов группы сравнения (ФГ «-»)

Диагноз.	N=70
Артериальная гипертония, n (%)	63 (90%)
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	61 (87.14%)
Сахарный диабет 1 и 2 типа, n (%)	13 (18.5%)

Нарушение ритма (пароксизмальная и постоянная форма фибрилляции предсердий) , n (%)	70 (100%)
Ожирение, n (%)	34 (48.5%)
Стеатоз печени, n (%)	37 (52.85%)

У всех пациентов группы сравнения (ФГ «-») (100%) проводилась терапия непрямыми антикоагулянтами по поводу постоянной или пароксизмальной формы фибрилляции предсердий, наибольшую часть представляли пациенты с диагнозом артериальная гипертензия – 90% и ишемическая болезнь сердца 87.14%, среди сопутствующих заболеваний наиболее часто регистрировались ожирение – у 48.5%, стеатоз печени -52.85%, а также сахарный диабет 1 и 2 типа – у 18.5%.

Таблица 9

Сравнительная характеристика пациентов основной группы и группы сравнения

	ФГ «+»	ФГ «- »	P
Возраст	69.87±7.6	68.91±8.2	НД*
Пол (м/ж)	55/35	44/26	НД
ФП	90 (100%)	70 (100%)	НД
ИБС	79 (87.7%)	61 (87.14%)	НД
АГ	78 (86.6%)	63 (90%)	НД
Ожирение	50 (55.5%)	34 (48.5%)	НД
Стеатоз печени	49 (54.4%)	37 (52.85%)	НД
НД – недостоверно.			

При сравнительном анализе исходных клинических данных пациентов двух групп (ФГ «-» и ФГ «+»), сделан вывод об отсутствии достоверных отличий между группами по исходным оцениваемым показателям (таблица 9), таким образом сделан вывод о том, что сравниваемые группы сопоставимы.

2.3 Характеристика пациентов II группы. Оценка эффективности и целесообразности применения фармакогенетического тестирования у пациентов, принимающих статины

В исследование включено 259 пациентов с гиперхолестеринемией и/или ишемической болезнью сердца, проходивших, проходивших лечение в отделении персонализированной медицины ГKB №23 им. И.В. Давыдовского за период 2014-2015 гг.

Критерии включения пациентов в исследование:

- Пациенты мужского и женского пола 18 лет и старше;
- Наличие показаний к проведению гиполипидемической терапии статинами;

Критерии не включения пациентов в исследование:

- Наличие противопоказаний к назначению статинов;
- Проводимая терапия любым из препаратов группы статинов на момент включения в исследование или менее, чем за 30 дней до включения в исследование;
- Невозможность забора или трудности при заборе крови из кубитальной вены;
- Наличие онкологических заболеваний;
- Алкоголизм или наркозависимость;
- Психические заболевания, недееспособность;
- Беременность, период лактации;
- Трудности при проглатывании таблеток;

Пациентам проводился забор венозной крови для выполнения фармакогенетического тестирования – определения полиморфных вариантов SLCO1B1 с целью изучения распространенности полиморфизма SLCO1B1 у населения города Москвы, а также возможного влияния носительства определенных полиморфных вариантов гена SLCO1B1 на эффективность и безопасность проводимой терапии статинами как на первоначальном этапе, так и с точки зрения отдаленных результатов проводимой терапии. Кроме того, у пациентов регистрировался исходный уровень следующих показателей биохимического анализа крови: КФК, АЛТ, АСТ, общий холестерин, триглицериды ЛПНП, ЛПВП. В дальнейшем с целью оценки отдаленных результатов после выписки из стационара

проводилось анкетирование пациентов по телефону с помощью специально разработанных анкет-опросников, направленных на выявления «мышечных» симптомов, возникших на фоне применения статинов, а также при их наличии возможной взаимосвязи данных симптомов с проводимой терапией статинами, проводилась оценка динамики биохимических показателей крови (КФК, АЛТ, АСТ, общий холестерин, триглицериды ЛПНП, ЛПВП), общего самочувствия пациентов, а также оценка соблюдения рекомендованного режима дозирования статинов и оценки изменения качества жизни после начала терапии статинами. При необходимости и желании пациента, пациенты приглашались для очной консультации и дообследования.

Средний возраст пациентов на момент включения в исследование составил 66.6 ± 9.16 лет. В исследование включено 163 пациента женского пола (62.9%) и 96 пациентов мужского пола (37.1%). В таблице 10 представлена нозологическая характеристика пациентов, включенных в исследование.

Таблица 10

Нозологическая характеристика пациентов, получавших статины

Диагноз.	N=259
Артериальная гипертония, n (%)	255 (98.4%)
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	259 (100%)
Сахарный диабет 1 и 2 типа, n (%)	71 (27.4%)
Нарушение ритма (пароксизмальная и постоянная форма фибрилляции предсердий), n (%)	88 (33.9%)
Ожирение, n (%)	135 (52.1%)
Стеатоз печени, n (%)	131 (50.5%)

По представленным в таблице 9 данным видно, что у всех пациентов (259 человек), включенных в исследования был установлен диагноз ишемической болезни сердца, при этом у 255 пациентов (98.4%) имелась артериальная гипертония, среди

сопутствующих заболеваний наиболее часто регистрировались ожирение – у 52,1%, стеатоз печени -50.5%, нарушение сердечного ритма (постоянная или пароксизмальная форма фибрилляции предсердий) – 33.9%, а также сахарный диабет 1 и 2 типа – у 27.4%.

При обследовании на первоначальном этапе (до начала терапии статинами) у 78.7% больных выявлено повышение уровня общего холестерина, у 62.9% больных триглицеридов, у 96.5% больных ЛПНП, уровень КФК был в пределах референтных значений у всех пациентов, включённых в исследование, незначительное повышение печеночных трансаминаз выявлено у 7 (2.7%) пациентов, данные изменения по результатам проведенного дообследования расценены как проявление стеатоза печени и полностью нормализовались перед выпиской из стационара.

Проведен анализ с целью оценки наличия возможной взаимосвязи сочетания исходного уровня общего холестерина и ЛПНП в зависимости от носительства различных полиморфных вариантов SLCO1B1, а также оценки эффективности проводимой терапии статинами у носителей различных полиморфных вариантов SLCO1B1.

2.4 Забор крови

Для выполнения биохимического анализа крови, а также определения аллельных вариантов CYP2C9, генотипа VKORC1 и полиморфных вариантов гена SLCO1B1 у пациентов производился забор венозной крови из кубитальной вены. Объем забора крови у пациентов не превышал 18 мл. Забор венозной крови для выполнения биохимического анализа производился в пластиковые пробирки, не содержащие реагента. Для выполнения генотипирования по CYP2C9, VKORC1 и SCLO1B1 забор крови осуществлялся в пробирки с K₃-ЭДТА (пробирка с фиолетовой крышкой). В течении 60 минут от момента забора венозная кровь подвергалась центрифугированию в приборе с целью отделения сыворотки крови. Центрифугирование проводилось на центрифуге «Eppendorf», Германия в течении 10 минут при температуре +4°C, скорость всех этапов центрифугирования составляла 13400 об. /минуту. Полученная плазма крови, объемом не менее 1 мл перемещалась в криопробирки при помощи механического лабораторного дозатора, после чего

проводилась немедленная заморозка при температуре не выше -20°C до момента их получения лабораторией.

2.5 Биохимические методы исследования

Биохимический анализ крови проводился в лаборатории ГKB №23 им. М.В. Давыдовского. Транспортировка образцов в лабораторию проводилась в специальных термических боксах для поддержания необходимой температуры. Все биохимические показатели определялись с использованием биохимического, автоматического анализатора.

Алгоритм работы с пробами в лаборатории:

1. разморозка образцов крови до комнатной температуры;
2. помещение образцов крови в биохимический анализатор;
3. выбор исследуемых биохимических показателей;
4. получение результатов на дисплее автоматического анализатора;
5. печать результатов на лабораторных бланках;

2.6 Методика определения МНО.

Определение показателя МНО проводилось с применением тромбопластина фирмы «Технология-стандарт» (Россия) с международным индексом чувствительности 1,2.

2.7 Методика определения CYP2C9 и VKORC1.

2.7.1 Выделение геномной ДНК.

Проводилось двойное отмывание 100 мкл венозной крови в 500 мкл *буфера PBS*. После второй отмывки над осадком оставляли 100 мкл супернатанта, в дальнейшем ресуспендировали осадок пипетированием, после чего проводилось добавление 150 мкл лизирующего буфера и 10 мкл водного раствора протеиназы К (10 мг/мл). Далее течение 3 часов при температуре проводилась инкубация полученной смеси в течение 3 часов при температуре 65°C , после чего к ней добавляли 10 мкл 2,5 М водного раствора NaCl с последующей экстракцией ДНК равными фенолом и смесью хлороформа и изоамилового спирта в соотношении 24:1, в равном объеме. Выполнялось центрифугирование полученного раствора в течении 10 минут. Водная фаза отбиралась в чистые пробирки, после чего к раствору добавляли равный объем

изопропилового спирта с дальнейшим выполнением центрифугирования полученного раствора в течении 30 минут, к осадку проводилось добавление 80% этилового спирта, с последующим центрифугированием в течении 10 минут. Полученный раствор высушивали при температуре 65 °С до полного испарения этилового спирта, затем осадок растворяли в 50 мкл буфера ТЕ и подогревали в течении 30 минут при температуре 65 °С, с перемешиванием путем встряхивания каждые 10 мин. Хранение полученных образцов ДНК осуществлялось при температуре -20 °С.

2.7.2 Подбор праймеров для выполнения ПЦР для определения полиморфизма CYP2C9 и VKORC1.

Подбор праймеров осуществлялся с помощью компьютерной программы «PrimerSelect 4.05» (DNASar, Inc) на матрицах базы данных NCBI, содержавшей полные последовательности генов *CYP2C9* и *VKORC1*, включая все экзоны и интроны. При подборе праймеров использовали условия, выставленные авторами программы «по умолчанию», из праймеров, предложенных программой, отбирались те, которые имели максимальный рейтинг при прочих равных условиях. Последовательности праймеров для амплификации исследованных локусов представлены в таблице 11.

Таблица 11

Последовательность праймеров для амплификации исследуемых локусов

Полиморфизм	Последовательность праймера	
<i>Arg144Cys</i>	Прямой	5'-GGGGAGGATGGAAAACAGAGACTT-3'
	Обратный	5'-CTTCAAACCCCGCTTCACA-3'
<i>Ile359Leu</i>	Прямой	5'-CAGAAACCGGAGCCCCTGCAT-3'
	Обратный	5'-AGGCTGGTGGGGAGAAGGGCAA-3'
<i>G-1639(3673)A</i>	Прямой	5'-CCAGAAGGGTAGGTGCAACAGTAA-3'
	Обратный	5'-TCACCAAGACGCTAGACCCAATG-3'

2.7.3 Амплификация ДНК

ПЦР выполнялось на амплификаторах моделей «Терцик ТП4-ПЦР01» (ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Россия), и «Mastercycler» («Eppendorf AG», Германия, закуплен в ЗАО «Хеликон», Россия). Состав реакционных смесей для выполнения ПЦР каждого полиморфизма указаны в таблице 12, программы для амплификации — в таблице 12.

Таблица 12

Состав реакционной смеси для ПЦР каждого исследуемого полиморфизма (на одну пробирку, мкл)

Компоненты смеси	Полиморфизмы		
	<i>CYP2C9</i> <i>Arg144Cys</i>	<i>CYP2C9</i> <i>Ile359Leu</i>	<i>VKORC1</i> <i>G-1639(3673)A</i>
H ₂ O, бидистиллят	7,45	8,45	17,4
Буфер для Taq-полимеразы	1,25	1,25	2,5
Смесь dNTP, 100 мМ	0,5	0,5	1
MgCl ₂ , 25 мМ *	2	1	1,5
Taq-полимераза, 5 ЕД/мкл	0,1	0,1	0,2
Праймеры	0,2	0,2	0,4
ДНК	1	1	2
Суммарный объём	12,5	12,5	23

Таблица 13

Программы для амплификации каждого полиморфизма, °С/сек

Характеристика	Полиморфизмы		
	<i>CYP2C9</i> <i>Arg144Cys</i>	<i>CYP2C9</i> <i>Ile359Leu</i>	<i>VKORC1</i> <i>G-1639(3673)A</i>
Денатурация геномной ДНК	95 / 180	95 / 180	95 / 180
Денатурация	95 / 10	95 / 10	95 / 10
Отжиг праймеров	70 / 40	65 / 40	57 / 40
Синтез	72 / 15	72 / 10	72 / 12
Количество циклов, п	35	35	35

Элонгация	72 / 420	0 / 0	0 / 0
-----------	----------	-------	-------

Первоначально выполнялась денатурация геномной ДНК при 95 °С в течение 3 минут. Данный процесс выполнялся на протяжении 35 циклов, каждый из которых состоял из трёх стадий: денатурации, отжига и синтеза. Первая стадия цикла (денатурация) выполнялась в течение 10 сек при температуре 95 °С. Вторая и третья стадии цикла (отжига и синтеза) выполнялись индивидуально для каждой программы (таблица 13).

2.7.4 Расщепление продуктов амплификации рестриктазами

Идентификация аллелей различных полиморфных вариантов генов *CYP2C9* и *VKORC1* проводилась с помощью обработки продуктов ПЦР соответствующими рестриктазами, указанными таблице 14. Рестриктазы *Bse3DI* и *Bme18I* применялись для определения аллельных вариантов «дикого типа» (*359Ile / CYP2C9* и *144Arg / CYP2C9*, соответственно). Рестриктаза *MspI* применялась для распознавания соответствующего генотипа гена *VKORC1* (*-1639(3673)G / VKORC1*).

Таблица 14

Названия рестриктаз и размеры продуктов, получающиеся в результате рестрикции

Замена / Ген	Рестриктаза	Размеры продуктов рестрикции
Arg144Cys / <i>CYP2C9</i>	<i>Bme18I</i>	418 п.н. (192+226)
Ile359Leu / <i>CYP2C9</i>	<i>Bse3DI</i>	102 п.н. (80+22)
<i>G-1639(3673)A / VKORC1</i>	<i>MspI</i>	406 п.н. (230+76)

Расчет количества рестриктазы, необходимой для выполнения рестрикции, выполнялся по формуле:

$$R = \frac{L_{\lambda} \times m_{\Phi}}{L_{\Phi} \times n_{\lambda}},$$

где **R** — число единиц рестриктазы,

L_{λ} — длина ДНК фага λ , составляющее приблизительно 48500 п.н.,

m_{Φ} — масса продукта амплификации, предназначенного для рестрикции в мкг,

L_{Φ} — длина амплифицируемого фрагмента в п.н.,

n_{λ} — количество сайтов рестрикции для данной рестриктазы на ДНК фага λ .

Данная формула расчет может применяться для фрагментов, на которых имеется только один сайт рестрикции для данной рестриктазы. В случае если фрагмент содержит несколько сайтов рестрикции, в формулу следует внести множитель, соответствующий числу сайтов.

2.7.5 Электрофоретическое разделение ДНК

После выполнения амплификации или рестрикции фрагменты ДНК были нанесены на полиакриламидный гель. Для продуктов амплификации использовался 5% гель, для рестрикционных фрагментов использовался 10% гель. По окончании электрофореза гели окрашивали раствором бромистого этидия (0,5 мкг/мл) в течение 10 мин. и визуализировали на трансиллюминаторе ТСХ-15 М производства «Vilber Lourmat», Франция, закуплен в ООО «Диа-М», Россия, в ультрафиолетовом свете при длине волны 312 нм.

Электрофорез проводили в вертикальной камере VE-4 (производство ЗАО «НПФ ДНК-Технология», РФ, закуплено там же) с использованием буфера TBE по следующей схеме: к пробам в объеме 4,5 мкл (в случае продуктов амплификации) или 10 мкл (в случае продуктов рестрикции) добавляли 1/5 объема буфера для внесения проб в гель. Полученную смесь наслаивали в лунки геля при помощи специального наконечника с вытянутым кончиком. Размер фрагментов определяли с помощью маркёров молекулярного веса, наносимых в количестве 150 нг на дорожку.

2.8 Методика определения полиморфизма гена SLCO1B1

Определение полиморфизма гена проводилось в лаборатории отдела персонализированной медицины и клинической фармакогенетики ГКБ №23 им. М.В. Давыдовского. Пациентам, включенным в исследование, проводилось определение генетического полиморфизма гена SLCO1B1, ассоциированного с риском развития поражения мышечной ткани при приеме статинов. Определение полиморфизма гена

SLCO1B1 выполнялось путем выполнения ПЦР препаратов ДНК человека, полученных из периферической крови. Образцы крови, взятые у пациентов, доставлялись в лабораторию в течение 24 часов. На первом этапе проводилось выделение геномной ДНК из венозной крови с помощью реагента «ДНК-ЭКСПРЕСС-КРОВЬ» производства НПФ «ЛИТЕХ». Выделение ДНК выполнялось согласно в соответствии с инструкцией к набору и включало следующие этапы:

- в пробирку типа «Эппендорф» добавляли 1000 мкл однородно перемешанной венозной крови;
- в течение 5 минут, при комнатной температуре выполнялось центрифугирование пробирки со скоростью 3000 оборотов в минуту при комнатной температуре в течение 5 мин. После центрифугирования проводилось отделение плазмы пипеткой;
- проводилось замораживание закрытой пробирки при температуре -20°C в течение 1 часа до полного замораживания форменных элементов крови;
- проводили размораживание содержимого пробирки при комнатной температуре;
- в пробирку вносили реактив «ДНК-экспресс-кровь», равный объему содержимого пробирки после чего в течение 10 секунд содержимое пробирки перемешивали на вортексе;
- проводили осаждение капель на микроцентрифуге;
- пробирку выдерживали в предварительно прогретом до 98°C термостате в течение 15 минут, после чего проводилось центрифугирование пробирки со скоростью 8000-14000 об/мин. при комнатной температуре в течение 1 минуты;

Полученный супернатант исследовали на приборе iQ 5 фирмы BioRad с применением методики ПЦР Real time с использованием набора реагентов для определения полиморфизма SLCO1B1.

Анализ образцов включал следующие этапы:

- проводилось размораживание образцов;

- смешивание компонентов набора и выделенной ДНК, с их дальнейшим центрифугированием;
- приготовление двух реакционных смесей компонентов: Реакционная смесь аллель 1 и реакционная смесь аллель 2. В дальнейшем проводилось добавление компонентов в раствор из расчета на 1 пробу: 17,5 мкл разбавителя, 2,5 мкл реакционной смеси, 0,2 мкл красителя SYBR Green, 0,2 мкл Taq – полимеразы;
- маркировка пробирок;
- в пробирки для ПЦР вносили по 20 мкл. смеси компонентов, после чего вносили по 5 мкл. образца обработанной анализируемой пробы в пробирку с рабочей амплификационной смесью аллель 1 и в пробирку с рабочей амплификационной смесью аллель 2;
- в качестве отрицательного контрольного образца в оба типа реакционной смеси вносили разбавитель в объеме 5 мкл. Положительный контрольный образец вносили в объеме 5 мкл. в оба типа реакционной смеси;
- выполняли кратковременное центрифугирование образцов при 1500-3000 оборотов в минуту при комнатной температуре, после чего пробирки с образцами помещались в амплификатор;
- выполнялось две реакции амплификации – с двумя парами аллель-специфичных праймеров;

Детекция продуктов амплификации осуществлялась прибором в автоматическом режиме в каждом цикле амплификации.

Результаты анализа позволяли дать три типа заключений:

- выявление гомозигот по аллели 1;
- выявление гетерозигот;
- выявление гомозигот по аллели 2.

2.9 Оценка доступности фармакогенетического тестирования и частоты его применения врачами в рутинной клинической практики

Всего в ходе выполнения данной работы проведено анкетирование 137 врачей, работающих в медицинских учреждениях города Москвы с целью изучения

осведомленности практических врачей о возможности выполнения фармакогенетического тестирования, показаниях к проведению фармакогенетического тестирования, а также частоты применения данных методов исследования в реальной клинической практике в лечебно-профилактических учреждениях города Москвы. Так как наиболее частоты пациенты, с нозологиями, требующими проведения терапии непрямыми антикоагулянтами и статинами обращаются к врачам-терапевтам и врачам-кардиологам они и стали основной «фокус»-группой для проведения анкетирования. Всего в анкетировании участвовали 81 врач терапевт и 56 врачей-кардиологов. При проведении анкетирования учитывались и включены в дальнейший анализ такие параметры как возраст врача, общий врачебный стаж, место работы (стационар или поликлиническое отделение).

2.10 Статистическая обработка результатов

Полученные в ходе исследования данные обработаны с помощью статистического пакета программ SPSS 21.0 for Windows с применением методов параметрической и непараметрической статистики. В работе проводился описательный анализ всех пациентов, включенных в исследование. Качественные переменные описывались абсолютными и относительными (%) частотами, для количественных переменных определялись средние значения, стандартное отклонение, стандартная ошибка среднего значения. При сравнении двух групп с нормальным характером распределения данных использовали t-тест для независимых группировок, а при характере распределения, отличном от нормального, применяли критерий χ^2 . Оценку достоверности различий по частотам аллелей между исследуемыми группами проводили по критерию Н Краскала-Уоиллиса и ANOVA. Для сравнения фактических и ожидаемых частот в группах применяли критерий точной вероятности Фишера. Корреляционный анализ осуществлялся с помощью коэффициента корреляции Пирсона или коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Для всех видов анализа статистически значимыми различиями признавались при $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ И ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ПРИ НАЗНАЧЕНИИ ВАРФАРИНА.

