

На правах рукописи

ПАРУСОВ АНДРЕЙ ИГОРЕВИЧ

**СИНДРОМ ПОРТАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У БОЛЬНЫХ  
ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ: ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД  
К ПРИМЕНЕНИЮ  $\beta$ -АНДРЕНОБЛОКАТОРОВ**

3.1.18. – Внутренние болезни

3.3.6. – Фармакология, клиническая фармакология

**АВТОРЕФЕРАТ**

Диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Москва – 2022

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

**Научный руководитель:** Лоранская Ирина Дмитриевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой гастроэнтерологии ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России

**Научный руководитель:** Сычев Дмитрий Алексеевич, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической фармакологии и терапии имени академика Б.Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России

**Официальные оппоненты:**

**Винницкая Елена Владимировна**, доктор медицинских наук, ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова» Департамента здравоохранения г. Москвы, научно-исследовательский отдел гепатологии, руководитель отдела

**Загородникова Ксения Александровна**, кандидат медицинских наук, ФБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, отдел клинической фармакологии, заведующая отделом

**Ведущая организация:** ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова» Минздрава России

Защита состоится «23» июня 2022 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета 21.3.054.02 на базе ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ по адресу: 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава РФ по адресу: 125445, г. Москва, ул. Беломорская, д. 19/38, на сайте ФГБОУ ДПО РМАНПО <http://www.rmapo.ru/>.

Автореферат разослан «\_\_\_» марта 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного Совета  
доктор медицинских наук,  
профессор

Мазанкова Людмила Николаевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы диссертационного исследования

Цирроз печени, как патогенетический фактор развития синдрома портальной гипертензии с последующим развитием кровотечения из варикозно-расширенных вен, с каждым годом все чаще становится причиной смертности. Соответственно, в клинической практике встает вопрос о поиске методов профилактики развития кровотечения такого генеза. Многие годы неселективные  $\beta$ -адреноблокаторы ( $\beta$ -АБ) входили в список рекомендуемых препаратов, назначаемых пациентам с циррозом печени в стадии декомпенсации с целью лечения портальной гипертензии и предотвращения развития кровотечения из варикозно-расширенных вен. Пропранолол является широко используемым неселективным  $\beta$ -адреноблокатором. Он обладает антигипертензивным, антиангинальным и антиаритмическим эффектом. Кроме того, способен снижать давление в системе воротной вены, что и обуславливает его назначение с целью превенции развития кровотечения из варикозно-расширенных вен пищевода (ВРВП) [41]. Ряд многоцентровых плацебо-контролируемых исследований доказал, что неселективные  $\beta$ -адреноблокаторы эффективны в отношении профилактики желудочно-кишечных кровотечений практически в 35% случаев [22]. Однако, в ряде случаев  $\beta$ -адреноблокаторы не оказывают никакого клинического эффекта. Подобные ситуации в клинической практике возникают у больных с нарушением печеночной функции или, в анамнезе которых были диагностированы кровотечения из ВРВ пищевода. Снижение эффективности пропранолола у таких пациентов наблюдается в 65%. Кроме того, как и у большинства лекарственных средств,  $\beta$ -АБ обладают нежелательными побочными реакциями, к самым грозным из которых относятся остановка сердечной деятельности и бронхоспазм [55].

В связи с этим возникает необходимость определения предикторов положительного гемодинамического ответа на действие неселективных  $\beta$ -адреноблокаторов с целью прогнозирования эффективности лечения. Определено несколько факторов, влияющих на гемодинамический ответ к действию пропранолола: функция печени, доза введенного лекарственного средства и полиморфизм гена, ответственного за метаболизм пропранолола [73]. Цитохром 2D6 (CYP2D6) играет важную роль в метаболизме пропранолола, в

большей степени за счет реакции 4-гидроксилирования (50 –95%) [108].

Главная особенность большинства цитохромов семейства P450 в целом и CYP2D6 в частности это значительная вариабельность его активности в популяции. Основопологающим фактором, приводящим к такой вариабельности, является генетический полиморфизм – возникновение различных аллелей гена CYP2D6 ввиду мутаций. Активность большинства таких аллелей снижена или отсутствует вовсе. Подбор дозы лекарственных препаратов для этих пациентов требует персонализированного подхода. Комбинация с препаратами, способными ингибировать CYP2D6 влечет за собой повышение концентрации лекарства в крови и их длительной циркуляции, что приводит к пролонгированию фармакологического действия и развитию нежелательных побочных реакций. У «медленных» метаболизаторов концентрация пропранолола в крови выше, чем у «экстенсивных», что может быть связано с носительством аллельного варианта CYP2D6\*4. Следовательно, изучение влияния полиморфизма гена CYP2D6 на гемодинамический ответ при применении пропранолола может быть основой для прогнозирования эффективности данного препарата и персонализации применения  $\beta$ -адреноблокаторов у пациентов с портальной гипертензией.

#### **Степень разработанности темы диссертационного исследования**

В настоящее время отсутствует четкая схема лечения неселективными  $\beta$ -адреноблокаторами больных циррозом печени. Рекомендовано назначать пропранолол в такой дозе, которая снижает частоту пульса на 25% в покое или до 55 ударов в минуту при исходной брадикардии. Доза может варьировать от 30 до 320 мг/сут [31]. В таком случае подход к терапии является единым для все пациентов с портальной гипертензией, однако, выбор индивидуальной дозы остается не определенным.

Отсутствие клинического эффекта, а также возникновение нежелательных лекарственных реакций на фоне приема пропранолола у ряда пациентов объясняется различным профилем фермента CYP2D6 и полиморфизмом генов, кодирующих эти ферменты. Для исследования полиморфизма гена CYP2D6 используется метод генотипирования – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (real-time PCR). Помимо

генотипирования в основе оценки активности изоферментов цитохрома P450, для последующего определения индивидуального клинического ответа на прием лекарственного средства, лежат методы фенотипирования. Современные методы фенотипирования предполагают использование эндогенных «маркеров» таких, как пинолин, который подвергается O-деметиляции только под действием CYP2D6 с образованием метаболита 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро- $\beta$ -карболина [71]. Разработана чувствительная методика количественного определения пинолина и его метаболита с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с трехквადрупольным масс-спектральным детектированием. Данный метод был валидизирован по показателям линейности, селективности, прецизионности и пределу количественного определения [2].

В ранее проведенных исследованиях выявлены связи между фармакокинетическими параметрами, эффективностью пропранолола и полиморфизмом генов CYP2D6 [117]. Однако противоречивость выводов, малочисленность научных работ по изучению влияния полиморфизма генов CYP2D6 на гемодинамический эффект пропранолола при синдроме портальной гипертензии у больных циррозом печени, отсутствие подобных исследований с участием пациентов российской популяции подчеркивает важность данного исследования, что в свою очередь может стать предпосылкой к разработке персонализированного подхода к назначению пропранолола при синдроме портальной гипертензии у больных циррозом печени, что скажется на эффективности и безопасности его назначения.

**Цель диссертационного исследования:** оптимизировать эффективность фармакотерапии  $\beta$ -адреноблокаторами синдрома портальной гипертензии у больных циррозом печени с использованием фармакогенетических технологий.

**Задачи диссертационного исследования:**

1. Оценить корректность назначения неселективных  $\beta$ -адреноблокаторов при синдроме портальной гипертензии у пациентов с циррозом печени.

2. Сопоставить степень тяжести клинических проявлений цирроза печени с активностью фермента метаболизма пропранолола CYP2D6.

3. Определить зависимость положительного гемодинамического эффекта пропранолола от эндоскопической картины вен пищевода.

4. Сравнить динамику выраженности портальной гипертензии на фоне терапии пропранололом у носителей различных генотипов по *CYP2D6*.

5. Разработать алгоритм персонализации лечения пациентов с циррозом печени неселективными  $\beta$ -адреноблокаторами с применением генотипирования по *CYP2D6*.