3.1 Изучение частоты выявления полиморфных вариантов CYP2C9

Эффективность применения лекарственных препаратов и выраженность терапевтического эффекта, а также частота развития побочных эффектов на фоне проводимой фармакотерапии у пациентов представителей различных этнических может значительно варьировать. Генетически обусловленное изменение активности изоферментов цитохрома р450, в частности CYP2C9 связано с замедленным метаболизмом непрямых антикоагулянтов, что и определяет вариабельность доз у различных пациентов [149]. Результаты исследований по показали выраженную межэтническую вариабельность в популяциях по всему миру [172; 199]. Наиболее клинически значимыми маркерами полиморфизма изофермента CYP2C9 являются аминокислотные замены: Arg144Cys, которая приводит к замещению в 144 положении полипептидной цепи изолейцина на лейцин. В следствие данной аминокислотной замены появляются полиморфные изоформы CYP2C9*2 (Arg144Cys) и CYP2C9*3 (Ile359Leu). Также на эффективность и безопасность при проведении варфаринотерапии значительное влияние оказывает различных генотипов гена VKORC1, так установлено, что у пациентов, носителей генотипа AA по полиморфному маркёру G1639A при назначении варфарина по традиционной схеме статистически значимо более часто отмечаются кровотечения, а также повышение значений МНО выше терапевтического диапазона [284].

В связи с этим изучение распространенности полиморфизма CYP2C9 и VKORC1. у пациентов московской популяции представляет большой интерес с научной и практической точки зрения. В исследование и дальнейший анализ включено 2 группы пациентов:

1. Группа пациентов, у которых подбор дозы варфарина, проводился на основании результатов выполнения фармакогенетического тестирования (ФГ «+»)

2. Группа сравнения – в которую включены данные архивных историй пациентов, у которых подбор дозы варфарина осуществлялся на основании «традиционного» алгоритма дозирования согласно данным, указанным в инструкции по медицинскому применению (ФГ «-»).

В первую группу (ФГ «+») включено 90 пациентов с высоким риском развития тромбозмболических осложнений (с пароксизмальной и постоянной формой фибрилляции предсердий), проходившие лечение в отделении персонализированной медицины ГKB №23 им. И.В. Давыдовского в период 2014-2015 гг. Средний возраст пациентов на момент включения в исследование составил 69.87 ± 7.6 лет. В исследовании участвовало 55 пациенток женского пола (61.1%) и 35 пациентов мужского пола (38.88%). У всех пациентов данной группы для проведения антикоагулянтной терапии было выбрано назначение варфарина. В настоящее время FDA рекомендовано выполнение фармакогенетического тестирования у всех пациентов, которым планируется назначение варфарина [Table of Valid Genomic Biomarkers in the Context of Approved Drug Labels. URL: <http://www.fda.gov>].

Перед началом терапии варфарином у всех пациентов, кроме стандартных рутинных клинико-инструментальных исследований, включающих определение исходного уровня МНО, проводилась идентификация генотипов полиморфных маркёров Arg144Cys (определение аллельного варианта CYP2C9*2) и Ile359Leu (определение аллельного варианта CYP2C9*3) гена CYP2C9, а также G-1639(3673) A гена VKORC1. Дальнейший подбор дозы варфарина проводился на основе данных, полученных в ходе фармакогенетического тестирования - для интерпретации результатов, индивидуального расчета дозы варфарина применялась программа-калькулятор на сайте warfarindosing.org.

По полученным результатам пациентов, представителей популяции города Москвы структура примерно совпадала с результатами других работ, выполненных у пациентов славянской национальности. У 53 пациентов (58.9%) выявлено носительство генотипа CYP2C9 1*1. Гетерозиготное носительство аллельных вариантов CYP2C9 1*2 выявлено у 19 пациентов (21.1%), CYP2C9 1*3 у 8 пациентов (8.9%), CYP2C9 2*2 у 5 пациентов (5.5%), CYP2C9 2*3 у 4 пациентов (4.4%),

гомозиготное носительство CYP2C9*3 выявлено у 1 пациента (1.1%). По сравнению с пациентами, носителями «дикого» типа CYP2C9*1(Arg144-Ile359, пациентам, носители вариантов генотипов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 как в гетерозиготном, так и в гомозиготном положении требуется меньшая поддерживающая доза варфарина, данная группа пациентов считается «медленными» метаболизаторами - активность CYP2C9 у носителей аллельного варианта CYP2C9*2 и CYP2C9*3 составляет 18% и 5% от нормальной соответственно [250]. Поддерживающая доза варфарина у данной группы пациентов обычно составляет - ≤ 5 мг в сутки. Таким образом среди жителей Москвы, до 42.1% пациентов потенциально являются носителями «медленных» аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3, что может приводить к чрезмерной гипокоагуляции и кровотечениям на фоне проводимой терапии варфарином.

Тесная взаимосвязь между носительством полиморфного маркера гена VKORC1 и наличием резистентности или гиперчувствительности к проводимой терапии варфарином в настоящее время не вызывает сомнений. Известно, что у пациентов носителей генотипа AA по полиморфному маркеру G-1639A гена VKORC1 отмечается повышенная чувствительность к варфарину: при применении варфарина по стандартной схеме чаще отмечаются эпизоды чрезмерной гипокоагуляции, приводящей к кровотечениям и выходы за пределы терапевтического диапазона МНО [232]. Носительство аллеля GG приводит к сниженной чувствительности к варфарину, в следствие чего данной группе пациентов требуется назначение более высоких доз варфарина.

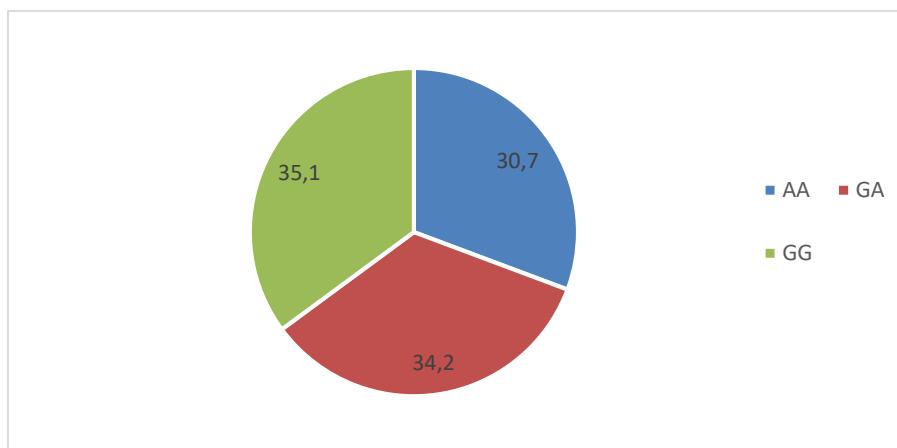


Рисунок 1. Распространенность генотипов гена VKORC1 среди населения города Москвы (%).

Как видно из данных представленных на рисунке 1 и 2, по полученным результатам изучения частоты выявления различных генотипов VKORC1 среди населения жителей города Москва распределялась следующим образом: носительство генотипа GA выявлено у 30 пациентов (33.3%), носительство генотипа AA у 28 пациентов (31.1%). Пациенты, носители генотипа AA попадают в группу высокого риска развития чрезмерной гипокоагуляции и развития кровотечений при применении варфарина по стандартной схеме. Пациентам носителям генотипов AA и GA требуется более низкая доза варфарина для достижения целевого диапазона МНО, чем пациентам носителям генотипа GG. Генотип GG выявлен у 32 пациентов (35.5%). Таким образом показана высокая частота встречаемости генотипов VKORC1 в московской популяции пациентов, у которых подбор поддерживающей дозы варфарина, а, следовательно, достижение целевых значений МНО без проведения фармакогенетического мониторинга может быть затруднен, в следствие широкого диапазона чувствительности к варфарину в зависимости от генотипа VKORC1. В ряду генотипов GG > GA > AA подобранная доза варфарина достоверно снижается. Полученное распределение частот встречаемости аллелей и генотипов соответствует закону Харди-Вайнберга, это подтверждает, что данная выборка пациентов была случайной и релевантной для выполнения данного исследования.

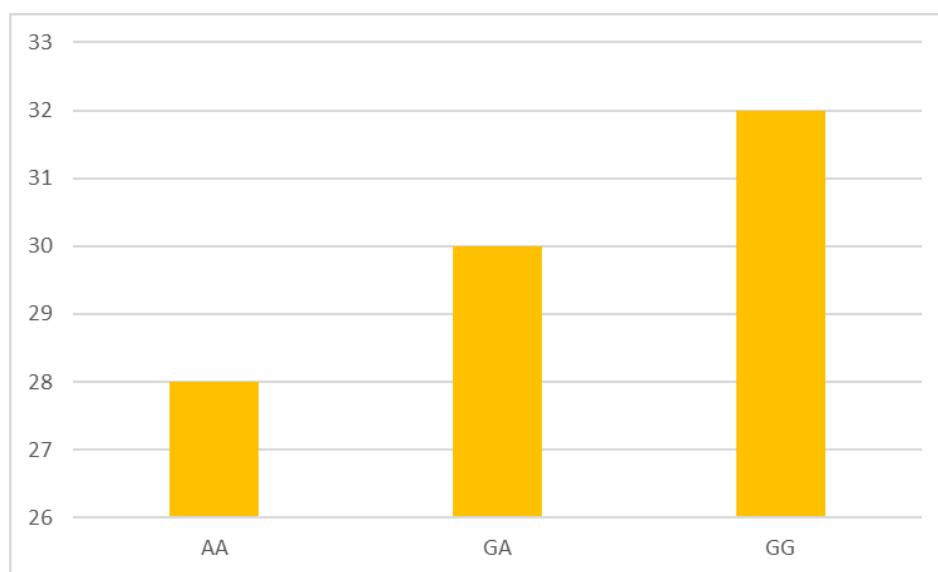


Рисунок 2. Распространенность генотипов гена VKORC1 среди населения города Москвы (n).

Как видно на рисунке 2, по полученным данным до 65.8% населения города Москвы являются носителями генотипов гена VKORC1, связанные с высокой или низкой чувствительностью к варфарину т.е. гипотетически больше половины больных являются носителями генотипов VKORC1, способных влиять на изменение чувствительности к варфарина, что может приводить к сложности подбора терапевтической дозы варфарина. Полученные данные, показывают высокую распространенность носительства генотипов CYP2C9 и VKORC1, что свидетельствует о высокой актуальности внедрения фармакогенетического тестирования в рутинную клиническую практику при применении варфарина.

3.2 Сравнение основных оцениваемых показателей между пациентами групп ФГ «+» и ФГ «-»

Для оценки эффективности внедрения фармакогенетического тестирования в клиническую практику проводилась сравнительная оценка следующий показателей по данным медицинской документации у двух групп пациентов – группы, у которой проводилось фармакогенетическое тестирование (ФГ «+») и второй группы пациентов, у которой фармакогенетическое тестирование не проводилось – на основании данных архивных историй болезни (группы ФГ «-»). Проведен сравнительный анализ следующих показателей:

- Среднее число измерений МНО.
- Койко-день, на который достигнуты целевые значения МНО (2.0-3.0).
- Среднее количество «шагов» титрования дозы варфарина.
- Средняя подобранная доза варфарина.
- Количество пациентов, которых МНО при выписке было <2.0 и >3.0 и >4.0.
- Случаи прекращения терапии варфарином по различным причинам.
- Количество койко-дней до выписки пациента из стационара с момента назначения варфарина.

Среднее число определений МНО, в исследуемых группах ФГ «+» и ФГ «-»: составило 2.4 ± 0.2 VS 4.1 ± 0.3 , соответственно ($p < 0.0001$). За период госпитализации

определение МНО проводилось не менее 2 раз у всех пациентов. Следует отметить, что подбор дозы варфарина может существенно удлинять срок нахождения пациентов в стационаре или продолжаться на амбулаторном этапе лечения. По полученным данным у пациентов группы ФГ «+» срок достижения целевого терапевтического диапазона МНО был статистически достоверно короче (для пациентов с фибрилляцией предсердий целевые значения МНО должны находиться в диапазоне 2.0-3.0) по сравнению с группой ФГ «-» и составлял $6.2 \pm 0,9$ койко-дней в группе ФГ «+» и $9.1 \pm 1,5$ койко-дней в группе ФГ «-». Сокращение времени, затраченного на достижение целевых значений МНО может существенно сократить общий срок госпитализации пациента, особенно в отношении «проблемных пациентов», носителей аллельных вариантов CYP2C9 *2 и *3, носительство которых сопряжено с высокими концентрациями варфарина в крови [250].

Анализ количества пациентов, у которых МНО, выписанных из стационара с нахождением показателя МНО т.е. количества пациентов, у которых на момент выписки МНО находилось за пределами терапевтического диапазона (в пределах значений <2 и >3) позволяет определить количество пациентов, у которых проводимая фармакотерапия варфарином на стационарном этапе была неэффективна, что может приводить к риску возникновения тромботических осложнений или кровотечений. Применение фармакогенетического тестирования приводило к существенному увеличению числа пациентов, у которых МНО при выписке находилось в пределах терапевтического диапазона в группе ФГ «+», что составило 77% по сравнению с 37% в группе ФГ «-» соответственно. Количество пациентов, у которых МНО при выписке из стационара находилось в диапазоне <2 и >3 составляло 23% в группе ФГ «+» и 63% в группе ФГ «-». Данные результаты можно объяснить недостаточным титрованием дозы варфарина у пациентов группы ФГ «+» и избыточной дозой варфарина, применяемой у пациентов группы ФГ «-»; средняя доза варфарина на момент выписки из стационара в группе ФГ «-» была статистически значимо выше, чем у пациентов группы ФГ «+» и составила $3.9 \pm 0,3$ и $5.1 \pm 0,4$ в группе ФГ «+» и ФГ «-» соответственно.

Повышение показателя МНО более 3,0 и особенно выше 4.0 связано с повышенным риском развития кровотечений на фоне проводимой терапии варфарином. Доля пациентов, у которых выявлено повышение МНО выше 3.0, была значительно больше у пациентов, которым применялся традиционный алгоритм дозирования варфарина (ФГ «-») по сравнению с ФГ «+»: 51% vs 4.85% ($p < 0.001$); повышение МНО выше 4.0 не зарегистрировано ни у одного пациента группы ФГ «+», в то время как среди пациентов группы ФГ «-» повышение МНО выше 4.0 выявлено у 12.2%. На основании полученных данных можно выдвинуть предположение о том, что применение фармакогенетического тестирования позволяет повысить безопасность проводимой терапии варфарином, а также сократить срок нахождения пациента в стационаре, что может привести к снижению затрат на госпитальном и амбулаторном этапах.

При применении фармакогенетического тестирования для подбора дозы варфарина на госпитальном этапе у пациентов группы ФГ «+» потребовалось в среднем $2,9 \pm 0,3$ шагов титрования дозы варфарина, в то время как у пациентов группы ФГ «-» потребовалось $4,0 \pm 0,4$ шагов титрования дозы варфарина ($p < 0,0001$). На основании полученных данных можно сделать вывод о более высокой эффективности подбора дозы при применении фармакогенетического тестирования.

С учетом того, что основной целью подбора дозы варфарина является достижение терапевтического диапазона МНО (2.0-3.0), что может значительно удлинять время нахождения пациента в стационаре, одним из наиболее важных параметров оценки эффективности проводимой терапии является длительность нахождения пациента в стационаре. Для оценки данного параметра информативным является количество койко-дней, проведенных пациентом в стационаре. Следует отметить, что всем пациентам, включенным в исследование назначение варфарина проводилось впервые. Показанием к назначению варфарина являлась наличие неклапанной фибрилляции предсердий. В результате проведенного анализа, длительность госпитализации у пациентов группы фармакогенетического тестирования (группа ФГ «+») была меньше по сравнению с пациентами, которым варфарин назначался по традиционному алгоритму (группа ФГ «-») и составила

12,0±4,1 койко-дней в группе ФГ «+» и 19,1±6,0 койко-дней в группе ФГ «-».Случаев прекращения лечения варфарином в группе ФГ«+» на госпитальном этапе не зарегистрировано, в то время как в группе ФГ «-» зарегистрирован 1 случай отмены варфарина из-за выявления эрозий желудка при выполнении гастроскопии.

Расчет дозы варфарина при у пациентов группы ФГ «+» производился на основании данных, полученных при выполнении фармакогенетического тестирования CYP2C9 и VKORC1, а также на основании множества других факторов, влияющих на чувствительность к варфарину, таких как курение, прием амиодарона, который часто назначается пациентам с фибрилляцией предсердий, а также наличие сопутствующего заболевания печени. У 76.2% пациентов группы ФГ «+» доза варфарина при выписке находилась в диапазоне рассчитанной ранее «предсказанной» дозы.

3.3 Анализ отдаленных результатов эффективности и безопасности проводимой терапии у пациентов, прошедших фармакогенетическое тестирование

Вторым этапом исследования стало проведение опроса пациентов группы ФГ «+» с помощью специально разработанных анкет-опросников, с целью оценки эффективности применения фармакогенетического тестирования и оценки возможного влияния проведения фармакогенетического тестирования на отдаленные результаты лечения варфарином.

На момент проведения анкетирования средний срок приема варфарина пациентами составил 11±2.1 месяцев. Варфарин был отменен только у 1 пациента, в связи с невозможностью регулярного контроля МНО. Данный пациент сообщил о том, что отметил повышенную кровоточивость десен при чистке зубов, о чем сообщил своему лечащему врачу. При обследовании в поликлинике выявлено повышение МНО до 4.1. Наиболее вероятной причиной данного эпизода являлся нерегулярный прием варфарина и отсутствие постоянного контроля МНО. Варфарин отменен, начата терапия Прадакса 110 мг в сутки, на фоне применения которого эпизодов кровотечений у пациента не возникало. При дальнейшем анализе выявлено, что доза варфарина на момент развития вышеуказанных жалоб составляла 6.25 мг и превышала рекомендованную дозу 4.7 мг (4-5), определенную с учетом результатов

фармакогенетического тестирования CYP2C9 1*1 и VKORC1 3673GA. Таким образом, связи развития данного эпизода с генетическими особенностями пациента не установлено.

По указанной причине в итоговый анализ включено 89 пациентов, которые продолжали принимать варфарин на момент опроса. У всех пациентов, продолжающих терапию варфарином на момент проведения анкетирования сообщили о том, что МНО находилось в пределах терапевтического диапазона (2.0-3.0). Следует отметить, что доза варфарина на момент проведения анкетирования пациентов после выписки из стационара доза варфарина у 84(94.38%) находилась в пределах диапазона, определенного на основании расчета на сайте warfarindosing.org. Похожие данные получены в исследовании Гаврисюк Е.В., выполненном в 2015 году, по данным опубликованным в работе точность метода достигала 93% [223].

Нерегулярный прием варфарина является одной из причин колебаний МНО и как следствие развития осложнений на фоне лечения варфарином. Кроме того, частые пропуски приема препарата являются показателем низкой комплаентности пациентов, в связи с этим для в качестве одного из критериев оценки приверженности лечению пациентов группы фармакогенетического тестирования использованы ответы пациентов на вопрос о количестве пропусков приема варфарина за весь период лечения. Ответы пациентов для удобства и дальнейшего анализа сгруппированы следующим образом: «Не пропустил(а) ни одного приема варфарина», «Пропуск приема препарата от 1 до 2 раз», «Пропуск приема препарата от 2 до 5 раз». Все пациенты (89 пациентов) на момент опроса продолжающие прием варфарина ответили, что принимают препарат ежедневно и стараются избегать пропуска приема препарата. 34 пациента (38.2%) отрицают наличие хотя бы одного пропуска приема варфарина на всем протяжении лечения, 54 пациентов (60.67%) ответили, что за весь период терапии варфарином помнят об 1-2 пропусках приема варфарина, только 1 пациент – в возрасте 78 лет сообщил о том, что за последние 12 месяцев было более 3-х эпизодов пропуска приема варфарина. Со слов пациента за данный период МНО оставалось в пределах терапевтического диапазона, последнее значение МНО – за 2 недели до анкетирования составляло 2.4. Пациент приглашен на очную консультацию

для дообследования, однако пациент от визита в центр отказался. При проведении анкетирования все пациенты ответили положительно на вопрос понимают ли они необходимость постоянного приема антикоагулянтов в связи с имеющимся заболеванием

На основании полученной информации можно сделать вывод о высокой приверженности лечению пациентов группы фармакогенетического тестирования, что может объясняться тем, что в большинстве случаев терапевтическая доза была подобрана в стационаре, у большинства пациентов отсутствует необходимость постоянной коррекции дозы варфарина, что во многих случаях может снижать комплаентность пациентов.

У 84 пациентов (94.3%), выписанных из стационара с достижением целевого диапазона МНО, сообщили, что коррекция дозы с момента первого подбора дозы препарата не производилась и они получают препарат в первоначально подобранной дозе. 5 пациентов (5.7%) сообщили, что лечащим врачом на амбулаторном этапе проводилась коррекция дозы в течение первого месяца после начала лечения. У 4 пациентов из 5 пациентов отмечалась гипокоагуляция – МНО находилось на уровне <2 , что наиболее вероятно связано с недотитрованием дозы на госпитальном этапе, связи с полиморфными вариантами CYP2C9 и генотипом VKORC1 у данных пациентов не отмечено. Следует отметить, что 1 пациентка сообщила о несоблюдении «варфариновой» диеты после выписке из стационара, хотя МНО при выписке был в пределах терапевтического диапазона – 2.34. При этом все опрошенные пациенты сообщили, что проинформированы о продуктах несовместимых с варфарином еще на этапе начала терапии, всем пациентам выдавались письменные рекомендации. У 1 пациента отмечен эпизод гиперкоагуляции – МНО= 3.45, при дальнейшем анализе выявлено, что у данного пациента выявлен генотип CYP2C9 1*2 в сочетании с генотипом VKORC1 3673AA, чем вероятно и обусловлено возникновение гиперкоагуляции. Всем пациентам проведена коррекция дозы варфарина, на момент анкетирования МНО у всех пациентов находился в пределах терапевтического диапазона.

Как описано выше все пациенты при опросе ответили, что понимают необходимость постоянного контроля МНО. 4 пациента из (4.49%) опрошенных приобрели портативные приборы для самостоятельного определения МНО и сообщили, что проводят контроль дома самостоятельно 2 раза в неделю. Следует отметить, что еще 74 пациента (83%) сообщили, что слышали о возможности приобретения прибора для самостоятельного контроля МНО, однако не приобретают его в виду высокой стоимости, 11 пациентов (12.3%) услышали о данной возможности впервые.

Среди 89 пациентов, продолжающих прием варфарина на момент анкетирования 86 пациентов (96.6%) сообщили, что полностью выполняют рекомендации лечащего врача в поликлинике относительно частоты контроля МНО: 57 пациентов (64.04%) проводят контроль МНО с частотой 1 раз в месяц, 29 пациентов (32.5%) проводят контроль МНО 2 раза в месяц. 3 пациента (3.4%) пациентов проводят контроль МНО реже 1 раза в месяц в связи со стабильными значениями МНО, при этом пациенты сообщили, что проводят контроль МНО не реже 1 раза в 2 месяца, на всем протяжении лечения МНО находился в пределах терапевтического диапазона. Пациентам даны рекомендации регулярного контроля МНО не реже 1 раза в месяц.

Развитие тромботических осложнений не зарегистрировано ни у одного из пациентов, включённых в исследование.

Одним из важнейших параметров оценки эффективности и контроля за антикоагулянтной терапией варфарином является показатель «время нахождения в терапевтическом диапазоне МНО». Данный показатель был рассчитан на основании отношения значения количества измерений МНО в пределах терапевтического диапазона на общее количество измерений МНО у всех пациентов в течение 1 и 12 месяцев. Через 1 месяц после начала лечения у пациентов группы фармакогенетического тестирования время нахождения в пределах терапевтического диапазона составляло 84%, через 11 ± 2.1 месяцев -98%. Полученные данные следует расценивать как хороший уровень контроля МНО у пациентов группы ФГ «+».

Таким образом, применение фармакогенетического тестирования значительно повышает частоту достижения заданного диапазона МНО, а также контроль за антикоагулянтным эффектом по сравнению с традиционным алгоритмом дозирования варфарина, что подтверждается данными, полученными Гаврисюк Е.В. - у пациентов, к которым данный алгоритм не применялся спустя 1 месяц «хороший уровень» контроля МНО (от 80 до 100% рекомендованного диапазона МНО) был достигнут только у 23% пациентов, «средний» (от 40 до 79%) - у 43%, «низкий» (менее 39%) – 35% [223].

В ходе проведения исследования проводился опрос об изменении качества жизни на фоне начатой терапии варфарином. 48 пациентов (53.93%) среди опрошенных не отметили существенного изменения качества жизни в связи с назначением варфарина. 41 пациент (46.06%) отметили снижение качества жизни на фоне начатой терапии варфарином. В ходе проведения подробного опроса пациентов – в качестве основной причины снижения качества жизни пациенты назвали необходимость постоянных визитов в поликлинику для контроля МНО.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что проведение фармакогенетического тестирования может значительно повысить комплаентность пациентов в отношении контроля МНО, кроме того проведение фармакогенетического тестирования повышает информированность пациентов по поводу проводимой терапии, за счет того, что пациент получает больше информации со стороны врача в ходе беседы перед началом терапии, а также за счет большего «включения» пациента в процесс собственного лечения.

ГЛАВА 4. ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ СТАТИНОВ У ПАЦИЕНТОВ И ЕЕ ЗАВИСИМОСТИ ОТ РЕЗУЛЬТАТОВ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ

4.1 Изучение частоты встречаемости полиморфных вариантов SLCO1B1 и структура назначения статинов

В данное исследование включены 259 пациентов с выявленной гиперхолестеринемией и/или ишемической болезнью сердца, находившихся на лечении в отделении персонализированной медицины ГКБ №23 им. И.В. Давыдовского в 2014-2015 гг. Всем пациентам, кроме стандартных диагностических процедур в т.ч. биохимического анализа крови, проводился забор венозной крови для определения полиморфных вариантов SLCO1B1. Основными целями исследования заключались в изучении распространенности полиморфизма SLCO1B1 у населения города Москвы, оценке отдаленных результатов применения фармакогенетического тестирования для определения максимально переносимых доз статинов, а также оценки влияния и возможной взаимосвязи носительства определенных полиморфных вариантов SLCO1B1 на эффективность и безопасность проводимой терапии статинами, а также оценки приверженности к лечению пациентов. У всех пациентов регистрировался исходный уровень следующих показателей биохимического анализа крови: КФК, АЛТ, АСТ, общий холестерин, триглицериды ЛПНП, ЛПВП. После выписки из стационара проведено анкетирование пациентов по телефону с помощью специально разработанных анкет-опросников, направленных на выявления «мышечных» симптомов, а также оценка их взаимосвязи с применением статинов. Проведена оценка динамики биохимических показателей крови (КФК, АЛТ, АСТ, общий холестерин, триглицериды ЛПНП, ЛПВП), общего самочувствия пациентов, соблюдения рекомендованного режима дозирования статинов, а также субъективная оценка изменения качества жизни после начала терапии статинами. При необходимости и желании пациента, пациенты приглашались для очной консультации и дообследования.

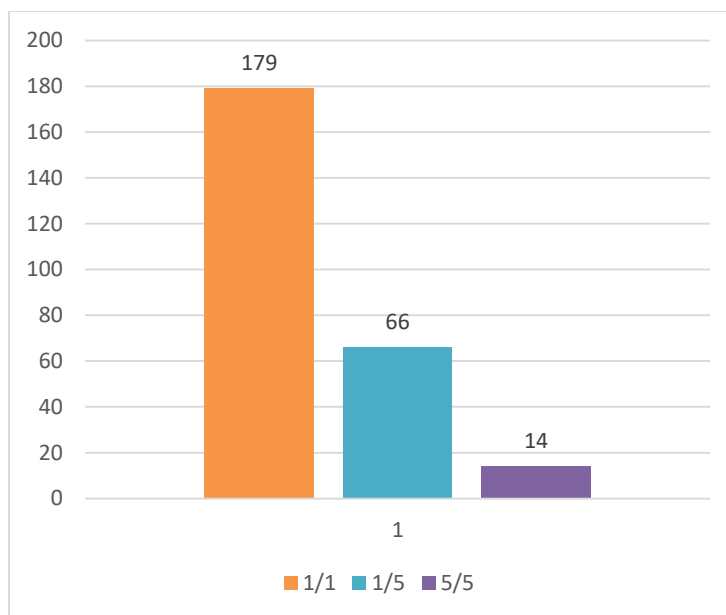


Рисунок 3. Распространенность SLCO1B1 среди пациентов, жителей города Москва (n)

Всего в исследование и дальнейший анализ включено 259 пациентов, у которых проведено генотипирование по аллельному варианту SCLO1B1*5 (с.521T>C, rs4149056): 163 женщины (62.9%) и 96 мужчин (37.1%). Средний возраст пациентов на момент включения в исследование составил 66.6 ± 9.16 лет. По результатам проведенного фармакогенетического тестирования и дальнейшего анализа получены следующие результаты (рисунок 3): у 179 пациентов (69.11%) выявлен генотип ТТ (1*1), у 66 пациентов (25.48%) выявлен генотип ТС (1*5), у 14 пациентов (5.4%) выявлено носительство генотипа СС (5*5) (рисунок 4).

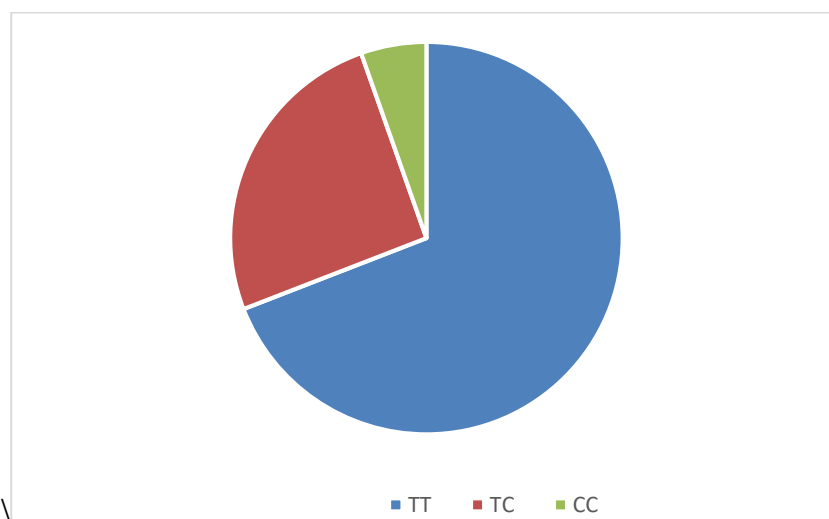


Рисунок 4. Распространенность SLCO1B1 среди пациентов, жителей города Москва (%)

При выявлении генотипа ТТ риск развития миопатии на фоне приема статинов расценивался как низкий, ТС – как средний, СС – высокий. При этом выбор дозы происходил на основании имеющихся данных таблицы 4 [15]. Таким образом по полученным данным до 30.8% пациентов имеют повышенный риск развития статин-индуцированных миопатий на фоне применения статинов. Полученные результаты распространенности генотипов пациентов в московской популяции схожи с данными полученными в других исследованиях российских авторов [286; 298].

Исходные значения исследуемых биохимических показателей, отражающих безопасность применения статинов – КФК, АСТ, АЛТ находились в пределах референтных значений у всех пациентов. Исходный уровень КФК был несколько выше у пациентов, носителей генотипа СС, однако данные изменения не были статистически значимы ($p < 0.05$). Достоверной взаимосвязи между исходными значениями КФК, АЛТ и АСТ, а также исходным уровнем ЛПНП и общего холестерина и носительством различных генотипов SLCO1B1 не выявлено. Полученные на основании биохимических показателей данные свидетельствуют об отсутствии влияния носительства различных генотипов SLCO1B1 на исходный уровень ЛПНП, общего холестерина, а также маркеры «безопасности» терапии статинами.

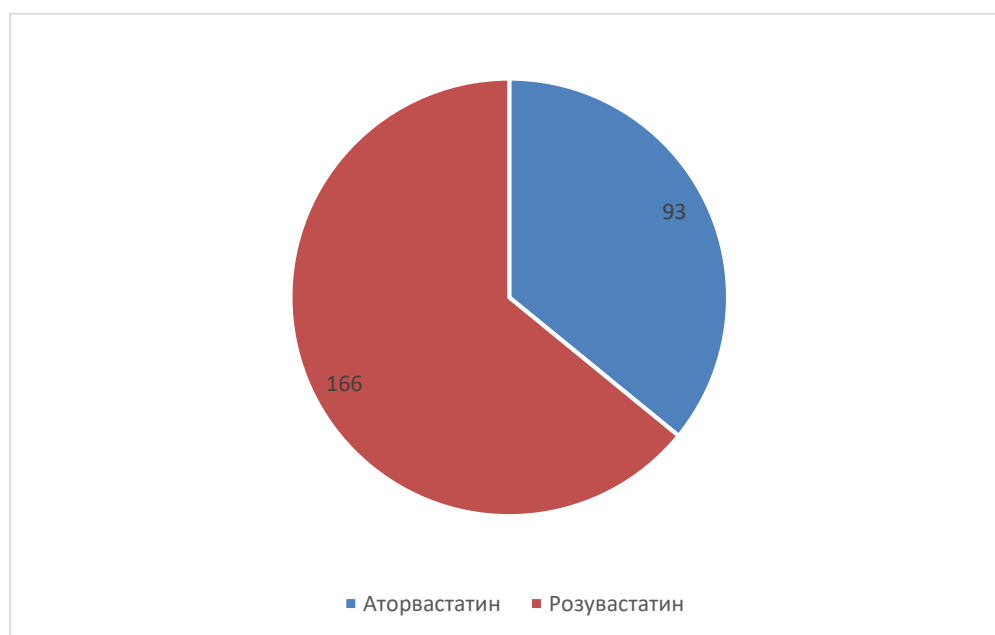


Рисунок 5. Частота назначения статинов пациентам, включенным в исследование.

Средний срок госпитализации пациентов составил 12.85 ± 2.3 койко-дней. Всем пациентам было показано назначение статинов. Как видно на рисунке 5: 93 пациентам (35.9%) назначен аторвастатин, 166 пациентам (64.09%) – розувастатин.

Аторвастатин назначался в дозах 10-40 мг в сутки – как видно на рисунке 6 - 6 пациентов получали аторвастатин в дозе 10 мг в сутки, 19 – 20 мг в сутки, большей части пациентов – 68 пациентов получали аторвастатин в дозе 40 мг в сутки. Средняя назначенная доза аторвастатина составила 33.97 ± 8.8 мг в сутки.

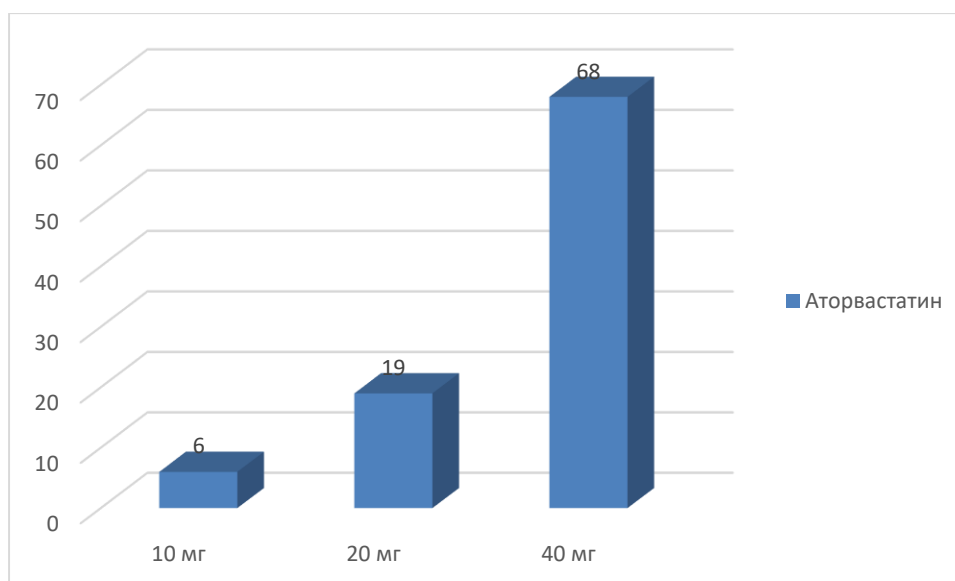


Рисунок 6. Дозы назначения аторвастатина

Розувастатин назначался в диапазоне доз 10-20 мг в сутки, при этом большая часть больных – 163 пациента в дозе 10 мг в сутки, 3 пациента 20 мг в сутки (рисунок 7). Средняя назначенная доза розувастатина составила 10.18 ± 0.35 мг в сутки.

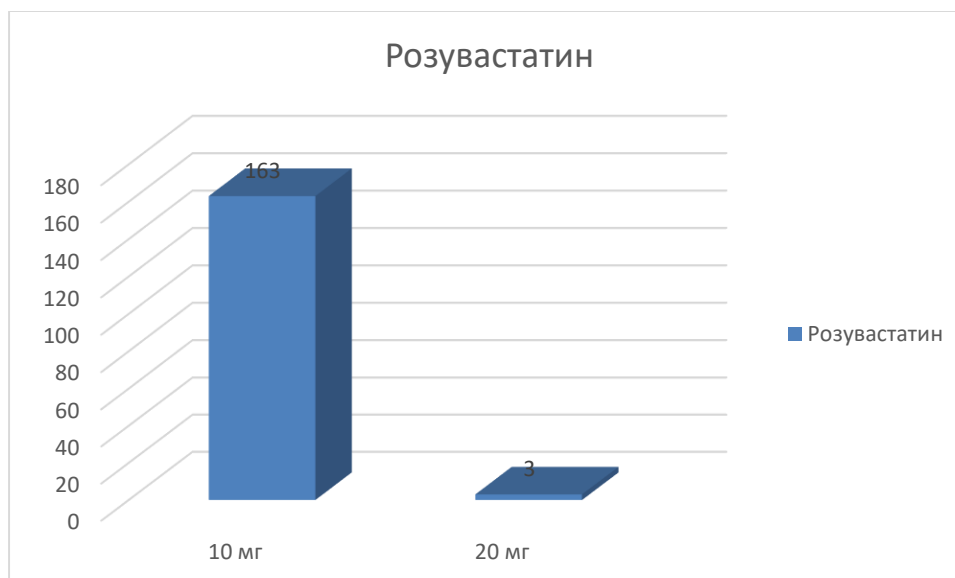


Рисунок 7. Дозы назначения розувастатина

За период госпитализации клинических и инструментальных признаков поражения мышечной ткани не зарегистрировано. Исследование биохимических маркеров безопасности и эффективности применения статинов проводилось 2 раза у всех пациентов – исходно и перед выпиской из стационара: уровень КФК, АЛТ, АСТ оставался в пределах референтных значений у всех пациентов, включенных в исследование. К моменту выписки уровень ЛПНП, общего холестерина достоверно снижался у всех пациентов ($p > 0.05$), что наиболее вероятно связано с назначением статинов, а также строгим соблюдением гиполипидемической диеты.

Как видно из полученных данных при назначении статинов часто наблюдается назначение препаратов в низких, неэффективных дозах, что наиболее вероятно может объясняться страхом врачей перед развитием статин-индуцированного поражения мышечной ткани, а также отсутствию распространения четких рекомендаций по назначению и контролю за эффективностью и безопасностью проводимой терапией статинами.

4.2 Анализ отдаленных результатов терапии статинами, у пациентов, прошедших фармакогенетическое тестирование

На момент проведения второго этапа исследования средний срок приема статинов пациентами составил 13.1 ± 0.9 месяцев. Проводился опрос пациентов с помощью специально разработанной анкеты. Пациентам предлагалось ответить на вопросы, с целью оценки эффективности применения фармакогенетического тестирования.

Анкетирование проводилось по телефону, в случае необходимости пациентам предлагалось пройти очную консультацию и дообследование в Центре персонализированной медицины ГКБ №23 им. Давыдовского. На момент анкетирования прием статинов продолжили 248 пациентов, 7 пациентов (2.7%) самостоятельно прекратили прием статинов сразу после выписки из стационара, причин прекращения приема объяснить не могут; 4 пациента (1.5%) прекратили прием статинов из-за появления болей в мышцах на фоне приема статинов. Проведен подробный анализ для оценки возможной взаимосвязи между применением статинов

и возникновения «мышечных» симптомов у данных пациентов. Средний срок приема статинов у данных пациентов составил 4 ± 1.2 месяца. Все пациенты получали аторвастатин в дозе 20 мг в сутки, следует отметить что все прекратившие прием статинов из-за появления болевого синдрома являлись носителями генотипа ТТ гена SLCO1B1 т.е. находятся в группе низкого риска развития статин-индуцированного поражения мышечной ткани по данным фармакогенетического мониторинга. Проведен опрос пациентов с помощью количественной шкалы диагностики статин-индуцированной миопатии, по результатам которого взаимосвязь «мышечных» симптомов с приемом статинов расценена как маловероятная. Пациентам, прекратившим прием статинов после выписки из стационара предложена повторное обследования, однако от очного визита в Центр персонализированной медицины для консультации и дообследования, не смотря на проведенную беседу о необходимости дальнейшего приема статинов, пациенты отказались.

248 пациентов на момент опроса, продолжавшие принимать назначенную гиполипидемическую терапию включены в итоговый анализ. Средний срок приема статинов составил 12.9 ± 0.8 месяцев. Среди пациентов, продолжающих прием статинов 248 человек (100%) ответили, что понимают необходимость постоянного приема статинов. 186 человек (75%) сообщили о том, что принимают препарат регулярно, 62 пациента (25%) сообщили о том, что периодически пропускают прием препарата. При этом большинство пациентов (93%) ответили, что пропускают прием препарата не более 1-2 раз в месяц. Более, чем у половины пациентов – у 163 пациентов – потребовалось увеличение принимаемой дозы статинов. На основании чего можно сделать вывод, что часто статины назначаются в недостаточных, неэффективных дозах.

Из 248 пациентов 13 пациентов (5.2%) (10 пациентов, носителей генотипа SLO1B1 ТТ, 3 пациента СС) сообщили, что на фоне применения статинов отмечали незначительные боли в мышцах, не потребовавших отмены или снижения дозы препарата, у 10 пациентов не выявлено отклонений биохимических показателей крови, у 3 других пациентов носителей генотипа ТС выявлено незначительное повышение АЛТ в среднем до 1.32 ± 0.15 верхней границы нормы и АСТ до 1.24 ± 0.17

верхней границы нормы, КФК находилось в пределах референтных значений. Следует отметить, что у этих 3 пациентов имелись следующие сопутствующие заболевания: стеатоз печени, ожирение 2 степени, а также сахарный диабет 2 типа. При проведении опроса пациентов с помощью количественная шкалы диагностики статин-индуцированной миопатии – связь вышеописанных симптомов с приемом статинов оценена как маловероятная.