#### **Научная новизна результатов диссертационного исследования**

Полученные в нашей работе новые данные сопоставимы с ранее опубликованными (Zhang F., Власкина М.В.). При этом абсолютной новизной является то, что в рамках диссертационной работы впервые определена степень эффективности пропранолола у пациентов с циррозом печени в зависимости от полиморфизма гена *CYP2D6* в российской популяции. Разработан алгоритм персонализации лечения пациентов с циррозом печени неселективными  $\beta$ -адреноблокаторами с использованием методов генотипирования по *CYP2D6*.

#### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Результаты проведенного диссертационного исследования расширяют уже имеющиеся знания о фармакогенетике, что позволит разработать и модернизировать теоретический подход к персонализированной терапии. Предложенный в ходе исследования алгоритм персонализации лечения пациентов с циррозом печени неселективными  $\beta$ -адреноблокаторами является актуальным для профилактики развития кровотечения из варикозно-расширенных вен пищевода, как одного из наиболее грозных осложнений портальной гипертензии. Фармакогенетический метод исследования полиморфизма гена *CYP2D6* – полимеразная цепная реакция в режиме реального времени – позволяет быстро и достоверно определить генотип по полиморфному маркеру *CYP2D6*\*4, что способствует индивидуальному подбору дозы пропранолола с учетом определения динамики средней линейной скорости кровотока воротной вены, что необходимо для практической деятельности. Использование результатов диссертационного исследования позволит повысить точность диагностики, оптимизировать эффективность фармакотерапии  $\beta$ -адреноблокаторами синдрома портальной гипертензии у больных циррозом печени с использованием фармакогенетических технологий, тем самым уменьшить частоту

возникновения осложнений данного заболевания, сократить сроки госпитализации в стационаре и улучшить качество жизни пациентов.

### **Методология и методы исследования**

Предмет исследования – проблема эффективности применения неселективных  $\beta$ -адреноблокаторов у пациентов с циррозом печени различной этиологии с целью уменьшения проявлений портальной гипертензии.

Объект исследования – пациенты с циррозом печени различной этиологии с развившимся синдромом портальной гипертензии.

Критерии включения – пациенты с подтвержденным диагнозом цирроза печени различной этиологии, класс А, В и С по Чайлд-Пью возрастом не более 75 лет.

Критерии невключения – наличие у больного противопоказаний к применению пропранолола, одновременный прием препаратов ингибиторов изофермента CYP2D6, а также лекарственных средств, метаболизм которых осуществляется за счет системы CYP2D6, пациенты, перенесшие кровотечение из варикозно-расширенных вен пищевода во время настоящей госпитализации и/или имеющие сопутствующее онкологическое заболевание.

Методы исследования – использован комплекс клинических, лабораторных и инструментальных методов исследования, для оценки активности CYP2D6 выбран метод определения отношения концентрации пинолина и его метаболита в утренней моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией, а также метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для детекции полиморфного маркера G1846A гена CYP2D6 с последующим статистическим анализом полученных результатов.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Установлено, что наиболее достоверным показателем положительного гемодинамического ответа на терапию пропранололом у больных циррозом печени является увеличение средней линейной скорости кровотока воротной вены на  $\geq 20\%$  от исходного через 14 дней от начала лечения. Положительный гемодинамический эффект пропранолола ассоциирован со степенью варикозного расширения вен пищевода у больных циррозом печени. У пациентов с 3 степенью варикозного расширения вен пищевода наблюдается лучший ответ на лечение – в 87,5% случаев.