В целом частота возникновения мышечных симптомов у исследуемой группы пациентов не превышала 5.2%, что незначительно превышает данные, полученные в исследовании STOMP, где частота развития миалгий у пациентов группы плацебо составила 4.6% [159]. На основании чего можно сделать вывод о том, что статины хорошо переносились пациентами, включенными в исследование, достоверных признаков развития статин-индуцированной миопатии не зарегистрировано ни у одного пациента.

На момент проведения анкетирования у 195 пациентов на фоне проводимой терапии статинами и соблюдения гиполипидемической диеты уровень ЛПНП и общего холестерина снизился до целевых значений. У 53 пациентов на момент анкетирования снижения уровня ЛПНП и общего холестерина достигнуто не было, при этом наибольшая часть пациентов сообщили о том, что не соблюдают гиполипидемическую диету. С пациентами проведена повторная беседа о необходимости соблюдения гиполипидемической диеты, даны ответы на интересующие вопросы по поводу проводимой терапии статинами. Наиболее вероятной причиной неэффективности терапии статинами в данном случае следует рассматривать низкие применяемые дозы статинов, а также несоблюдение диетических рекомендаций. Пациентам рекомендована повторная консультация для решения вопроса о возможной коррекции гиполипидемической терапии. При проведении статистического анализа взаимосвязи между неэффективностью проводимой терапии статинами и носительством различных генотипов SLCO1B1 не выявлено.

На основании вышеописанных данных можно сделать вывод о том, что в большинстве случаев наиболее вероятными причинами неэффективности

проводимой терапии статинами, не достижения снижения ЛПНП и общего холестерина до целевого уровня обусловлена назначением низких, недостаточных доз статинов, а также несоблюдением гиполипидемической диеты.

Был проведен опрос для выявления мнения пациентов об изменении качества жизни на фоне начатой терапии статинами. Все пациенты, продолжающие принимать статины полностью удовлетворены проводимой терапией, понимают необходимость дальнейшего приема препаратов. 230 пациентов (88.8%) ответили, что полностью удовлетворены результатами проведения фармакогенетического тестирования и своим участием в данном исследовании, а также согласились бы на повторное участие в подобном исследовании. По результатам анализа анкет 96% пациентов не отметили изменения качества на жизни на фоне проводимой терапии статинами, 4% пациентов ответили, что качество жизни на фоне применения статинов улучшилось за счет получения большей информации о своем заболевании, а также возможности участия в собственном лечении.

В большом количестве исследований показано, что повышение приверженности к лечению пациентов, а также длительность приема статинов оказывают огромное влияние на отдаленные результаты лечения с точки зрения профилактики осложнений у пациентов с ишемической болезнью сердца. По данным обзора трех проведенных метаанализов риск развития инфаркта миокарда на фоне применения статинов снижался в течение первого года на 11%, второго — на 24%, третьего — на 33%, у пациентов, получавших статины в течении 3 лет и более — на 36% ($p < 0,001$). При этом снижение уровня ЛПНП в течении 2 лет на 0,5 ммоль/л сопровождалось снижением риска коронарных событий, в том числе инфаркта миокарда на 20%, при снижении на 1 ммоль/л — на 31%, 1,6 ммоль/л — на 51%, 1,8 ммоль/л — на 61% ($p < 0,001$). Кроме того, снижение уровня ЛПНП на 1 ммоль/л приводило к снижению риска мозговых катастроф у пациентов на 10%, снижение ЛПНП на 1,8 ммоль/л — на 17% [28]. По представленным данным видно, что для снижения риска инфаркта миокарда и инсульта необходимо достижение следующих целей: повышение эффективности проводимой терапии статинами – снижения уровня ЛПНП, а также длительный постоянный прием статинов пациентами. Однако по

данным, полученным в исследованиях, в том числе на территории Российской Федерации показано, что до 75% пациентов прекращают прием статинов в течение 24 месяцев после начала терапии [33], при этом у 65% пациентов главной причиной несоблюдения рекомендованного режима приема и отмены статинов послужило возникновение «мышечных» симптомов [34]. Таким образом, наиболее важным условием повышения эффективности проводимой терапии статинами в снижении уровня ЛПНП и общего холестерина и снижении риска осложнений атеросклероза является постоянная работа с пациентами, направленная на информирование пациента о необходимости постоянного(пожизненного) приема статинов, а также снижение частоты нежелательных явлений, по причине которых пациенты могут самостоятельно прекращать терапию статинами. Следовательно, повышение приверженности пациентов к лечению статинами является одной из ключевых точек повышения эффективности проводимой терапии статинами.

Полученные в ходе исследования данные показывают, что 95.7% пациентов, включенных в исследование, у которых проводилось фармакогенетическое тестирование продолжают принимать статины на протяжении более 12 месяцев (12.9 ± 0.8 месяцев), частота развития миалгии на фоне проводимой терапии не превышала частоту миалгий в группе плацебо существующих исследований. Статин-индуцированной миопатии не зарегистрировано ни у одного пациента, что связано с четкими рекомендациями, выданными на руки относительно максимальных безопасных доз статинов у каждого пациента, включенного в исследование.

В настоящее время отсутствует единая разработанная тактика предупреждения утраты приверженности лечению статинами, однако по полученным нами данным проведение фармакогенетического тестирования существенно повышает приверженность пациентов к проводимой терапии, повышает возможность контакта врач-пациент, снижает количество пациентов прекративших прием статинов в течении первых 12 месяцев после начала их применения, кроме того ни у одного пациента, включенного в исследования не зарегистрировано случаев развития статин-индуцированного поражения мышечной ткани.

4.3 Результаты проведенного анкетирования врачей

С целью изучения осведомленности практических врачей о возможностях и показаниях к проведению фармакогенетического тестирования, а также, а также оценки удовлетворённости врачей применением фармакогенетического тестирования проводилось анонимное анкетирование врачей с помощью специально разработанных анкет-опросников. Все врачи, включенные в исследование, работают в медицинских учреждениях города Москва. Всего в ходе выполнения данной работы проведено анкетирование 137 врачей, поскольку наиболее часто варфарин и препараты группы статинов применяются в практике врачей-терапевтов и кардиологов, врачи данных специальностей выбраны в качестве основной «фокус»-группы. Всего в анкетировании учувствовали 81 врач терапевт (59.1%) и 56 врачей-кардиологов (40.9%). При проведении анкетирования учитывались такие параметры как возраст врача, общий врачебный стаж, место работы (стационар или поликлиническое отделение). Средний возраст врачей составил 35.8 ± 8.9 лет. Средний срок, прошедший с момента окончания ВУЗа опрошенными врачами, составил 12.7 ± 8.2 лет.

Первоначально врачам задавался вопрос о сроках получения результатов исследования МНО в ЛПУ, в котором они работают. 128 врачей (93.4%) ответили, что получают результаты контроля МНО только на следующий рабочий день. Только 9 (6.56%) врачей ответили, что имеют возможность контроля МНО прямо на рабочем месте с помощью портативного прибора контроля МНО, что позволяет производить своевременную коррекцию дозы варфарина, что особенно важно на этапе подбора дозы варфарина. В нескольких исследованиях доказано преимущество применения приборов для экспресс-контроля МНО перед классическим методом определения МНО: внедрение данной методики может значительно повысить время нахождения пациента в пределах терапевтических значений МНО, способствуя снижению частоты тромботических и геморрагических осложнений на фоне применения варфарина [83].

В дальнейшем всем врачам было предложено выбрать определение термина «Фармакогенетика» из 5 предложенных эталонных вариантов, большинство врачей –

79.5% дали правильный ответ, оставшиеся 21.5% оказались не знакомы с понятием термина «Фармакогенетика».

99 врачей (72.2%) ответили, что информированы о возможности и показаниях для проведения фармакогенетического тестирования. При этом почти половина опрошенных врачей (45%) переоценивают свои знания и понимание области применения существующих фармакогенетических тестов, назвав несуществующие тесты, по их мнению, применяемые в клинической практике. 38 опрошенных врачей (28.8%) ответили, что не слышали о возможности проведения фармакогенетического тестирования, при этом этой группе врачей предложено предположить в каких ситуациях могло бы быть полезно применение фармакогенетического тестирования: 20 врачей (52.6%) выбрали правильный из «эталонных» ответов, предусмотренных в опроснике.

Основной проблемой внедрения фармакогенетического тестирования для индивидуализации проводимой терапии большинство врачей назвали отсутствие лабораторий в лечебных учреждениях (70.8%), а также высокую стоимость фармакогенетического тестирования в частных лабораториях (51.8%). Только 11 врачей (8%) ответили, что применяют фармакогенетическое тестирование в своей практике, при этом следует отметить, что только 5 врачей (3.6%) сообщили, что выполнение фармакогенетического тестирования доступно в их ЛПУ.

Наибольшая часть врачей (62.7%) ответили, что получают информацию о новых препаратах для медицинского применения, а также новых методах обследования по результатам посещения конференций, а также чтению медицинской периодики, 19.7% ответили, что получают информацию от коллег, 18.2% врачей сообщили, что получают информацию во время посещения курсов повышения квалификации.

Из всех опрошенных врачей только 34 врача (24.8%) ответили, что умеют интерпретировать результаты фармакогенетического тестирования, 103 врача (75.18%) признались в том, что не представляют, как интерпретировать результаты фармакогенетического тестирования. Большинство опрошенных врачей (97.08%) ответили, что хотели бы узнать больше о возможностях проведения

фармакогенетического тестирования и готовы применять фармакогенетическое тестирования в своей клинической практике и при возможности посетили бы посвященные данной проблеме конференции и семинары.

На основании полученной информации можно сделать вывод о том, что основными проблемами на пути внедрения фармакогенетического тестирования в клиническую практику являются

1. низкая доступность и распространенность фармакогенетического тестирования в лабораториях лечебных учреждениях города Москва;
2. недостаточная информированность врачей во возможностях и показаниях к выполнению фармакогенетического исследования;
3. отсутствие мероприятий, направленных на повышение информированности врачей по поводу фармакогенетического тестирования;
4. отсутствие отечественных рекомендаций по применению фармакогенетических тестов в клинической практике;
5. высокая стоимость проведения фармакогенетического тестирования в частных лабораториях.

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Частота выявления полиморфных вариантов CYP2C9 и различных генотипов VKORC1 среди пациентов жителей города Москва

По полученным результатам пациентов, представителей популяции города Москвы структура примерно совпадала с результатами других работ, выполненных у пациентов славянской национальности. У 53 пациентов (58.9%) выявлено носительство полиморфного варианта CYP2C9 1*1. Гетерозиготное носительство аллельных вариантов CYP2C9 1*2 выявлено у 19 пациентов (21.1%), CYP2C9 1*3 у 8 пациентов (8.9%), CYP2C9 2*2 у 5 пациентов (5.5%), CYP2C9 2*3 у 4 пациентов (4.4%), гомозиготное носительство CYP2C9*3 выявлено у 1 пациента (1.1%). Носительство аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 может приводить к чрезмерной гипокоагуляции и повышенному риску развития кровотечений, за счет снижения скорости биотрансформации варфарина и повышения его концентрации в плазме крови [250]. Следует отметить, что активность CYP2C9 у носителей аллельного варианта *3 снижена значительно в большей степени и составляет всего 5% от нормальной [250].

До 30% вариабельности дозы кумариновых производных, а, следовательно, выраженности антикоагулянтного эффекта варфарина обусловлено воздействием на ген VKORC1, кодирующий молекулу-мишень варфарина [205]. У 93% пациентов, у которых на фоне проводимой терапии варфарином отмечались эпизоды чрезмерной выявлено носительство аллеля 1639A гена VKORC1. Кроме того, в исследованиях показано, что у гомозиготных носителей аллеля 1639G не удавалось достичь целевых значений МНО при применении варфарина в терапевтических дозах. У пациентов с генотипом AA по полиморфному маркеру G1639A при применении варфарина по традиционной схеме статистически значимо более часто отмечаются кровотечения, а также «выходы» за пределы терапевтического диапазона МНО. В ряде исследований показано, что у пациентов с выявленным полиморфизмом CYP2C9*2, CYP2C9*3, а также носительством аллели A гена VKORC1, поддерживающая доза варфарина была ниже, а целевые значения МНО достигались в более короткие сроки. Полиморфизмом

VKORC1 и CYP2C9 определяется ~30% и ~ 12% вариабельности дозы варфарина соответственно [203; 222; 269].

В ходе выполнения данного исследования также проводилось изучение частоты носительства полиморфных вариантов гена VKORC1. По полученным данным более трети пациентов -33.3% являются носителями аллельного варианта AA и находятся в группе повышенного риска гипокоагуляции на фоне варфаринотерапии; аллельный вариант GG выявлен у 35.5% пациентов – у пациентов данной группы требуется применение более высоких доз варфарина, применение варфарина в стандартных дозах с большой вероятностью будет неэффективно и не позволит достичь терапевтического диапазона МНО. По результатам изучения распространенности носительства полиморфных вариантов CYP2C9 и VKORC1 среди пациентов, популяции города Москва – 41.1% пациентов являются носителями полиморфных вариантов CYP2C9, в результате чего с учетом выявленной частоты носительства генотипов гена VKORC1, изменяющих чувствительность варфарина, более, чем у половины можно ожидать изменение чувствительности к варфарину. Полученные данные распространенности носительства полиморфных вариантов CYP2C9 среди популяции пациентов Москвы статистически значимо не отличается от данных, полученных у пациентов славянской национальности, проживающих в Ставрополье [Царукян А.А., 2013].

Расчет поддерживающей дозы варфарина и титрование дозы варфарина у пациентов группы ФГ «+» производился на основании данных, полученных при проведении фармакогенетического мониторинга с целью выявления полиморфных вариантов CYP2C9 и VKORC1, а также с учетом множества других факторов, влияющих на выраженность терапевтического эффекта при применении варфарина, таких как курение, одновременный прием амиодарона, который часто применяется у пациентов с фибрилляцией предсердий, а также заболевания печени.

Выявлено преимущество применения фармакогенетического тестирования для подбора дозы варфарина (ФГ «+») по сравнению с традиционным алгоритмом дозирования (ФГ «-»). Подбор дозы варфарина может существенно удлинять срок нахождения пациентов в стационаре или продолжаться на амбулаторном этапе

лечения, в связи с чем повышаются затраты на лечение данной группы пациентов, связанные со сроком госпитализации пациента, а также внеплановых визитах к врачу для коррекции дозы и внепланового контроля МНО, особенно у «проблемных пациентов», носителей аллельных вариантов CYP2C9 *2 и *3, носительство которых сопряжено с высокими концентрациями варфарина в крови [250].

По полученным в данном исследовании результатам у пациентов группы ФГ «+» срок достижения целевого диапазона МНО был почти на 30% короче по сравнению с пациентами, у которых применялся традиционный алгоритм дозирования и составлял $6.2 \pm 0,9$ койко-дней в группе ФГ «+» и $9.1 \pm 1,5$ койко-дней в группе ФГ «-». Пациентам группы ФГ «+» в среднем требовалось меньшее количество измерений МНО во время нахождения в стационаре: $2.4 \pm 0,2$ у группы ФГ «+» против $4,1 \pm 0,3$ в группе ФГ «-», что может свидетельствовать о большей точности дозирования варфарина у пациентов группы ФГ «+», а также лучшем контроле за антикоагулянтной терапией.

Кроме того, средняя продолжительность госпитализации пациентов группы ФГ «+» была меньше по сравнению с пациентами, которым варфарин назначался по традиционному алгоритму (группа ФГ «-») и составила $12,0 \pm 4,1$ и $19,1 \pm 6,0$ койко-дней соответственно. Сделан вывод о том, что внедрение фармакогенетического тестирования в клиническую практику может позволить уменьшить продолжительность госпитализации, связанной с подбором дозы варфарина, а значит и затраты, связанные с нахождением пациента в стационаре.

По нашим данным применение фармакогенетического тестирования приводило к существенному увеличению количества пациентов, у которых МНО при выписке находилось в пределах терапевтического диапазона: в группе ФГ «+» 77% по сравнению с 37% в группе ФГ «-». Таким образом в большинстве случаев пациентам группы ФГ не требовалось проведение титрования дозы варфарина на амбулаторном этапе, что подтверждено данными, полученными в ходе оценки отдаленных результатов – коррекция дозы варфарина потребовалась только у 5.7% пациентов, у которых МНО при выписке находилось в пределах терапевтического диапазона. При этом практически варфарин был отменен только у одного пациента группы ФГ «+», в связи с низкой приверженностью к терапии и несоблюдения режима приема

препарата, а также контроля за МНО. Остальные пациенты продолжают прием варфарина, точность предсказанной конечной дозы варфарина на фоне проведения фармакогенетического тестирования по нашим данным составила более 94%. Нахождение МНО у 23% группы ФГ «+» за пределами терапевтического диапазона наиболее вероятно связано с недотитрованием дозы варфарина на госпитальном этапе.

На основании вышеописанных данных можно сделать вывод о высокой прогностической точности фармакогенетического метода подбора дозы варфарина, а также лучшим контролем за МНО у пациентов, у которых применялось фармакогенетическое тестирование. За период госпитализации у пациентов группы ФГ «+» для подбора дозы варфарина в среднем требовалось $2,9 \pm 0,3$ шагов титрования дозы, в то время как у пациентов группы ФГ «-» потребовалось $4,0 \pm 0,4$ шагов титрования дозы варфарина ($p < 0,0001$). Сделан вывод о более высокой точности подбора дозы варфарина и повышении эффективности проводимой терапии варфарином при применении фармакогенетического тестирования.

Оценка риска кровотечений

Для оценки эффективности и безопасности начатой терапии варфарином на госпитальном этапе проведена оценка числа пациентов, у которых регистрировались эпизоды повышения МНО выше 3.0. Следует отметить, что повышение показателя МНО более 3,0, а особенно выше 4.0 на фоне проводимой терапии варфарином ассоциировано с повышенным риском развития «больших» и «малых» кровотечений. Доля пациентов среди группы ФГ «+», у которых регистрировалось повышение МНО выше 3.0 была значительно ниже по сравнению с пациентами группы ФГ «-»: 4.85%:vs 51% ($p < 0.001$); повышение МНО выше 4.0 не зарегистрировано ни у одного пациента группы ФГ «+», в то время как среди пациентов группы ФГ «-» повышение МНО выше 4.0 зарегистрировано у 12.2%. Еще одним важным показателем оценки эффективности проводимой терапией варфарином является число пациентов не достигших целевых значений МНО за период госпитализации, с этой целью проведен анализ количества пациентов, у которых МНО находилось в диапазоне <2 и >3 : среди пациентов группы ФГ «+» данный показатель составил 23%, в то время как в группе

ФГ «-» - 63% т.е. более, чем у половины пациентов целевые значения МНО за период госпитализации достигнут не был. На основании полученных данных сделан вывод о том, что применение фармакогенетического тестирования при подборе дозы варфарина позволяет оптимизировать режим дозирования, а также повышает безопасность и эффективность проводимой антикоагулянтной терапии.

При этом согласно данным различных исследований частота «больших» кровотечений может достигать 5.2% в год при этом от 0.07% до 0.7% всех «больших» заканчивается фатально. «Малые» кровотечения встречаются намного чаще – их частота может достигать 15% в год [118]. По данным, полученным в исследовании Козловой Т.В. в 2005 году в течении первого года наблюдения за пациентами, получавшими варфарин частота кровотечений составила около 20%, при этом почти 70% эпизодов кровотечений регистрировались в течении первых 6 месяцев лечения на этапе подбора дозы варфарина. В долгосрочной перспективе частота кровотечений снижалась и составляла 6.4% и 3.8% на 2 и 3 год терапии варфарином соответственно [237]. Таким образом можно сделать вывод о том, что наиболее опасным с точки зрения развития кровотечений является первый год проводимой терапии, а также период подбора дозы варфарина.

На основании полученных нами данных, у пациентов, получавших варфарин на протяжении более 12 месяцев можно сделать вывод, в долгосрочной перспективе применение фармакогенетического тестирования существенно повышает безопасность проводимой терапии варфарином – среди всех пациентов группы ФГ «+»- не зарегистрировано ни одного эпизода «больших» кровотечений и только у пациента имел место 1 эпизод «малого» кровотечения (1.1%).

Оценка влияния выполнения фармакогенетического тестирования на приверженность пациентов к проводимой терапии варфарином

Приверженность пациентов к проводимой фармакотерапии варфарином во многом определяет отдаленный прогноз у данной группы пациентов и играет ключевую роль в профилактике осложнений сердечно-сосудистых заболеваний [136; 155]. Низкая приверженность к лечению среди пациентов является причиной 5% среди всех госпитализаций, что приводит к затратам свыше 8 миллиардов долларов

США ежегодно [104]. При этом низкая приверженность пациентов к терапии варфарином, а также нерегулярный контроль МНО может повышать риск кровотечений на фоне приема варфарина до 3.8 раз [233].

Таким образом проблема комплаентности пациентов является важно медико-экономической проблемой, особенно при применении препаратов с узким терапевтическим диапазоном, например, варфарина. При проведении анализа отдаленных результатов влияния применения фармакогенетического тестирования на комплаентность пациентов на фоне проводимой терапии варфарином получены следующие результаты – пациенты группы ФГ «+» в 96.6% случаев ответили, что выполняют рекомендации лечащего врача и регулярно проводят контроль МНО, на момент анкетирования МНО находилось в пределах диапазона 2.0-3.0 у всех пациентов. Кроме того, только 1 пациент сообщил о том, что за весь период терапии варфарином пропустил прием препарата более 3 раз, 38.2% пациентов ответили, что не пропустили приема варфарина ни разу, 60.67% пропускали прием варфарина не более 2-х раз. Сделан вывод о том, что среди пациентов группы фармакогенетического приверженность к лечению была существенно выше, что может объясняться тем, что в большинстве случаев терапевтическая доза варфарина была подобрана на этапе стационарного лечения или на раннем постгоспитальном этапе, в связи с чем у большинства пациентов отсутствовала необходимость постоянной коррекции дозы варфарина, а также снижению частоты нежелательных явлений, что во многих случаях может приводить к снижению приверженности пациентов к проводимой терапии. Кроме того, пациенты группы ФГ «+» имели постоянную возможность обратной связи с лечащим врачом, чем также может объясняться повышение приверженности пациентов к проводимой терапии.

Больше половины пациентов – 53.93% не отметили изменения качества жизни на фоне начатой терапии варфарином, 46.06% сообщили о том, что отмечают снижение качества жизни после назначения варфарина, связанное с необходимостью постоянных визитов в поликлинику для контроля МНО. Проблема контроля МНО в настоящее время стоит достаточно остро – в большинстве случаев результаты определения МНО при визите в поликлинику готовы только на следующий день

после взятия крови, что является неприемлемым для контроля за проводимой терапией. Решением данной проблемы может стать оснащение врачей поликлиник и/или пациентов приборами контроля МНО. По результатам нескольких исследований показано преимущество применения приборов для самоконтроля МНО перед рутинным наблюдением в поликлинике: применение приборов самоконтроля может значительно повысить время нахождения пациента в пределах терапевтических значений МНО, способствуя снижению частоты тромботических и геморрагических осложнений на фоне применения варфарина [83]. В исследовании Mendez-Jandula В. показано, что применение приборов самоконтроля МНО по сравнению с традиционным контролем способствовало снижению частоты «больших» кровотечений на 5.1%, «малых» кровотечений на 21.5%, кроме того у пациентов, применявших приборы самоконтроля показатель «время нахождения в терапевтическом диапазоне МНО» был на 2% выше [138]. Однако, среди опрошенных пациентов только 4.49% приобрели прибор для самоконтроля МНО, практически все пациенты – 83% сообщили, что слышали о возможности самоконтроля МНО, однако не могут приобрести прибор по причине его высокой стоимости. Таким образом основной причиной снижения качества жизни пациентов, получающих варфарин является необходимость явки в поликлинику для контроля МНО. Решением проблемы могло бы стать внедрение квот и/или государственного финансирования для приобретения приборов контроля МНО, а также оснащение ими врачей поликлиник может, что также могло бы в значительной степени снизить частоту нежелательных явлений на фоне терапии варфарином, за счет своевременной коррекции дозы варфарина, а также повысить качество жизни пациентов за счет отсутствия необходимости постоянного посещения поликлиники. Кроме того, активное внедрение приборов для контроля МНО для врачей и пациентов может привести к снижению затрат здравоохранения, связанных с терапией с варфарином – снизить частоту кровотечений и тромботических осложнений и связанные с этим затраты, а также сократить затраты здравоохранения на очные консультации врача для контроля МНО.

На основании полученных данных сделан вывод о том, что применение фармакогенетического тестирования существенно повышало приверженность пациентов к проводимой терапии варфарином - почти все пациенты регулярно проводили контроль МНО, эпизоды пропуска приема варфарина отмечены только у 3.4% пациентов. Практически все пациенты (94.3%) продолжили прием варфарина в первоначально подобранной дозе, при этом коррекции дозы не требовалось на протяжении всего исследуемого периода. Эпизодов «больших» кровотечений и тромботических осложнений на протяжении всего исследуемого периода не зарегистрировано ни у одного пациента.

Точность определения «предсказанной» поддерживающей дозы варфарина, рассчитанной на основании данных фармакогенетического мониторинга

Титрование дозы варфарина проводилось с использованием калькулятора на сайте warfarindosing.org, у 77% пациентов при применении фармакогенетического тестирования удалось достичь целевого диапазона МНО при выписке из стационара.

Прогнозируемая расчетная поддерживающая доза варфарина находилась в пределах расчетного диапазона наиболее вероятной поддерживающей дозы у 94.38% пациентов. На основании полученных результатов можно сделать вывод о высокой точности индивидуального расчета дозы варфарина, основанного на проведении фармакогенетического тестирования. Полученные нами данные совпадают с отечественным исследованием, проведенном в 2015 году, выполненной Гаврисюк Е.В. – точность метода по данным полученным в исследовании составлял 93% [223].

Частота носительства полиморфных вариантов SCLO1B1 среди пациентов жителей города Москва и его влияние на эффективность и безопасность проводимой терапии статинами

На текущий момент отмечается неуклонный рост частоты назначения статинов пациентам с сердечно-сосудистыми заболеваниями, однако применение ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы не всегда приводит к достижению целевых значений ЛПНП и общего холестерина даже у пациентов с высокой приверженностью к терапии [Chatzizisis Y.S., et al., 2010], что может объясняться тем, что врачами часто

назначаются низкие, неэффективные дозы статинов по причине опасений по поводу развития нежелательных явлений на фоне их применения, что было показано в ходе выполнения данного исследования. По результатам проведенных рандомизированных контролируемых исследований жалобы на боли в мышцах возникают у 5-7% пациентов, у которых проводится терапия статинами, также зарегистрированы случаи развития рабдомиолиза на фоне применения статинов, который возникает по разным данным с частотой от 0,44 до 0,54 случаев на 10000 человек в год [8]. Появление «мышечных» симптомов может значительно снижать приверженность к лечению у пациентов и в ряде случаев приводить к полной отмене гиполипидемической терапии. Наиболее частой причиной отмены статинов и назначения неадекватных доз статинов являются опасения врачей-клиницистов по поводу возможного развития миопатий, рабдомиолиза и лекарственного поражения печени на фоне применения статинов [230].

В большом количестве исследований показано, что на отдаленный прогноз у пациентов с высоким риском сердечно-сосудистых осложнений огромное влияние оказывает повышение приверженности к лечению пациентов, а также длительность приема статинов. По данным трех проведенных метаанализов риск развития инфаркта миокарда на фоне применения статинов снижался в течение первого года на 11%, второго — на 24%, третьего — на 33%, у пациентов, получавших статины в течение 3 лет и более — на 36% ($p < 0,001$). При этом снижение уровня ЛПНП в течение 2 лет на 0,5 ммоль/л сопровождалось снижением риска коронарных событий, в том числе инфаркта миокарда на 20%, при снижении на 1 ммоль/л — на 31%, 1,6 ммоль/л — на 51%, 1,8 ммоль/л — на 61% ($p < 0,001$). Кроме того, снижение уровня ЛПНП на 1 ммоль/л приводило к снижению риска мозговых катастроф у пациентов на 10%, снижение ЛПНП на 1,8 ммоль/л — на 17%. Однако, среди пациентов российской популяции, по данным Шальной С.А. и соавторов через 3 года после начала терапией статинами прием статинов продолжают менее 6% больных, при этом целевые значения ЛПНП достигаются только у трети пациентов [295].

Риск развития миопатий и рабдомиолиза, а также поражения печени на фоне применения статинов многие авторы связывают с дефектом переносчиков

органических анионов, отвечающих за захват статинов гепатоцитами. На активность переносчиков оказывает выраженное влияние носительство аллельных вариантов гена *SLCO1B1* [44]. Кроме того, в ряде исследований зарубежных авторов показана взаимосвязь между носительством аллельных вариантов *SLCO1B1**5 с повышенной частотой развития миопатий при применении статинов [126]. В настоящее время проведение генотипирования по *SLCO1B1* у пациентов, которым планируется лечение статинами рекомендовано к использованию экспертами Европейского научного фонда (ESF) [15] с целью прогноза риска развития поражения мышечной ткани и максимальной безопасной дозы статинов. На территории Европейского Союза и США статус фармакогенетического тестирования не регламентирован. Однако, с учетом существующего риска поражения мышечной ткани в 2011 году FDA рекомендовано ограничить применение симвастатина до 80 мг в сутки (по данным FDA риск развития статин-индуцированных миопатий при применении симвастатина в дозе 80 мг в сутки составляет 0.9% по сравнению с 0.02%, при применении дозы 20 мг в сутки [<http://www.fda.gov/forconsumers/consumerupdates/ucm257884.htm>]). Основной целью применения фармакогенетического теста является прогнозирование риска статин-индуцированного поражения мышечной ткани (в том числе и рабдомиолиза) у пациентов, которым планируется назначение препаратов группы статинов, а также персонализированный подбор максимальной безопасной дозы статинов.

*SLCO1B1**5 (c.521T>C, rs4149056) — аллельный вариант гена *SLCO1B1* (кодирует полипептид, транспортирующий органические анионы, участвующего в выведении статинов печенью в желчь) В ходе выполнения данной работы нами проведена оценка распространенности частоты носительства полиморфных вариантов *SLCO1B1* у пациентов населения города Москва. Средний возраст пациентов, включенных в исследования составил 66.6 ± 9.16 лет. У всех пациентов (259 человек), включенных в исследования был установлен диагноз ИБС, почти у всех пациентов имелась сопутствующая патология: артериальная гипертензия (98.4%), ожирение (52,1%), стеатоз печени (50.5%), нарушение сердечного ритма (33.9%), а также сахарный диабет 1 и 2 типа (27.4%).

Распространенность носительства аллельных вариантов SLCO1B1*5 по полученным нами данным составила: TT - 69.11%, TC - 25.48%, CC - 5.4%. В работах ряда авторов получены схожие результаты: генотип TT – 61%, TC – 32,5%, CC – 6,5% [273]. Можно сделать вывод о том, распространенность носительства С-аллели гена SLCO1B1 у пациентов популяции города Москвы не отличается от российской популяции в целом. По полученным данным выявлена высокая частота носительства С аллеля, которая по различным данным может достигать 30% среди пациентов российской популяции, следовательно, у данных пациентов можно ожидать повышенный риск развития поражения мышечной ткани на фоне лечения статинами.

В ходе выполнения данной работы впервые проведен анализ влияния, проведенного фармакогенетического тестирования по SLCO1B1 на отдаленные результаты: эффективность и безопасность проводимой терапии, а также оценка приверженности к лечению у пациентов, у которых проводилось данное исследование.

Все пациенты получали аторвастатин и розувастатин. На момент анализа отдаленных результатов средний срок применения статинов у пациентов составил 13.1 ± 0.9 месяцев. По результатам проведенного исследования не выявлено зависимости между наличием различных полиморфных вариантов SLOC1B1 и исходным уровнем ЛПНП, общего холестерина у пациентов. Данной взаимосвязи также не обнаружено и на основании анализа отдаленных результатов эффективности проводимой терапии статинами т.е. по полученным нами данным полиморфизм гена SLCO1B1 не влияет на выраженность гиполипидемического действия статинов.

Среди пациентов, включенных в исследование на момент проведения анкетирования более 95% пациентов продолжили принимать препараты данной группы. Среди пациентов, которые прекратили прием статинов: 7 пациентов (2.7%) самостоятельно прекратили прием статинов сразу после выписки из стационара, причин прекращения приема объяснить не могут, у 4 пациентов возникли «мышечные» симптомы (боли в мышцах) (1.5%) в результате чего данные пациенты самостоятельно прекратили прием статинов. Проведен подробный анализ с целью выявления возможной взаимосвязи между применением статинов и возникновения

«мышечных» симптомов у данных пациентов. Средний срок приема статинов у данных пациентов составил 4 ± 1.2 месяца. Все пациенты получали аторвастатин в невысокой дозе (20 мг в сутки), все пациенты являлись носителями генотипа ТТ гена SLCO1B1 – риск развития мышечных симптомов у данных пациентов расценивался как низкий. На основании опроса с применением количественной шкалы для диагностики статин-индуцированной миопатии возможная взаимосвязь возникших «мышечных» симптомов у пациентов с приемом статинов расценена как маловероятная.

Суммарно частота возникновения мышечных симптомов у пациентов, продолжающих терапию статинами составила 5.2% и лишь незначительно превышала частоту возникновения мышечных симптомов в группе плацебо в плацебо-контролируемом исследовании STOMP, где частота развития миалгий у пациентов группы плацебо составила 4.6% [159].

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что применение фармакогенетического тестирования существенно повышает приверженность пациентов к лечению статинами, что может объясняться большим включением пациента в процесс собственного лечения, а также постоянной возможностью консультации со своим лечащим врачом. Кроме того, не смотря на известные побочные эффекты статинов – пациенты знали результаты генотипирования и рекомендованные «безопасные» дозы статинов, определенные индивидуально, а также имели возможность незамедлительного контакта с лечащим врачом, что могло существенно повысить уверенность в безопасности проводимой терапии и как следствие приверженность к проводимой терапии.

Среди пациентов, продолжавших терапию статинами за указанный период наблюдения у 13 пациентов, среди которых 10 пациентов являлись носителями генотипа SLO1B1 ТТ, 3 пациента СС, на фоне проводимой терапии статинами отмечены жалобы на незначительные боли в мышцах, не потребовавших отмены или снижения дозы статинов. По результатам проведенного обследования отклонения биохимических маркеров «безопасности» терапии статинами выявлены только у 3 других пациентов, которые оказались носителями генотипа ТС. У данных пациентов

выявлено незначительное повышение АЛТ в среднем до 1.32 ± 0.15 верхней границы нормы и АСТ до 1.24 ± 0.17 верхней границы нормы, КФК находилось в пределах референтных значений. Причины возникновения данных изменений тщательно проанализированы, у данных пациентов имелись следующие сопутствующие заболевания: стеатоз печени, ожирение 2 степени, а также сахарный диабет 2 типа. Для уточнения генеза повышения трансаминаз, уточнения возможной взаимосвязи данных изменений с применением статинов проведен опрос пациентов с помощью количественной шкалы диагностики статин-индуцированной миопатии— связь вышеописанных симптомов с приемом статинов расценена как маловероятная. В целом частота возникновения мышечных симптомов у исследуемой группы пациентов не превышала 5.2%, что незначительно превышает данные, полученные в исследовании STOMP, где частота развития миалгий у пациентов группы плацебо составила 4.6% [159].

На основании чего можно сделать вывод о том, что статины хорошо переносились пациентами, включенными в исследование, достоверных признаков развития статин-индуцированной миопатии не зарегистрировано ни у одного пациента.

На основании полученных данных можно сделать вывод о том, что проведение фармакогенетического тестирования у пациентов, которым показано назначение препаратов группы статинов существенно повышает % пациентов соблюдающих рекомендованный режима дозирования, а также регулярно наблюдающихся у профильного врача, что может позволить существенно снизить риск развития коронарных и церебральных катастроф, повысить качество и продолжительность жизни у данной группы пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведение фармакогенетического тестирования в настоящее время не нашло широкого применения в рутинной клинической практике врачей и не являются широко доступными в лечебно-профилактических учреждениях на территории Российской Федерации. Данные, полученные в ходе настоящего исследования показали преимущество внедрения персонифицированного подхода к назначению лекарственных препаратов, особенно для препаратов, с широким терапевтическим диапазоном, таким как варфарин в рутинную клиническую практику.

В ходе исследования была показана высокая частота выявления полиморфных вариантов CYP2C9 и VKORC1, оказывающих значительное влияние на выраженность антикоагулянтного эффекта у пациентов популяции города Москвы. Применение фармакогенетического тестирования позволяло сократить срок госпитализации пациентов, сократить время подбора дозы варфарина, а также позволяло с высокой точностью определять поддерживающую дозу варфарина. У пациентов, прошедших фармакогенетическое тестирование удалось достичь хорошего контроля МНО и повысить время нахождения пациента в терапевтическом диапазоне МНО, а также достичь значительного снижения нежелательных явлений, связанных с приемом варфарина.

Показана высокая распространенность выявления носительства полиморфных вариантов SLCO1B1, ассоциированных с замедленным метаболизмом статинов и повышенным риском развития нежелательных явлений на фоне применения статинов. Применение фармакогенетического тестирования позволило достичь значительного повышения приверженности к лечению со стороны пациентов с точки зрения отдаленных результатов, кроме того, у большей части пациентов удавалось достичь снижения уровня ЛПНП и общего холестерина до целевых значений. В группе пациентов, прошедших фармакогенетический мониторинг при назначении статинов в дозах, не превышающих рекомендованные с учетом выявленного полиморфизма SLCO1B1 не зарегистрировано ни одного поражения мышечной ткани, связанного с применением препаратов данной группы.

По результатам анкетирования врачей выявлена низкая информированность врачей о возможности проведения и показаниях фармакогенетического тестирования, кроме того еще одной преградой на пути внедрения фармакогенетического тестирования является недоступность выполнения данных тестов в большинстве лечебно-профилактических учреждений города Москвы. Данные, полученные в ходе данного исследования послужат фундаментом для внедрения фармакогенетического тестирования в клиническую практику, а также при разработке методических рекомендаций по применению фармакогенетического тестирования.

На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что проведение фармакогенетического тестирования существенно повышает эффективность и безопасность проводимой фармакотерапии в виду этого целесообразно проведение курсов повышения квалификации для врачей, кроме того, целесообразно проведение дальнейшей оценки для включения данных методов в перечень медицинских услуг в рамках программы ОМС.

ВЫВОДЫ

1. Выявлена высокая частота встречаемости носительства «медленных» аллельных вариантов CYP2C9 среди пациентов, жителей города Москвы носительство CYP2C9 - гетерозиготное носительство аллельных вариантов CYP2C9 1*2 выявлено у 21.1% пациентов, CYP2C9 1*3 у 8.9% пациентов, CYP2C9 2*2 у 5.5% пациентов, CYP2C9 2*3 у 4.4% пациентов. Носительство генотипа VKORC1 AA выявлено у 31.1%.
2. У пациентов, у которых подбор дозы варфарина осуществлялся на основании результатов фармакогенетического тестирования (ФГ «+») по сравнению с традиционным методом дозирования варфарина (ФГ «-»), требовался более редкий контроль МНО: у пациентов группы ФГ «+» 2.4 ± 0.2 у группы ФГ «+» против 4.1 ± 0.3 в группе ФГ «-» ($p < 0.0001$), кроме того, пациенты группы ФГ «+» значительно чаще достигали терапевтического диапазона МНО при выписке из стационара: 77% против 37% в группе ФГ «-».
3. Применение фармакогенетического тестирования при подборе дозы варфарина может существенно сокращать срок госпитализации пациентов, связанный с подбором дозы варфарина и связанные с этим затраты на госпитализацию пациентов, за счет сокращения времени, требуемого для подбора дозы варфарина - пациентам группы ФГ «+» требовалось почти на 30% времени меньше для терапевтического диапазона МНО по сравнению с группой ФГ «-»: 6.2 ± 0.9 койко-дней против 9.1 ± 1.5 койко-дней соответственно., а также сокращения продолжительности госпитализации: средняя продолжительность госпитализации пациентов группы ФГ «+» была меньше по сравнению с ФГ «-» и составил 12.0 ± 4.1 против 19.1 ± 6.0 койко-дней соответственно.
4. У пациентов группы ФГ «+» за период госпитализации эпизоды гипокоагуляции встречались значительно реже - МНО выше 3.0 в группе ФГ «+» было значительно меньшим: 4.85% против 51% в группе ФГ «-» ($p < 0.001$); повышение МНО выше 4.0 не зарегистрировано ни у одного пациента группы ФГ «+», в то время как среди пациентов группы ФГ «-» повышение МНО выше 4.0 регистрировалось у 12.2%.
5. Применение фармакогенетического тестирования обеспечивает более высокую точность дозирования варфарина по сравнению с традиционным подходом – за

период госпитализации для подбора дозы варфарина в группе ФГ «+» в среднем требовалось $2,9 \pm 0,3$ шагов титрования дозы против $4,0 \pm 0,4$ шагов титрования дозы варфарина в группе ФГ «-». При анализе отдаленных результатов – спустя 11 ± 2.1 месяцев приема варфарина коэффициент корреляции между расчетной и подобранной поддерживающей дозой варфарина составил 0,93.

6. Применение фармакогенетического подхода к дозированию варфарина может существенно повысить безопасность проводимой терапии в долгосрочной перспективе – среди пациентов, получавших варфарин на протяжении 11 ± 2.1 месяцев - не зарегистрировано ни одного эпизода «больших» кровотечений и только у 1 пациента имел место эпизод «малого» кровотечения (1.1%).
7. Применение фармакогенетического тестирования существенно повышает контроль за выраженностью антикоагулянтного эффекта – у пациентов ФГ «+» показатель «время нахождения в терапевтическом диапазоне» через 11 ± 2.1 месяцев достигал 98%.
8. Применение фармакогенетического тестирования может существенно повысить комплаентность со стороны пациентов – по результатам опроса 96.6% пациентов группы ФГ «+», получавших выполняют рекомендации лечащего врача, регулярно проводят контроль МНО и не пропустили ни одного приема дозы варфарина.
9. В ходе проведения опроса врачей, было выявлено, что одной из главных проблем для внедрения фармакогенетического тестирования в клиническую практику является низкая доступность фармакогенетического тестирования в лечебных учреждениях города Москвы, а также низкая информированность практических врачей о возможности и показаниях к проведению фармакогенетического тестирования.
10. В лечебно-профилактических учреждениях города Москвы выявлена низкая доступность экспресс-определения МНО с помощью портативных приборов контроля МНО, что в ряде случаев существенно затрудняет своевременную коррекцию дозы варфарина.
11. Частота носительства С аллели среди пациентов жителей города Москва в целом оказалась схожа с остальной популяцией пациентов жителей Российской Федерации

– частота носительства генотипа аллельного гена SLCO1B1*5 - ТС составила 25.48%, CC – 5.4%.