2. Доказано, что терапевтическая доза пропранолола сопряжена с полиморфизмом гена *CYP2D6* (1846G>A). Для достижения положительного гемодинамического эффекта пациентам с гомозиготным генотипом *G/G1846* следует начинать терапию пропранололом в дозе 10 мг 3 раза в день. Носителям гетерозиготного генотипа *G/A1846* назначать дозу выше 30 мг в сутки.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационная работа на тему «Синдром портальной гипертензии у больных циррозом печени: фармакогенетический подход к применению  $\beta$ -адреноблокаторов» соответствует паспорту специальности 3.1.18. – Внутренние болезни, п.1. «Изучение этиологии и патогенеза заболеваний внутренних органов: сердечно-сосудистых заболеваний, патологии респираторного, желудочно-кишечного тракта, болезни почек, соединительной ткани и суставов во всем многообразии их проявлений и сочетаний», а также паспорту специальности 3.3.6. – 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.№ 16 «Изучение структуры назначения лекарственных средств при профилактике и лечении различных заболеваний путем проведения ретроспективных и проспективных фармакоэпидемиологических исследований»; п.№ 18 «Разработка и оптимизация методов фармакотерапии и профилактики заболеваний у различных групп пациентов с учетом их индивидуальных особенностей, включая исследование приверженности фармакотерапии (комплаентности). Область - "Медицинские науки».

### **Внедрение результатов диссертации в практику и учебный процесс**

Результаты исследования включены в учебный процесс кафедры гастроэнтерологии на циклах профессиональной переподготовки и повышения квалификации врачей по направлению «Гастроэнтерология» ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, в

процесс обучения ординаторов, а также практическую и диагностическую работу терапевтических отделений ГБУЗ «ГКБ им. братьев Бахрушиных Департамента здравоохранения города Москвы» и подтверждены актами внедрения.

#### **Апробация диссертации**

Проведение диссертационного исследования одобрено Комитетом по этике научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, протокол № 10 от 19.09.2017 года.

Тема диссертационного исследования утверждена на Совете терапевтического факультета ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, протокол № 7 от 09.11.2017 года.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на расширенном заседании кафедры гастроэнтерологии и кафедры клинической фармакологии и терапии имени академика Б.Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, протокол № 11 от 22.11.2021 г.

#### **Публикации и участие в научных конференциях**

По данным проведенной научно-исследовательской работы опубликовано 8 печатных работ, из них 3 – в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ, в т.ч. 1 в перечне российских изданий, индексируемых в международных базах данных и системах цитирования Scopus.

Результаты диссертационной работы доложены на 44-ой сессии ЦНИИ гастроэнтерологии «Персонализированная медицина в эпоху стандартов» (Москва, 2018) в форме устного выступления, IV Междисциплинарной гастро-эндоскопической конференции (Москва, 2018), IX Конференции молодых ученых с международным участием РМАНПО МЗ РФ «Трансляционная медицина: возможное и реальное» (Москва, 2018), второй Российской зимней школе молодых ученых и врачей по фармакогенетике, фармакогеномике и персонализированной терапии (Москва, 2019), 14-ом конгрессе Европейской ассоциации клинических фармакологов и терапевтов (Стокгольм, 2019) в форме стендового доклада, II Междисциплинарной научной конференции московского региона «Современные тренды развития гастроэнтерологии: новые клинические решения и рекомендации» (Москва, 2019), VI ежегодном московском конгрессе, посвященном актуальным вопросам Клинической фармакологии «Вотчаловские чтения»

(онлайн, 2020), III междисциплинарной научной конференции «Современные тренды развития гастроэнтерологии: новые клинические решения и рекомендации» к 90-летию ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ (онлайн, 2020), научно-практической школе-семинаре с международным участием «Петербургская весна гепатологии» (онлайн, 2020), VII ежегодном московском конгрессе, посвященном актуальным вопросам Клинической фармакологии «Вотчаловские чтения» (онлайн, 2021).

#### **Личный вклад соискателя**

Автор диссертационной работы провел анализ отечественной и зарубежной литературы. Диссертант самостоятельно сформулировал цель и задачи исследования, а также разработал дизайн. Автор лично курировал пациентов с циррозом печени во время госпитализации в стационаре, проводил забор биологических материалов, необходимых для проведения научной работы. Соискатель выполнил статистическую обработку данных, дальнейшую интерпретацию и анализ полученных результатов, формулировал основные положения, выводы и практические рекомендации диссертации. Активно принимал участие в конференциях и подготовил публикации по теме диссертации.

#### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 107 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, глав, посвященных материалам и методам научной работы, результатам собственного научного исследования, двух клинических примеров, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа содержит 5 рисунков и 18 таблиц. Список литературы включает 117 источников, из которых 38 отечественных и 79 иностранных авторов.

#### **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

##### **Материалы и методы**

Диссертационная работа выполнена на клинической базе кафедры гастроэнтерологии ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» – 1-го и 2-го терапевтических отделений ГБУЗ «ГКБ им. братьев Бахрушиных ДЗ г. Москвы», и в отделе молекулярной медицины Научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

Первый этап работы – ретроспективный. Методом сплошного исследования был проведен статистический анализ данных историй болезни пациентов с диагнозом цирроз печени, находившихся на стационарном лечении в отделениях терапевтического и гастроэнтерологического профиля ГKB имени братьев Бахрушиных ДЗМ за 2015 – 2017 гг.

На втором этапе работы было проведено проспективное рандомизированное исследование пациентов с диагнозом цирроз печени различной этиологии, госпитализированных в отделение терапевтического профиля, не получавших ранее пропранолол.

Всего для исследования выбрано 90 пациентов с установленным диагнозом цирроз печени, 60 из которых было проведено фармакогенетическое исследование по выявлению полиморфизма гена *CYP2D6*\*4.

Критерии включения в проспективное рандомизированное исследование: подтвержденный диагноз цирроза печени различной этиологии, класса А, В и С по Чайлд-Пью, возраст <75 лет и наличие подписанного пациентом информированного добровольного согласия на участие в исследовании и обработку персональных данных. Критериями невключения служили наличие противопоказаний к применению пропранолола, регламентированных в утвержденных Министерством здравоохранения РФ инструкциях по медицинскому применению препарата; одновременный прием следующих лекарственных средств: ингибиторов изофермента *CYP2D6*, лекарственных средств, метаболизм которых осуществляется *CYP2D6*; перенесенное пациентом кровотечение из варикозно-расширенных вен пищевода во время настоящей госпитализации, а также сопутствующее онкологическое заболевание.

С целью оценки качества применения неселективных  $\beta$ -адреноблокаторов при синдроме портальной гипертензии были обработаны архивные истории болезни пациентов с диагнозом цирроз печени, находившихся на стационарном лечении в отделениях терапевтического и гастроэнтерологического профиля (с оценкой критериев эффективности применения неселективных  $\beta$ -адреноблокаторов: динамика клинических проявлений портальной гипертензии в виде уменьшения отечно-асцитического синдрома, печеночной энцефалопатии, отсутствие кровотечения из варикозно-

расширенных вен пищевода по данным ЭГДС и уменьшение диаметра портальной вены, определяемого ультрасонографически).

Для верификации диагноза цирроза печени были использованы клинические (сбор жалоб и анамнеза, общий визуальный осмотр, измерение объема живота, перкуссия и пальпация живота с определением размеров печени и селезенки по Курлову) и лабораторные методы исследования (общие анализы крови и мочи, биохимический анализ крови с определением уровня концентрации общего и прямого билирубина, аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы, гамма-глутамилтрансферазы, общего белка, альбумина, глюкозы, креатинина и мочевины).

Для оценки наличия или отсутствия осложнений и определения степени их выраженности были проведены инструментальные методы исследования: ультрасонография органов брюшной полости с использованием доплерографии воротной вены. Проводилось измерение размеров печени и селезенки с изучением их эхоструктуры, диаметра и средней линейной скорости кровотока воротной вены, а также количества асцитической жидкости. За референтное значение средней линейной скорости кровотока воротной вены (СЛСКВ) принималось  $22,9 \pm 4,2$  см/с. Для выявления варикозного-расширения вен пищевода, печеночной гастропатии и признаков кровотечения применялась эзофагогастроуденоскопия.