12. Носительство «Дикого» аллеля С генотипа аллельного гена SLCO1B1*5 не влияло на безопасность и переносимость применения аторвастатина и розувастатина при их применении в рекомендованных дозах в соответствии с результатами фармакогенетического тестирования.
13. Применение фармакогенетического тестирования у пациентов, которым планируется назначение статинов снижает число пациентов, прекративших прием статинов в течении первых 12 месяцев после начала их применения
14. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии взаимосвязи между носительством различных генотипов SLCO1B1 и исходным уровнем ЛПНП, общего холестерина, а также исходных значений КФК, АЛТ и АСТ
15. При проведении анализа отдаленных результатов эффективности проводимой терапии статинами взаимосвязи между неэффективностью проводимой терапии статинами и носительством различных генотипов SLCO1B1 не выявлено.
16. Наиболее вероятной причиной неэффективности проводимой терапии статинами т.е. отсутствия снижения ЛПНП до целевых значений является назначение низких, недостаточных доз статинов, а также несоблюдение пациентами гиполипидемической диеты.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется внедрение в рутинную клиническую практику фармакогенетического тестирования для персонализации режима дозирования варфарина, совместно с адекватным контролем показателей МНО для сокращения срока госпитализации пациентов, а также повышения безопасности проводимой терапии варфарином.
2. Рекомендуется оснастить врачей поликлинического профиля приборами для самоконтроля МНО для повышения эффективности и безопасности проводимой терапии антикоагулянтами, за счет своевременного контроля МНО и при необходимости коррекции дозы варфарина.
3. Для повышения частоты применения фармакогенетического тестирования, а также его правильного применения целесообразно проведение курсов повышения квалификации и/или тематического усовершенствования для врачей с целью повышения информированности врачей о возможности и показаниях к проведению фармакогенетического тестирования
4. Выявление пациентов, носителей генотипов ТС и СС гена SLCO1B1*5 при выполнении фармакогенетического тестирования позволяет выявить пациентов, которым требуется регулярно проводить контроль «маркеров безопасности» статин-индуцированного поражения мышц на фоне терапии статинами.
5. Целесообразно внедрение фармакогенетического тестирования – определения CYP2C9, VKORC1 и SLCO1B1 в рутинную клиническую практику с целью улучшения отдаленных результатов проводимой терапии, а также безопасности проводимой терапии и приверженности пациентов к лечению.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АГ – артериальная гипертензия
- АД – артериальное давление
- АК – антагонисты кальция
- АНД – антикоагулянты непрямого действия
- ВОЗ – Всемирная ассоциация здравоохранения
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ЕС – Европейский союз
- ЛПУ – лечебно-профилактические учреждения
- ЛП – лекарственный препарат
- ЛПНП – липопротеины низкой плотности
- ЛС – лекарственное средство
- МНО – международное нормализованное отношение
- НЛР – нежелательные лекарственные реакции
- ОАК – оральные антикоагулянты
- ПЦР – полимеразно-цепная реакция
- РНК – рибонуклеиновая кислота
- РФ – Российская Федерация
- СИНАМ - Статин-индуцированная некротизирующая аутоиммунная миопатия
- СМАД – суточный мониторинг артериального давления
- СМП – скорая медицинская помощь
- ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
- ТЭО – тромбоэмболические осложнения
- ФП – фибрилляция предсердий
- ФТ – фармакотерапия
- ЦП – цирроз печени
- ЧСС – частота сердечных сокращений
- ЭКГ - электрокардиография
- Эхо КГ – эхокардиография
- FDA – Food and Drugs Administration

SD – standard deviation – стандартное квадратическое отклонение

VKORC1 – витамин К-эпоксид редуктаза

CYP2C9 – изофермент 2C9 цитохрома р450

TTR – time in therapeutic range (время нахождения пациента в пределах терапевтического диапазона МНО)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ACTIVE Investigators. Clopidogrel plus aspirin versus oral anticoagulation for atrial fibrillation in the Atrial fibrillation Clopidogrel Trial with Irbesartan for prevention of Vascular Events (ACTIVE W): a randomized controlled trial. *Lancet* 2006; 367: 1903-1912
2. Adams JS, Hewison M. Update in vitamin D. *J Clinical Endocrinology Metabolism* 2010;95:471-8
3. Ahmed W, Khan N, Glueck CJ, et al. Low serum 25 (OH) vitamin D levels (532ng/mL) are associated with reversible myositis–myalgia in statin-treated patients. *Transl Res* 2009; 153:11-16
4. Aithal G. P., Day C. P., Kesteven P. J., et al. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet* 1999; 353: 717—719.
5. Al-Zubiedi S., Hughes D., Riley A. et al. Cost analysis of warfarin therapy. *ESFUB Conference in Biomedicine Pharmacogenetics and Pharmacogenomics: Adverse Drug Reactions*. 2008; 23-24
6. Anderson J.L., Halperin J.L., Albert N.M. et al. Management of patients with atrial fibrillation (compilation of 2006 ACCF/AHA/ESC and 2011 ACCF/AHA/HRS guideline recommendations): a report of the American College of Cardiology Foundation / American Heart Association Task Force on Practice Guidelines // *J. Amer. Coll. Cardiol.* – 2013. – Vol.61. – P.1935–1944.
7. Aquilante C. L., Langaee T. Y., Lopez L. M. et al. Influence of coagulation factor, vitamin K epoxide reductase complex subunit 1, and cytochrome P450 2C9 gene polymorphisms on warfarin dose requirements. *Clin Pharmacol Ther.* 2006; 79 (4): 291-302
8. Arora R, Liebo M, Maldonado F., Statin-induced myopathy: the two faces of Janus. // *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2006;11(2):105-12.
9. Atrial Fibrillation Investigators. "Risk factors for stroke and efficacy of antithrombotic therapy in atrial fibrillation: analysis of pooled data from five randomized clinical trials." *Arch Intern Med* 154 (1994): 1949-1957.

10. Azzam H.A. The thrombogenic role of platelets in valvular atrial fibrillation // *Atrial fibrillation – basic research and clinical applications*; ed. by J. Choi. – Croatia, 2011. – Ch.4. – P.63-80.
11. Azzam H.A. Thrombogenesis in atrial fibrillation // *Atrial Fibrillation – Mechanisms and Treatment* / Ed. by Tong Liu. – InTech, 2013. – ch.6. – P.127-151.
12. Baigent C., Blackwell L., Emberson J. et al. Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials // *Lancet*. 2010. V. 376. P. 1670–1681
13. Bargossi AM, Grossi G, Fiorella PL et al. Exogenous CoQ10 supplementation prevents plasma ubiquinone reduction induced by HMG-CoA reductase inhibitors. *Mol Aspects Med* 1994;15 Suppl: 187-93.
14. Becquemont, L. et al. "Pharmacogenomics of adverse drug reactions: practical applications and perspectives." *Pharmacogenomics* 2009; 6(10): 961-969.
15. Becquemont L., et al. Practical recommendations for pharmacogenomics-based prescription: 2010 ESF-UB Conference on Pharmacogenetics and Pharmacogenomics. *Pharmacogenomics*. 2011; 12 (1): 113–124.
16. Benjamin E., et al. «Impact of atrial fibrillation on the risk of death: The Framingham Heart Study». *Circulation*, 1998 (10): 946–52. PMID 9737513.
17. Blann A.D. et al, Endothelial cell activation, injury, damage and dysfunction: separate entities or mutual terms? *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2000; 11: 623–630.
18. Bleeding during antithrombotic therapy in patients with atrial fibrillation. The Stroke Prevention in Atrial Fibrillation Investigators. *Arch Intern Med* 1996; 156:409–16.
19. Brian W. McCrindle, A Multicenter, Randomized Trial Comparing Heparin/Warfarin and Acetylsalicylic Acid as Primary Thromboprophylaxis for 2 Years After the Fontan Procedure in Children. *Journal American College of Cardiology*. 2011;58(6):645-651. doi: 10.1016/j.jacc.2011.01.061
20. Bruckert E., Hayem G., Dejager S., et al. Mild to moderate muscular symptoms with high-dosage statin therapy in hyperlipidemic patients — the PRIMO study. *Cardiovasc Drugs Ther* 2005; 19:403—414.

21. Bruggenjürgen B., Rossnagel K., Roll S. et al. The impact of atrial fibrillation on the cost of stroke: The Berlin acute stroke study // *Value Health*. 2007. Vol. 10. P. 137–143
22. Bruggs J.J., Yetgin T., Hoeks S.E. et al. The benefits of statins in people without established cardiovascular disease but with cardiovascular risk factors: meta-analysis of randomised controlled trials // *BMJ*. 2009. V. 338. P. b2376
23. Brunham L.R., et al., Differential effect of the rs4149056 variant in *SLCO1B1* on myopathy associated with simvastatin and atorvastatin, *Pharm. J.* 2012; 12(3):233—237.
24. Buettner C., Rippberger M.J., Smith J.K., et al. Statin use and musculoskeletal pain among adults with and without arthritis. *Am J Med* 2012; 125:176-182.
25. Camm A.J., Kirchhof P., Lip G.Y. et al. Guidelines for the management of atrial fibrillation: The Task Force for the Management of Atrial Fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) European Heart Rhythm Association; European Association for Cardio-Thoracic Surgery. *Eur Heart J* 2010; 31: 2369-429.
26. Canestaro W.J., Austin M.A., Thummel K.E. Genetic factors affecting statin concentrations and subsequent myopathy: a HuGENet systematic review. *Genet Med*. 2014
27. Carlos-Alves J., Soares I.F., Cruz J.P et al. Serious skin necrosis induced by warfarin. *J. Acta Med Port*. 2013; 26(5):621
28. Caro J. et al. International economic analysis of primary prevention of cardiovascular disease with pravastatin in WOSCOPS // *European heart journal*. – 1999. – T. 20. – №. 4. – C. 263-268.
29. Carr D.F., et al. *SLCO1B1* Genetic Variant Associated With Statin-Induced Myopathy: A Proof-of-Concept Study Using the Clinical Practice Research Datalink. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2013; 94 (6): 695–701
30. Caterina R., Husted S., Wallentin L. et al. Anticoagulants in heart disease: current status and perspectives // *Eur. Heart J.* – 2007. – Vol.28, No.7. –P. 880-913.
31. Chatzizisis Y.S., Koskinas K.C., Misirli G, et al. Risk factors and drug interactions predisposing to statin-induced myopathy. *Drug Saf*. 2010; 33:171–187
32. Chiquette E., Amato M., Bussey H. Comparison of an Anticoagulation Clinic With Usual Medical Care. // *Arch Intern Med*. 1998;158:1641-1647

33. Chodick G., Shalev V., Gerber Y., et al. Long-term persistence with statin treatment in a not-for-profit health maintenance organization: a population-based retrospective cohort study in Israel. *Clin Ther* 2008; 30:2167— 2179.
34. Cohen J.D., Brinton E.A., Ito M.K. et al. Understanding statin use in America and gaps in patient education (USAGE): an internet-based survey of 10,138 current and former statin users. *J Clin Lipidol* 2012; 6:208— 215
35. Colhoun H.M., Betteridge D.J., Durrington P.N. et al. Primary prevention of cardiovascular disease with atorvastatin in type 2 diabetes in the Collaborative Atorvastatin Diabetes Study (CARDS): multicentre randomized placebo-controlled trial // *Lancet*. - 2004. - Vol. 364. - P. 685-696.
36. Creswell L.L., Schuessler R.B., Rosenbloom M., Cox J.L. Hazards of postoperative atrial arrhythmias. *Ann Thorac Surg* 1993; 56 (3):539—549.
37. D'Andrea G. et al. A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin // *Blood*. – 2005; 105(2):645-649.
38. Davidson M, McKenney J, Stein E, et al. Comparison of one-year efficacy and safety of atorvastatin versus lovastatin in primary hyper-cholesterolemia. Atorvastatin Study Group I. *Am J Cardiol* 1997;79: 1475-81.
39. De Keyser C.E., Peters B.J., Becker M.L., Visser L.E., Uitterlinden A.G., Klungel O.H. et al. The SLCO1B1 c.521T>C polymorphism is associated with dose decrease or switching during statin therapy in the Rotterdam Study. *Pharmacogenet Genomics*. 2014; 24 (1): 43–51.
40. De Lorgeril M., Salen P., Bontemps L. et al. Effects of lipid-lowering drugs on left ventricular function and exercise tolerance in dyslipidemic coronary patients. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 33:473-8
41. De Pinieux G, Chariot P, Ammi-Said M, et al. Lipid-lowering drugs and mitochondrial function: effects of HMG-CoA reductase inhibitors on serum ubiquinone and blood lactate/pyruvate ratio. *Br J Clin Pharmacol* 1996; 42:333-7.

42. Diebold BA, Bhagavan NV, Guillory RJ. Influences of lovastatin administration on the respiratory burst of leukocytes and the phosphorylation potential of mitochondria in guinea pigs. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1200:100-8
43. Donnelly L.A., Doney A.S., Dannfald J. et al. A paucimorphic variant in the HMG-CoA reductase gene is associated with lipid-lowering response to statin treatment in diabetes: a GoDARTS study // *Pharmacogenet. Genomics*. - 2008. - Vol. 18. - P. 1021-1026.
44. Dou Y, Zhu X, Wang Q, Tian X, Cheng J, Zhang E. Meta-Analysis of the SLCO1B1 c.521T>C Variant Reveals Slight Influence on the Lipid-Lowering Efficacy of Statins. *Ann Lab Med*. 2015 May;35(3):329-35.
45. Dowlatshahi D, Butcher KS, Asdaghi N et al. Poor prognosis in warfarin-associated intracranial hemorrhage despite anticoagulation reversal. *Stroke*. 2012; 43:1812–1817.
46. Downs J.R., Clearfield M., Weis S. et al. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels // *JAMA*. - 1998. - Vol. 279. - P. 1615-1622.
47. EAFT Group Secondary prevention in nonrheumatic atrial fibrillation after transient ischaemic attack or minor stroke. *Lancet* 1993;342:1255–62.
48. Ederhy S, Cohen A. et al. Optimising stroke prevention in non-valvular atrial fibrillation. *Expert Opin Pharmacotherapy*: 2006;7(15):2079-2094
49. Eisen S.A., Miller D.K., Woodward R.S. et al. The effect of prescribed daily dose frequency on patient medication compliance. *Arch Intern Med*. 1990. Vol. 150. P. 1881–1884.).
50. Eitz T., Schenk S., Fritzsche D. et al. Self-control of international normalized ratio helps reduce the risk of thromboembolic complications after heart valve replacement. *Ann. Thorac. Surg*. 2008; 85: 949—955. 12.7.
51. El-Salem K., Ababeneh B., Rudnicki S., et al. Prevalence and risk factors of muscle complications secondary to statins. *Muscle Nerve* 2011; 44:877— 881.
52. Erdoran O. Risk assessment and therapy decision in patients at low risk for stroke: CHA2DS2-VASc vs CHADS2. *Eur. Heart J*. 2013; 34:168-169.
53. ESC Guidelines. Guidelines for the management of atrial fibrillation. *Eur Heart J* 2010; 31: 2369-429.

54. European Stroke Organisation (ESO) Executive Committee; ESO Writing Committee. Guidelines for management of ischaemic stroke and transient ischaemic attack. *Cerebrovasc Dis* 2008; 25:457–507.
55. Ezekowitz M.D. et al. Dabigatran compared with warfarin in patients with atrial fibrillation and previous transient ischemic attack or stroke: a subgroup analysis of the RE-LY trial. *Lancet Neurol* 2010; 9:1157–63.
56. Ezekowitz M.D., Bridgers S.L., James K.E. et al. Warfarin in the prevention of stroke associated with nonrheumatic atrial fibrillation. *NEJM* 1992; 327: 1406– 1413
57. FDA Drug Safety Communication: New restrictions, contraindications, and dose limitations for Zocor (simvastatin) to reduce the risk of muscle injury. <http://www.fda.gov/drugs/drugsafety/ucm256581.htm> (дата обращения 01.03.2016).
58. Ferder N. S., Eby C. S., Deych E. A. et al. Ability of VKORC1 and CYP2C9 to predict therapeutic warfarin dose during the initial weeks of therapy. *J. Thromb. Haemost.* 2010; 8: 95-100.
59. Folkers K, Langsjoen P, Willis R, et al. Lovastatin decreases coenzyme Q levels in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87:8931-4.
60. Ford E. S., Capewell S. Proportion of the decline in cardiovascular mortality disease due to prevention versus treatment: public health versus clinical care //Annual review of public health. – 2011. – T. 32. – С. 5-22.
61. Fox CS, Parise H, D'Agostino RB, et al. (June 2004). «Parental atrial fibrillation as a risk factor for atrial fibrillation in offspring». *JAMA* 291 (23): 2851–5. DOI:10.1001/jama.291.23.2851. PMID 15199036.
62. Freedman MD (March 1992). «Oral anticoagulants: pharmacodynamics, clinical indications and adverse effects». *J Clin Pharmacol* 32 (3): 196–209. PMID 1564123.
63. Friberg J., Buch P., Scharling H, et al. (November 2003). «Rising rates of hospital admissions for atrial fibrillation». *Epidemiology* 14 (6): 666–72. DOI:10.1097/01.ede.0000091649.26364.c0. PMID 14569181.
64. Frost L, Hune LJ, Vestergaard P. (2005). «Overweight and obesity as risk factors for atrial fibrillation or flutter: the Danish Diet, Cancer, and Health Study». *Am J Med* 118 (5): 489—95. PMID 15866251.

65. Fu R., Wu S., Wu P. et al. A study of blood soluble P-selectin, fibrinogen, and von Willebrand factor levels in idiopathic and lone atrial fibrillation // *Europace*. – 2011. – Vol.13. – P.31-36.
66. Fukami M, Maeda N, Fukushige J, et al. Effects of HMG-CoA reductase inhibitors on skeletal muscles of rabbits. *Res Exp Med (Berl)* 1993; 193:263-73.
67. Furberg C.D., Psaty B.M., Manolio T.A., et al. (August 1994). «Prevalence of atrial fibrillation in elderly subjects (the Cardiovascular Health Study) ». *Am. J. Cardiol.* 74 (3): 236–41. PMID 8037127.
68. Furie K.L., Kasner S.E., Adams R.J. et al. Guidelines for the Prevention of Stroke in Patients With Stroke or Transient Ischemic Attack A Guideline for Healthcare Professionals From the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke* 2011; 42:227–76.
69. Gage B.F., Cardinalli A.B., Owens D.K. The effect of stroke and stroke prophylaxis with aspirin or warfarin on quality of life. // *Arch Intern Med.*, 1996; 156:1829–1836.
70. Gage B.F., Waterman A.D., Shannon W. et al. Validation of clinical classification schemes for predicting stroke: results from the National Registry of Atrial Fibrillation. *JAMA* 2001; 285:2864–70.
71. Gami A.S., Hodge D.O., Herges R.M., et al. (February 2007). «Obstructive sleep apnea, obesity, and the risk of incident atrial fibrillation». *J. Am. Coll. Cardiol.* 49 (5): 565–71. Doi: 10.1016/j.jacc.2006.08.060. PMID 17276180.
72. Geisen C., Watzka M., Sittinger K. et al. VKORC1 haplotypes and their impact on the interindividual and interethnical variability of oral anticoagulation. *Thromb Haemost.* 2005; 94 (4): 773-7799.
73. Ghirlanda G., Oradei A., Manto A., et al. Evidence of plasma CoQ10-lowering effect by HMG-CoA reductase inhibitors: a double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Pharmacol* 1993; 33:226-9.
74. Glueck C. J. et al. Vitamin D deficiency, myositis–myalgia, and reversible statin intolerance. *Current medical research and opinion.* 2011; 27(9):1683-1690.
75. Go A.S., Hylek E.M., Phillips K.A., et al. (May 2001). Prevalence of diagnosed atrial fibrillation in adults: national implications for rhythm management and stroke prevention:

the AnTicoagulation and Risk Factors in Atrial Fibrillation (ATRIA) Study». JAMA 285 (18): 2370–5. PMID 11343485.

76. Gorin I. et al. Antithrombotic treatment and the risk of death and stroke in patients with atrial fibrillation and a CHADS2 score =1. *Thromb Haemost*, 2009; 103: 833–840

77. Gorter J.W. for the Stroke Prevention In Reversible Ischemia Trial (SPIRIT) and European Atrial Fibrillation Trial (EAFT) study groups. «Major bleeding during anticoagulation after cerebral ischemia: patterns and risk factors» *Neurology* 1999; 53:1319–1327

78. Guyatt G.H., Akl E.A., Crowther M. et al. Executive summary: Antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed.: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines *Chest*. 2012; 141(2):7-47.

79. Habara S., Dote K., Kato M., et al. Prediction of left atrial appendage thrombi in non-valvular atrial fibrillation *Eur. Heart J.* 2007; 28:2217-2222

80. Hart R.G., Benavente O., McBride R., et al. Antithrombotic therapy to prevent stroke in patients with atrial fibrillation: a meta-analysis. *Ann Intern Med* 1999;131: 492–501.

81. Hart R.G., Tonarelli S.B., Pearce L.A. Avoiding Central nervous system bleeding during antithrombotic therapy. *Recent Data and Ideas. Stroke*. 2005;36: 1588–1593.

82. Heeringa J., van der Kuip D.A., Hofman A. et al. Prevalence, incidence and lifetime risk of atrial fibrillation: The Rotterdam study *Eur. Heart J.* 2006; 27:949-953.

83. Heneghan C., et al. Self-monitoring of oral anticoagulation: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*. 2006; 367(9508):404-411.

84. Herman D., Locatelli I., Grabnar I., et al. Influence of CYP2C9 polymorphisms, demographic factors and concomitant drug therapy on warfarin metabolism and maintenance dose. *J. Pharmacogenomics*. In press 2005; 5:193–202.

85. Higashi, M.K., et al Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA*. 2002; 287(13):1690-1698.

86. Hirsh J., Fuster V., Ansell J., et al. ACC/AHA/ Foundation guide to warfarin therapy. *Circulation* 2003; 107: 1692—1711.

87. Hjermann I., et al. Effect of diet and smoking intervention on the incidence of coronary heart disease: report from the Oslo Study Group of a randomised trial in healthy men *The Lancet*. 1981; 318(8259):1303-1310.
88. Holbrook A. M., Pereira J. A., Labiris R. A. et al. Systematic overview of warfarin and its drug and food interactions. *Arch. Intern. Med*. 2005; 165: 1095-1106
89. Holder K. Myalgias and Myopathies: Drug-Induced Myalgias and Myopathies. *FP Essent*. 2016; 440:23-7
90. Hou Q. et al. Association between SLCO1B1 gene T521C polymorphism and statin-related myopathy risk: a meta-analysis of case–control studies. *Medicine*. 2015; 94(37):1-9
91. Hsu J. C. et al. Atrial fibrillation and atrial flutter in human immunodeficiency virus-infected persons: incidence, risk factors, and association with markers of HIV disease severity // *Journal of the American College of Cardiology*. – 2013; 61(22):2288-2295.
92. Hughes M., et al. Stroke and thromboembolism in atrial fibrillation: a systematic review of stroke risk stratification schema and cost effectiveness data // *Thrombosis and Haemostasis*. 2008; 99:.295-304.
93. Insull W., Ghali J.K., Hassman D.R. SOLAR Study Group Achieving low density lipoprotein cholesterol goals in high risk patients in managed care: comparison of rosuvastatin, atorvastatin, and simvastatin in the SOLAR trial. *Mayo Clin Proc*. 2007;82: 543—550.
94. J.H. Jansson, T.K. Nilsson, O. Johnson Von Willebrand factor, tissue plasminogen activator, and dehydroepiandrosterone sulphate predict cardiovascular death in a 10 year follow up of survivors of acute myocardial infarction. *Heart*, 1998; 80: 334–337.
95. James H Chesebro, MD, Valentin Fuster, MD, Lila R Elveback, PhD, ,et al. Adherence with statin therapy in elderly patients with and without acute coronary syndromes. *JAMA* 2002; 288:462-467.
96. Johnson JA, Gong L, Whirl-Carrillo M, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for CYP2C9 and VKORC1 genotypes and warfarin dosing. *Clin Pharmacol Ther* 2011 ;90(4):625-9.
97. Johnston S. C. et al. National Stroke Association guidelines for the management of transient ischemic attacks. *Annals of neurology*. 2006; 3(60):301-313.

98. Jula A, Marniemi J, Huupponen R, et al. Effects of diet and simvastatin on serum lipids, insulin, and antioxidants in hypercholesterolemic men: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 287:598-605
99. Kalyanam S., Syed M., Mihai G., Antithrombotic therapy in atrial fibrillation: A review of randomized trials with special reference to the stroke prevention in atrial fibrillation II (SPAF II) trial. Elsevier. 1996; 4(38):337–342
100. Kamel H., Johnston S.C., Easton J.D. et al. Cost-Effectiveness of Dabigatran Compared With Warfarin for Stroke Prevention in Patients With Atrial Fibrillation and Prior Stroke or Transient Ischemic Attack. *Stroke*. 2012
101. Karen A. et al. Therapeutic use of warfarin and other vitamin K antagonists [Электронный ресурс]. – 2013.
102. Kearon C., Gent M., Hirsh J. et al. A comparison of three months of anticoagulation with extended anticoagulation for a first episode of idiopathic venous thromboembolism. *New England Journal of Medicine*. 1999;340: 901–903.
103. Kim WS, Kim MM, Choi HJ, et al. Phase II study of high-dose lovastatin in patients with advanced gastric adenocarcinoma. *Invest New Drugs* 2001; 19:81-3.
104. Kimmel S. E. et al. The influence of patient adherence on anticoagulation control with warfarin: results from the International Normalized Ratio Adherence and Genetics (IN-RANGE) Study // *Archives of Internal Medicine*. 2007; 3(167):229-235.
105. Kirchhof P., Auricchio A., Bax J. et al. Outcome parameters for trials in atrial fibrillation: executive summary. Recommendations from a consensus conference organized by the German Atrial Fibrillation Competence NETwork (AFNET) and the European Heart Rhythm Association (EHRA). *Eur. Heart J*. 2007; 28:2803-2817.
106. Klein M, Mann H, Plestilova L, et al. Increasing incidence of immune-mediated necrotizing myopathy: single-centre experience. *Rheumatology*. 2015;54(11):2010– 2014.
107. Krajčiová, Ľubica, et al. "Frequency of selected single nucleotide polymorphisms influencing the warfarin pharmacogenetics in Slovak population." *European journal of haematology* 93.4 (2014): 320-328.

108. Kukes I.V., Sychev D.A.. Analysis of frequency and structure of adverse reactions from oral anticoagulants, recorded by spontaneous reporting in Russia. *J Basic and Clinical Pharmacology* 2011; 109 (Suppl. 1): 76.
109. L.A. Donnelly, A.S. Doney, R. Tavendale, C.C. Lang, E.R. Peason, H.M. Colhoun, M.I. McCarthy, A.T. Hattersley, A.D. Morris, C.N. Palmer, Common nonsynonymous substitutions in *SLCO1B1* predispose to statin intolerance in routinely treated individuals with type 2 diabetes: a go-DARTS study, *Clin. Pharmacol. Ther.* 2011; 89:210-216.
110. Laaksonen R, Jokelainen K, Laakso J, et al. The effect of simvastatin treatment on natural antioxidants in low-density lipoproteins and high-energy phosphates and ubiquinone in skeletal muscle. *Am J Cardiol* 1996; 77:851-4.
111. Lafuente-Lafuente C. et al. Antiarrhythmics for maintaining sinus rhythm after cardioversion of atrial fibrillation. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007; 4.
112. Laurence D.R. *Clinical Pharmacology*. — Edinburgh, London and New York: Churchill Livingstone, 1973; 234–235
113. Lee B.H., et al. The effect and safety of the Antithrombotic therapies in patients with atrial fibrillation and CHADS2 score 1. *J Cardiovasc Electrophysiol*, 2010; in press.
114. Lee C.R., Goldstein J.A., Pieper J.A. Cytochrome P450 CYP2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data // *Pharmacogenetics*. 2002; 12: 251-263.
115. Lee P, Greenfield JR, Campbell LV. Vitamin D insufficiency – a novel mechanism of statin-induced myalgia? *Clinical Endocrinology (Oxford)* 2009; 71:154-5
116. Leuschen J, Mortensen E.M., Frei C.R., et al. Association of statin use with cataracts: a propensity score-matched analysis. *JAMA Ophthalmol.* 2013 Nov;131(11):1427-34.
117. Leusink M. et al. Seventeen years of statin pharmacogenetics: a systematic review // *Pharmacogenomics*. 2016; 2(17):163-180
118. Levine M., Raskob G., Landefeld C. S., Kearon C. Hemorrhagic complications of anticoagulant treatment. *Chest* 1998; 114: 511—523.
119. Lévy, Samuel, et al. "Characterization of different subsets of atrial fibrillation in general practice in France." *Circulation* 99.23 (1999): 3028-3035.

120. Li J. H. et al. Genetically guided statin therapy on statin perceptions, adherence, and cholesterol lowering: a pilot implementation study in primary care patients *Journal of personalized medicine*. 2014. 2(4):147-162
121. Li T., et al. "Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase." *Nature* 427.6974 (2004): 541-544.
122. Limdi NA, Wadelius M, Cavallari L, Eriksson N, Crawford DC, Lee MT, et al. Warfarin pharmacogenetics: a single VKORC1 polymorphism is predictive of dose across 3 racial groups. *Blood*. 2010;115(18):3827–34.
123. Lin H.J., Wolf P.A., Kelly_Hayes M., et al. Stroke severity in atrial fibrillation: the Framingham study. *Stroke* 1996; 27: 1760-1764.
124. Linde R., Peng L., Desai M., Feldman D. The role of vitamin D and SLCO1B1*5 gene polymorphism in statin-associated myalgias. *Dermatoendocrinology*. 2010; 2 (2): 77–84
125. Lindh J.D., Holm L., Andersson M.L., Rane A. Influence of CYP2C9 genotype on warfarin dose requirements - a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol* 2009;65(4):365-75.
126. Link E, Parish S, Armitage J, et al. SEARCH Collaborative Group. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy a genomewide study. *The New England Journal of Medicine*. 2008;359(8): 789-799.
127. Lip GY (February 2011). «Implications of the CHA(2)DS(2)-VASc and HAS-BLED Scores for thromboprophylaxis in atrial fibrillation». *Am. J. Med*. 124 (2): 111–4
128. Lips P. Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92:4-8
129. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, et al. (January 2009). «Heart disease and stroke statistics--2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee». *Circulation* 119(3): 480–86
130. Loebstein R, Yonath H, Peleg D, Almog S, Rotenberg M, Lubetsky A, et al. Interindividual variability in sensitivity to warfarin–Nature or nurture? *Clin Pharmacol Ther*. 2001;70(2):159–64.
131. Low P, Andersson M, Edlund C, Dallner G. Effects of mevinolin treatment on tissue dolichol and ubiquinone levels in the rat. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1165:102-9.

132. Lubitz S.A., Rosen A.B., Ellinor P.T. et al. Stroke risk in AF: do AF patterns matter? *Eur. Heart J.* 2010; Vol.31:908-910.
133. Marcoff, L., & Thompson, P. D. The role of coenzyme Q10 in statin-associated myopathy: a systematic review. *Journal of the American College of Cardiology*, 2007; 23(49):2231-2237.
134. Mant J., Hobbs R., Fletcher K. et al. Warfarin versus aspirin for stroke prevention in an elderly community population with atrial fibrillation (the Birmingham Atrial Fibrillation Treatment of the Aged Study, BAFTA): a randomized controlled trial. *Lancet* -2007; 370: 493–503
135. Marciante, Kristin D., et al. "Cerivastatin, genetic variants, and the risk of rhabdomyolysis." *Pharmacogenetics and genomics* 2011; 5(21):280-288
136. Marini C., De Santis F., Sacco S., et al. Contribution of atrial fibrillation to incidence and outcome of ischemic stroke: results from a population_based study. *Stroke* 2005; 36: 1115-1159.
137. McDonald H. P., Garg A. X., Haynes R. B. Interventions to enhance patient adherence to medication prescriptions: scientific review *JAMA*. 2002; 22(288):2868-2879.
138. Mendez-Jandula B. et al. Comparing self-management of oral anticoagulation therapy with clinic management. *Ann Intern Med.*-2005; 142:1-10
139. Meyer zu Schwabedissen HE, Albers M, Baumeister SE et al. Function-impairing polymorphisms of the hepatic uptake transporter SLCO1B1 modify the therapeutic efficacy of statins in a population-based cohort. *Pharmacogenet Genomics*. 2015 Jan;25(1):8-18
140. Mhairi Copland «Oral Anticoagulation and Hemorrhagic Complications in an Elderly Population With Atrial Fibrillation» *Arch Inter Med* 2001; 161:17
141. Miao L. et al. Contribution of age, body weight, and CYP2C9 and VKORC1 genotype to the anticoagulant response to warfarin: proposal for a new dosing regimen in Chinese patients // *European journal of clinical pharmacology*. 2007; 12(63):1135-1141.
142. Mills E.J., Rachlis B., Wu P. et al. Primary prevention of cardiovascular mortality and events with statin treatments. A network meta-analysis involving more than 65,000 patients. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008; 52:1769–1781.

143. Miyake Y, Shouzu A, Nishikawa M, et al. Effect of treatment with 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor on serum coenzyme Q10 in diabetic patients. *Arzneimittelforschung* 1999; 49:324-9.
144. Morand OH, Aebi JD, Dehmlow H, et al. Ro 48-8.071, a new 2,3-oxidosqualene: lanosterol cyclase inhibitor lowering plasma cholesterol in hamsters, squirrel monkeys, and minipigs: comparison to simvastatin. *J Lipid Res* 1997; 38:373-90.
145. Mortensen SA, Leth A, Agner E, Rohde M. Dose-related decrease of serum coenzyme Q10 during treatment with HMG-CoA reductase inhibitors. *Mol Aspects Med.* 1997; 18:137-44.
146. Naccarelli G., Varker H. Increasing prevalence of atrial fibrillation and flutter in the United States // *Am. J. Cardiol.* 2009.Vol. 104. P. 1534–1539.
147. Nakao K, Seto S, Ueyama C, et al. (October 2002). «Extended distribution of prolonged and fractionated right atrial electrograms predicts development of chronic atrial fibrillation in patients with idiopathic paroxysmal atrial fibrillation». *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* 13 (10): 996–1002. PMID 12435185.
148. Narumiya T, Sakamaki T, Sato Y, Kanmatsuse K. «Relationship between left atrial appendage function and left atrial thrombus in patients with nonvalvular chronic atrial fibrillation and atrial flutter». *Circulation Journal* 2003; 1(67): 68–72. PMID 12520155.
149. Nebert D. W. et al. Role of aryl hydrocarbon receptor-mediated induction of the CYP1 enzymes in environmental toxicity and cancer // *Journal of Biological Chemistry.* 2004; 23(279); 23847-23850.
150. Nichols GA, Koro CE. Does statin therapy initiation increase the risk for myopathy? An observational study of 32,225 diabetic and nondiabetic patients. *Clin Ther* 2007; 29:1761-70
151. Niemi M, Pasanen MK, Neuvonen PJ. Organic anion transporting polypeptide 1B1: a genetically polymorphic transporter of major importance for hepatic drug uptake. *Pharmacol Rev* 2011; 63:157–181.
152. Niemi, Mikko. SLCO1B1 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of simvastatin acid// *Pharmacogenetics and Genomics*: December 2006; 12: 873-879

153. Nishizato Y., Ieiri I., Suzuki H., et al. Polymorphisms of OATP-C (SLC21A6) and OAT3 (SLC22A8) genes: consequences for pravastatin pharmacokinetics. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2003; 73 (6): 554–65. 5.
154. Olesen J. B. et al. Validation of risk stratification schemes for predicting stroke and thromboembolism in patients with atrial fibrillation: nationwide cohort study. *Bmj*. 2011; 342:123-129
155. Osterberg L., Blaschke T. Adherence to medication // *New England Journal of Medicine*. 2005; 5(353):487-497.
156. Page RL, Wilkinson WE, Clair WK, McCarthy EA, Pritchett EL (January 1994). «Asymptomatic arrhythmias in patients with symptomatic paroxysmal atrial fibrillation and paroxysmal supraventricular tachycardia». *Circulation*. 1994; 89(1): 224–7. PMID 8281651.
157. Paiva H, Thelen KM, Van Coster R, et al. High-dose statins and skeletal muscle metabolism in humans: a randomized, controlled trial. *Clin Pharmacol Ther* 2005; 78:60-8.
158. Palareti G. et al. on behalf of the Italian Study on Complications of Oral Anticoagulant Therapy. Bleeding complications of oral anticoagulant treatment: an inception-cohort, prospective collaborative study (ISCOAT) *Lancet*. 1996; 348:423-428.
159. Parker B.A., Capizzi J.A., Grimaldi A.S., et al. Effect of statins on skeletal muscle function. *Circulation* 2013; 127:96—103.
160. Pasanen, M. K., Fredrikson, H., Neuvonen, P. J. and Niemi, M. (2007), Different Effects of SLCO1B1 Polymorphism on the Pharmacokinetics of Atorvastatin and Rosuvastatin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 82: 726–733.
161. Petersen P., Godtfredsen J., Boysen G., Placebo-controlled, Randomized trial of warfarin and aspirin for prevention of thromboembolic complications in chronic atrial fibrillation: The Copenhagen AFASAK Study. *The Lancet*. 1989; 333(8631):175–179
162. Pfeifer M., Begerow B., Minne H.W. Vitamin D and muscle function. *Osteoporosis International* 2002; 13:187-94
163. Phillips P.S., Haas R.H., Bannykh S., et al. Statin-associated myopathy with normal creatine kinase levels. *Ann Intern Med* 2002; 137:581-5.

164. Phillips P.S., Phillips C.T., Sullivan M.J., et al. Statin myotoxicity is associated with changes in the cardiopulmonary function. *Atherosclerosis* 2004; 177:183-8.
165. Pisters R., et al. «A novel user-friendly score (HAS-BLED) to assess 1-year risk of major bleeding in patients with atrial fibrillation: the Euro Heart Survey». *Chest*. 2010; 138(5):1093–100
166. Pisters R., Lane D.A., Marin F. et al. Stroke and thromboembolism in atrial fibrillation. *Circulation J*. 2012; 76:2289-2304.
167. Postmus I. et al. Pharmacogenetic meta-analysis of genome-wide association studies of LDL cholesterol response to statins. *Nature communications*. 2014; 5.
168. Raffaele De C., Steen H., Lars W., et al. Anticoagulants in heart disease: current status and perspectives, *European Heart Journal*, 2007; 7(28):880–913
169. Ramsey L. B. et al. The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for SLCO1B1 and Simvastatin-Induced Myopathy: 2014 Update // *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2014; 4(96):432-428
170. Rettie A.E., et al. Impaired (S)-warfarin metabolism catalysed by the R144C allelic variant of CYP2C9. *Pharmacogenetics*. 1994;4(1):39–42.
171. Rieder M., Reiner A., Gage B. et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N. Engl. J. Med*. 2005; 352: 2285—2293.
172. Rosemary J., Adithan C. The pharmacogenetics of CYP2C9 and CYP2C19: ethnic variation and clinical significance. *Current clinical pharmacology*. 2007; 1(2):93-109.
173. Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, et al. Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature*. 2004; 427 (6974): 537–41
174. Rost S. et al. Novel mutations in the VKORC1 gene of wild rats and mice—a response to 50 years of selection pressure by warfarin? *Bmc Genetics*. 2009; 1(10):1-9.
175. Rubin P, Robert I. Douglas L. Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine, 2-Volume Set: Expert Consult Premium Edition - Enhanced Online Features and Print. — Philadelphia: Saunders, 2011. ISBN 1-4377-2708-5.

176. Ruiz Maldonado J.M., et al. [A pilot study in a community pharmacy to determine the efficiency and the effectiveness of statin prescriptions]. *Aten Primaria*. 2015 May;47(5):294-300
177. Saffitz JE (2006). «Connexins, conduction, and atrial fibrillation». *N. Engl. J. Med.* 354 (25): 2712–4.DOI:10.1056/NEJMe068088. PMID 16790707.
178. Sadowitz B., Maier K. G., Gahtan V. Basic science review: Statin therapy-Part I: The pleiotropic effects of statins in cardiovascular disease //Vascular and endovascular surgery. – 2010. – T. 44. – №. 4. – C. 241-251.
179. Schuster H. The GALAXY Program an update on studies investigating efficacy and tolerability of rosuvastatin for reducing cardiovascular risk. *Investigating cardiovascular risk reduction - the Rosuvastatin GALAXY Programme Expert Rev. Cardiovasc. Ther.* 2007; 5:177-193.
180. Search Collaborative Group. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy - a genomewide study. *N. Engl. J. Med.* 2008; 8(359): 789-799.
181. Sever P.S., Dahlof B., Poulter N.R. et al. Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial - Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicenter randomized controlled trial *Lancet*. 2003; 361:1149-1158.
182. Sewright K.A., Clarkson P.M., Thompson P.D. Statin myopathy: incidence, risk factors, and pathophysiology. *Curr Atheroscler Rep.* 2007; 9:389–396
183. Shepherd J., Cobbe S.M., Ford I. et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. *N. Engl. J. Med.* 1995; 333:1301-1307.
184. Shepherd J., et al. "Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial." *The Lancet* 360.9346 (2002): 1623-1630.
185. Singer, DE, Albers, GW, Dalen, JE, et al. Antithrombotic therapy in atrial fibrillation: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition). *Chest* 2008; 133:546-592.

186. Sohara H., Amitani S., Kurose M. et al. Atrial fibrillation activates platelets and coagulation in a time-dependent manner: a study in patients with paroxysmal atrial fibrillation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1997;29: 106-112.
187. Soliman Hamad M. A., Eekelen E., Agt T., Straten A. H. Selfmanagement program improves anticoagulation control and quality of life: a prospective randomized study. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2009; 35: 265—269.
188. Spatz E.S., Canavan M.E., Desai M.M. From here to JUPITER: identifying new patients for statin therapy using data from the 1999-2004 National Health and Nutrition Examination Survey. *Circulation: Cardiovascular Quality and Outcomes.* 2009;2: 41-48.
189. Stoddard M.F. Risk of thromboembolism in new onset or transient atrial fibrillation. *Progr. Cardiovasc. Dis.* 1996; 39:69-80.
190. Stroke in AF working group. Independent predictors of stroke in patients with atrial fibrillation: a systematic review. *Neurology.* 2007; 69:546–554.
191. Stroes, E. S., et al. Statin-associated muscle symptoms: impact on statin therapy—European Atherosclerosis Society consensus panel statement on assessment, aetiology and management. *European heart journal*, 2015; 17(36): 1012-1022.
192. Takeuchi F. et al. A genome-wide association study confirms VKORC1, CYP2C9, and CYP4F2 as principal genetic determinants of warfarin dose // *PLoS Genet.* 2009; 3(5):1-9
193. The ACTIVE Investigators Effect of clopidogrel added to aspirin in patients with atrial fibrillation. *New England Journal of Medicine* 2009; 360:2066–78.
194. The long-term intervention with pravastatin in ischaemic disease (LIPID) study group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels // *N. Engl. J. Med.* 1998; 339: 1349-1357.
195. Thibault A, Samid D, Tompkins AC, et al. Phase I study of lovastatin, an inhibitor of the mevalonate pathway, in patients with cancer. *Clin Cancer Res* 1996; 2:483-91.
196. Thompson J. L., Sundt T. M., Sarano M. E. et al. Guidelines for self-controlling of international normalized ratio after mechanical heart valve implantation. *Ann. Thorac. Surg.* 2008; 85: 2046—2050.

197. Tirona R.G., Leake B.F., Merino G., et al. Polymorphisms in OATP-C: identification of multiple allelic variants associated with altered transport activity among European- and African-Americans. *J. Biol. Chem.* 2001; 276 (38): 35669–75
198. Tornio A. et al. SLCO1B1 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of lovastatin acid. *Pharmacogenetics and genomics.* 2015; 8(25):382-387.
- Trial of combined warfarin plus dipyridamole or aspirin therapy in prosthetic heart valve replacement: Danger of aspirin compared with dipyridamole. *The American Journal of Cardiology.* 1993; 9(51):1537–1541
199. Van Booven D. et al. Cytochrome P450 2C9-CYP2C9. *Pharmacogenetics and genomics.* 2010; 4(20):277-286.
200. Van Ryn J., Stangier J., Haertter S. et al. Dabigatran etexilate – a novel. reversible. Oral direct thrombin inhibitor: interpretation of coagulation assays and reversal of anticoagulant activity. *Thromb Haemost* 2010; 103:1116–27.
201. van Walraven C, Hart RG, Singer DE, et al. Oral anticoagulants vs. aspirin in nonvalvular atrial fibrillation—an individual patient meta-analysis. // *JAMA* 2002; 288:2441–2448..
202. Verhoef T. I. et al. Pharmacogenetic-guided dosing of coumarin anticoagulants: algorithms for warfarin, acenocoumarol and phenprocoumon // *British journal of clinical pharmacology.* 2014; 4(77):626-641.
203. Wadelius M, Chen LY, Downes K, et al. Common VKORC1 and GGCX polymorphisms associated with warfarin dose. *Pharmacogenomics J.* 2005; 5:262-270.
204. Wadelius, M., et al. "The largest prospective warfarin-treated cohort supports genetic forecasting." *Blood* 2009; 4(113): 784-792.
205. Wadelius M., Pirmohamed M. Pharmacogenetics of warfarin: current status and future challenges. *Pharmacogenom. J.* 2007; 7: 99—111.
206. Waldo A.L. Anticoagulation: stroke prevention in patients with atrial fibrillation. *Cardiol. Clin.* 2009; 1(27):125-135.
207. Wattigney W.A., Mensah G.A., Croft J.B. «Increased atrial fibrillation mortality: United States, 1980-1998». *Am. J. Epidemiol.* 2002; 155 (9): 819–26.

208. Whitlon D.S., Sadowski J.A., Suttie J.W. «Mechanism of coumarin action: significance of vitamin K epoxide reductase inhibition». *Biochemistry* 1978;17(8): 1371–1377.
209. Willis RA, et al. Lovastatin decreases coenzyme Q levels in rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:8928-30.
210. Wilson PWF, D'Agostino RB, Levy D et al. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998; 97: 1837–47
211. Wolf P.A., Abbott R.D., Kannel W.B. Atrial fibrillation as an independent risk factor for stroke: the Framingham Study. *Stroke* 1991; 22(8); 983-988.
212. Wyndham CRC (2000). «Atrial Fibrillation: The Most Common Arrhythmia». *Texas Heart Institute Journal* 27 (3): 257–67. PMID 11093410. Проверено 2010-02-17.
213. Yaprak Secil, MD, Yeliz Ciftci, MD, et al. Intracranial Hemorrhages Related with Warfarin Use and Comparison of Warfarin and Acetylsalicylic Acid. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2014; 2(23):321–326
214. Young F. et al. Coronary mortality declines in the US between 1980 and 2000: quantifying the contributions from primary and secondary prevention // *American journal of preventive medicine*. 2010; 3(39): 228-234.
215. Young J.M., Florkowski C.M., Molyneux S.L., et al. Coenzyme Q10 does not improve simvastatin tolerability in dyslipidemic patients with prior statin-induced myalgia. *AHA* 2006 (abstr). *Circulation* 2007;114: II41.
216. Yuan HY, Chen JJ, Lee MT, Wung JC, Chen YF, Charng MJ, et al. A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with interindividual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity. *Hum Mol Genet*. 2005;14(13):1745–51.
217. Zhang H., Plutzky J., Skentzos S., et al. Discontinuation of statins in routine care settings: a cohort study. *Ann Int Med* 2013; 158:526—534.
218. Багненко С., Верткина А., Мирошниченко А., Руководство по скорой медицинской помощи. Глава 3. — ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 816 с. — 5000 экз. — ISBN 978-5-9704-1733-1.

219. Беленков Ю.Н., Оганов Р.Г. Кардиология. Национальное руководство. — Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 1286 с. — (Национальные руководства). — 2000 экз. — ISBN 978-5-9704-1734-8.
220. Бокарев И. Н., Попова Л. В., Козлова Т. В. Тромбозы и противотромботическая терапия в клинической практике. М.: ООО «Мед. информ. агенство»; 2009.
221. Бокерия Л. А., Ревитшвили А. Ш. и др. Рекомендации по лечению больных с нарушениями ритма сердца. 2005;
222. Воробьева Н.М., Панченко Е.П., Добровольский А.Б., и др. Полиморфизмы генов CYP2C9 и VKORC1 у больных с венозными тромбоэмболическими осложнениями в московской популяции: влияние на стабильность антикоагулянтной терапии и частоту кровотечений. Терапевтический Архив 2011 ;83(6):59-65.
223. Гаврисюк Е.В. и соавторы. Опыт использования фармакогенетического тестирования для персонализации дозирования варфарина в поликлинических условиях //PACIFIC MEDICAL JOURNAL. 2015; 1: 60-62.
224. Гиляров М.Ю., Генерозов Э.В., Магомадова М.У Алгоритм подбора дозы варфарина в зависимости от носительства полиморфизма генов CYP2C9 и субъединицы 1 витамин К эпоксидредуктазы. Вестник Аритмологии 2011; 63: 28-31
225. Горбатенко В.С. и соавторы. Мониторинг розничных продаж пероральных антикоагулянтных препаратов в г. Волгограде. Фармакоэкономика: теория и практика. Материалы конгресса. 2016; 1: 205.
226. Горбунова Е. В., Особенности назначения антикоагулянтной терапии у пациентов с протезированными клапанами сердца. Клиническая медицина, 2013; 2:49-52
227. Горбунова Е.В. Диссертация на соискание ученой степени доктор медицинских наук. Пути повышения эффективности и безопасности антикоагулянтной терапии у пациентов с протезами клапанов сердца. 2014
228. Дедов И. И., и соавторы Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом. Под редакцией И. И. Дедова, М. В. Шестаковой (6-й выпуск). Сахарный диабет. 2013; 215:1-121.

229. Дземешкевич С. Л., Панченко Е. П. Антикоагулянтная терапия у пациентов с клапанными пороками сердца. Рус. мед. журн. 2001; 10: 427—430.
230. Драпкина О. М. и соавторы Миопатия как побочный эффект терапии статинами: механизмы развития и перспективы лечения //Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2015;(11): 96-101
231. Драпкина О.М., и соавторы., Статины и миопатия: молекулярные механизмы // РФК. 2012. №3 С.469-473.
232. Загорская В.Л., Игнатъев И.В., Кропачева Е.С., и др. Полиморфный маркер G3673A гена VKORC1 - новый генетический фактор, ассоциированный с развитием геморрагических осложнений при применении непрямых антикоагулянтов. Клиническая Фармакология и Фармакоэкономика 2008; (1): 29-33.
233. Илюхин Е.А., и соавторы Индивидуальная оценка пользы и риска вторичной профилактики венозных тромбоэмболических осложнений антикоагулянтами. Флебология. 2014; 4: 42-54.
234. Исаева М.Ю., и соавторы. Выявление тромба ушка левого предсердия у больных с мерцательной аритмией и факторами риска тромбоэмболических осложнений: роль чреспищеводной эхокардиографии и мультиспиральной компьютерной томографии. Кардиология. 2007; 3: 58-62.
235. Каледа В.И., Антипов Г.Н., Барбухатти К.О. Задняя перикардиотомия как метод профилактики фибрилляции предсердий и перикардального выпота после операций на сердце (обзор литературы). Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия, 2012; 6(5): 48-53
236. Карпов Ю. А. Безопасность как основа длительной терапии статинами. Атмосфера. Новости кардиологии. 2014; 4:17-22.
237. Козлова Т. В. Эффективность и безопасность длительной антикоагулянтной терапии варфарином у больных с венозными тромбозами // Научно-практическая ревматология. 2005; 4:53-57.
238. Козлова Т.В. Контроль за лечением оральными антикоагулянтами. Фарматека. 2003; 3: 87–92.

239. Козлова, Т. В., и соавторы. "Новые оральные антикоагулянты и варфарин: преимущества, недостатки, клиническая практика." Сердце: журнал для практикующих врачей. 2014; 4(13):234-245.
240. Козлова Т.В., Возможности оптимизации антикоагулянтной терапии варфарином. Российский медицинский журнал. 2008; 11(16); 1532-1540
241. Колбин А. С. и др. Фармакоэкономический анализ применения дабигатрана этексилата (Прадакса®) по сравнению с другими антикоагулянтами для лечения тромбозов легочной артерии и тромбоза глубоких вен //Клиническая фармакология и терапия. 2014; 5(32):91-96.
242. Кондратьева Л.В и др. Влияние полиморфизма цитохрома Р450 на эффективность и безопасность терапии варфарином у пациентов с антифосфолипидным синдромом. Научно-практическая Ревматология 2006; (4): 63-9.
243. Корнилов А. А., и др. Опыт внедрения фармакогенетических исследований в университетской клинике // Биомедицина. 2010; 3:79-80.
244. Коротин А.С., и соавт. Выполнение рекомендованных мероприятий медицинской помощи у больных со стабильной ишемической болезнью сердца: данные российского регистра за 2014 год. Кардио-ИТ, 2015;1(3):1-6
245. Корчагина Р.П., и др. Полиморфизм гена VKORC1 (C1173T), определяющего чувствительность индивидов к варфарину, в популяциях коренных этносов селькупов и тундровых ненцев, а также у русских Северной Сибири. Вестник Кемеровского Государственного Университета 2012; (1): 19-23
246. Котловский М. Ю. и др. Ген SLCO1B1 в аспекте фармакогенетики. Сибирское медицинское обозрение. 2015; 1(91)
247. Кох Н. В. и др. Сравнение эмпирического и фармакогенетического подхода в оценке эффективности антикоагулянтной терапии. Кардиология. 2015; 4(55): 57-60.
248. Кропачева Е. С. Актуальные вопросы терапии Варфарином для практикующих врачей. РМЖ. 2012; 14:686-692.
249. Кропачева Е. С., Панченко Е. П. Основы терапии антагонистами витамина К для практикующих врачей. Рус. мед. журн. 2009; 8: 507—513.

250. Кукес В.Г. и др. Метаболизм лекарственных средств: научные основы персонализированной медицины М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008; 304 с
251. Лечение оральными антикоагулянтами: Метод. рекомендации. М.: ГОУ ВПО «МГМСУ РОСЗДРАВА», М.: ГОУВПО ММА им. И. М. Сеченова; 2009.
252. Липовецкий Б. Дислипидемии, атеросклероз и их связь с ишемической болезнью сердца и мозга. – Litres, 2015.
253. Литовский И., Гордиенко А. Атеросклероз и гипертоническая болезнь. Вопросы патогенеза, диагностики и лечения. – Litres, 2015.
254. Лутай М. И. и др. Исследование КОРИФЕЙ: оценка эффективности ивабрадина у амбулаторных пациентов со стабильной ишемической болезнью сердца и симптомами стенокардии. – 2014.
255. Маколкин В. И. Значение статинов в практике лечения ишемической болезни сердца. Русский медицинский журнал. 2012; 3(20).
256. Марк Х. Бирс. Руководство по медицине. Диагностика и лечение. The Merck Manual. Москва: Литтерра, 2011; 909—913.
257. Новикова, Я. В., и соавторы "Длительная терапия непрямыми антикоагулянтами. Современное решение проблемы." Флебология 2012; 3(6): 40-45.
258. Оганов Р. Г. Сердечно-сосудистые заболевания в начале XXI века: медицинские, социальные, демографические аспекты и пути профилактики Федеральный справочник. Здравоохранение России. 2013; 13:257-264.
259. Оганов Р. Г., Масленникова Г. Я. Демографические тенденции в Российской Федерации: вклад болезней системы кровообращения Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2012;1(11):5-10.
260. Оганов Р.Ф. Новые возможности улучшения качества и продолжительности жизни больных стабильной ишемической болезнью сердца Атмосфера. Новости кардиологии. 2015; 1:11-15.
261. Организационно-экономические аспекты внедрения фармакогенетического тестирования в практическое здравоохранение

262. Парфенов В.А., Вербицкая С.В., Новые возможности профилактики инсульта при фибрилляции предсердий. Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. 2010; 1:36-42
263. Переверзева К.Г., Воробьев А.Н., Марцевич С.Ю. Анализ тактики ведения пациентов с ишемической болезнью сердца и фибрилляцией предсердий в реальной поликлинической практике. Наука молодых. 2015; 1:48-55
264. Петров В. И., Смусева О. Н., Соловкина Ю. В. Комплексная оценка предикторов статин-ассоциированного поражения мышечной ткани у пациентов с ишемической болезнью сердца Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2013; 3:247-250
265. Петров В.И. и др. Анализ фармакотерапии тромбоза глубоких вен нижних конечностей (фармакоэпидемиологическое исследование). Флебология. 2014;3: 32-36.
266. Поздняков, Н. О., Хохлов, А. А., Мирошников, А. Е. Значение комплексного подхода с использованием генетического полиморфизма и оценки лекарственного взаимодействия в течение ишемической болезни сердца. Геронтология. 2015; 11:66.
267. Постановление Правительства РФ № 294 от 15.04.2014. Об утверждении государственной программы Российской Федерации "Развитие здравоохранения" (http://www.roszdravnadzor.ru/gos_programs/health/normative?year=2014)
268. Ревитшвили А. Ш. Диагностика и лечение фибрилляции предсердий. Рекомендации ВНОК и ВНОА. М.: ГЭОТАР- медиа, 2011.
269. Рубаненко Е.Ю. Влияние полиморфизмов генов цитохрома P450 2C9 и субъединицы 1 витамин К эпоксидредуктазы на режим дозирования варфарина у больных с постоянной формой фибрилляции предсердий. Аспирантский вестник Поволжья 2012;(1 -2): 57-61.
270. Рубаненко О.А., Кириченко Н.А., Фатенков О.В. Оптимизация гемостазиологических показателей под влиянием терапии статинами у больных ишемической болезнью сердца. Атеросклероз и дислипидемии. 2015; 2(19):50-55.

271. Румянцев Н.А., Сычев Д.А., Кукес В.Г. Перспективы индивидуализации применения и дозирования пероральных антикоагулянтов и статинов у пациентов в рутинной клинической практике. 2015; 24(4)
272. Сидоренко Б. А. Антитромботическая терапия при мерцательной аритмии. М.: ФГУ «Учебнонаучный медицинский центр. 2010.
273. Сироткина А. М., Хохлов А. Л., Могутова И. С., Воронина Е. А., Царева И. Н. Распространенность полиморфного маркера гена *SLCO1B1* у пациентов с гиперлипидемией и некоторых полиморфных вариантов генов у больных с артериальной гипертензией. Наука и современность. 2013; 24:90-96.
274. Сироткина А. М. и др. Возможности оптимизации терапии статинами с учетом генотипирования по *SLCO1B1* и *CYP2C9* у пациентов с сердечно-сосудистой патологией. Профилактика 2015. –2015; 37
275. Смирнов В.В., Савченко А.Ю., Раменская Г.В. Разработка и валидация методики количественного определения эндогенного кортизола и 6- β гидроксикортизола в моче с целью определения активности изофермента *CYP 3A4*. Биомедицина. 2010; 4:56-60.
276. Соловкина Ю.В., Петров. В.И. Оценка риска поражения мышечной ткани при терапии статинами. Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Издательство ВолгГМУ 400006, Волгоград, ул.Дзержинского, 45. Волгоград 2013. 25 стр.
277. Солодун М.В., Якушин С.С. Особенности гиполипидемической терапии аторвастатином при инфаркте миокарда с позиций персонализированной медицины Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2015;1:31-35.
278. Сторожаков Г. И. и др. Применение пероральных антикоагулянтов при фибрилляции предсердий: современное состояние проблемы и новые возможности. Архивъ внутренней медицины. 2013; 2.
279. Сулимов В. А. и др. Антикоагулянтная терапия в реальной клинической практике: данные ретроспективного одномоментного исследования. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2015; 2(11).

280. Сулимов В. А. и др. Диагностика и лечение фибрилляции предсердий. Рекомендации ВНОК и ВНОА (рус.). — Москва, 2011.
281. Сумин А. Н. и др. Распространенность мультифокального атеросклероза у больных ишемической болезнью сердца. Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. 2014; 3.
282. Суслина З.А., Фонякин А.В., Гераскина Л.А. и др. Практическая кардионеврология. М.: ИМА-ПРЕСС, 2010;304 с.
283. Сычев Д.А., Антонов И.М., Загребин С.В. Алгоритмы дозирования варфарина, основанные на результатах фармакогенетического тестирования: реальная возможность оптимизации фармакотерапии. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2007; 2:59-66.
284. Сычев Д.А., Казаков Р.Е., Отделенов В.А. Прикладные аспекты применения фармакогенетического тестирования для персонализации применения пероральных антикоагулянтов в российских условиях. Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии 2013;9(5) 525-531
285. Сычев Д.А., Сулейманов С.Ш., Кукес В.Г. Персонализированная медицина как путь к рациональному применению лекарственных средств: предпосылки, реалии, проблемы и перспективы для отечественной системы здравоохранения. Здравоохранение Дальнего Востока. 2010;1: 2-7.
286. Сычев Д.А., Шуев Г.Н., Прокофьев А.Б. Прикладные аспекты применения фармакогенетического тестирования по SLC6B1 для прогнозирования развития статин-индуцированной миопатии и персонализации применения статинов. Рациональная фармакотерапия в кардиологии. 2013;9(6): 698-700.
287. Тихонова С. А., Хижняк Е. В. Статины: вопросы, требующие решения. Therapia 2008; 3(24):81-84
288. Федеральная служба государственной статистики/ Смертность в 2015 году на территории РФ/
(http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/population/healthcare)

289. Хохлов А. А., Сычев Д. А., Сироткина А. М. Аспекты безопасного применения статинов: межлекарственное взаимодействие, фармакогенетические вопросы //Universum: медицина и фармакология. 2016; 1-2(24):17 с.
290. Чазов Е. И., Бойцов С. А. Пути снижения сердечно-сосудистой смертности в стране //Кардиологический вестник. 2009; 1(16):5-10.
291. Чазов Е.И., Беленков Ю.Н. Рациональная фармакотерапия сердечно-сосудистых заболеваний. М.: Литтерра. 2006
292. Чазова И.Е., Ощепкова Е.В. Опыт борьбы с сердечно-сосудистыми заболеваниями в России. Аналитический вестник. 2015. №. 44(597). С. 4-9
293. Черненко Ю. В., Решетько О. В., Новиков Д. Е. Клиническая фармакология объединяет врачей всех специальностей: итоги ежегодной Межрегиональной конференции «От теории к практике: возможности и трудности современной фармакотерапии». Saratov Journal of Medical Scientific Research/Saratovskii Nauchno-Meditsinskii Zhurnal. 2016; 2(12).
294. Ческа Р., Митченко Е.И. Глобальный сердечно-сосудистый риск: как его снизить. Здоровье Украины. 2010; 1:3-4
295. Шальнова С.А., Конради А.О., Карпов Ю.А. и соавт./Анализ смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в 12 регионах Российской Федерации, участвующих в исследовании «Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах России». Российский кардиологический журнал, 2012; 97(5):6-11
296. Шевела А.И., Лившиц А.И., Новикова Я.В. Фармакогенетические основы применения варфарина. Флебология. 2008; 3:35-37.
297. Шилов А.М., Мельник М.В., Осия А.О., и др. Патофизиология и принципы лечения фибрилляции предсердий. РМЖ. 2011; 14:877-891
298. Шуев Г. Н., Сычев Д. А., Грачев А. В. Полиморфизм гена SLCO1B1, ассоциированный с развитием статин-индуцированной миопатии, уровень витамина D у российских пациентов с гиперлипидемиями //Креативная кардиология. 2015; 4: 40-45