С целью определения степени тяжести цирроза печени выбрана классификация заболевания по Чайлд-Пью (с учетом измерения уровня билирубина и альбумина крови, МНО или протромбинового индекса, степени выраженности асцита и печеночной энцефалопатии, определенной методом связи чисел), которая позволяет объективно оценить исходное состояние больного и дальнейшую динамику в результате лечения.

Для определения динамики синдрома портальной гипертензии на фоне проводимой терапии пропранололом в дозе 10 мг 3 раза в сутки через 14 дней были повторно использованы следующие ультрасонографические параметры: диаметр портальной вены и линейная скорость кровотока в портальной вене (аппарат ультразвуковой диагностики Toshiba Aplio 500). За критерий ответа на терапию пропранололом мы принимали любое увеличение СЛСКВ по сравнению с исходным. С целью оценки влияния полиморфизма гена

CYP2D6 (1846G>A) на гемодинамический эффект пропранолола в рамках научного поиска в качестве критерия ответа принималось увеличение СЛСКВ на  $\geq 10\%$  и  $\geq 20\%$  по сравнению с исходным.

Венозную кровь пациентов собирали в первый день исследования в вакуумные пробирки с ЭДТА-К3 IMPROVACUTER (Guangzhou Improve Medical Instruments Co., Ltd, Китай). Выделение геномной ДНК из цельной крови осуществлялось с помощью набора реагентов S-Сорб для выделения ДНК на кремниевом сорбенте (ООО «Синтол», Россия). Носительство полиморфных маркеров CYP2D6\*4 (1846G>A), определялось с помощью коммерческих наборов реагентов для определения соответствующих полиморфизмов (ООО «Синтол», Россия и «TaqMan®SNP Genotyping Assays» и TaqMan Universal Master Mix II, по UNG, Applied Biosystems, США) методом ПЦР в реальном времени на приборе CFX96 Touch Real Time System с ПО CFX Manager версии 3.0 (BioRad, США).

Для оценки активности CYP2D6 выбран метод определения отношения концентрации 6-гидрокси-1,2,3,4-тетрагидро-бетакарболина к концентрации пинолина в утренней моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (хроматограф Agilent 1100 series). Моча у пациентов собиралась в утренние часы, натощак, до приема лекарственных препаратов, в количестве 10 мл. Исследование проводилось на базе ФГБУ «ГНЦ институт иммунологии» ФМБА России.

В зависимости от используемого метода, объема исследуемых групп, а также математического вида регистрируемого показателя использовали различные методы вариационной статистики, рекомендованные для анализа результатов клинических исследований. При сравнении количественных и качественных признаков проводилась оценка нормальности распределения с помощью теста Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка с последующим использованием критерия Манна-Уитни. Достоверность результатов сравнения качественных признаков оценивали с помощью непараметрического критерия согласия Пирсона (Хи-квадрат). Для проверки различий между двумя выборками парных или независимых измерений использовали непараметрический статистический критерий Вилкоксона. С целью оценки влияния полиморфизма гена CYP2D6 (1846G>A) на

эффективность терапии пропранололом у пациентов с циррозом печени была построена унивариативная логистическая регрессионная модель. Вычисления осуществлялись на персональном компьютере с операционной системой Windows 10 Домашняя с использованием лицензионного программного продукта STATISTICA v10.0 («StatSoft Inc.», США).

### **Полученные результаты**

В ретроспективной части исследования проанализировано 112 историй болезни пациентов с диагнозом цирроз печени, проходивших стационарное лечение в отделениях терапевтического профиля ГКБ им. братьев Бахрушиных ДЗ г. Москвы в период с 2015 по 2017 гг.

У 90 пациентов (80% от общего количества) было выявлено варикозное расширение вен пищевода различной степени выраженности и/или гипертензионная гастропатия. Это осложнение в 15 случаях привело к развитию кровотечения, три из них закончилось летальным исходом. Шесть пациентов умерло в результате нарастания тяжелой печеночно-клеточной недостаточности.

Из 112 пациентов,  $\beta$ -блокаторы были назначены 53 больным, из них неселективные, назначение которых показано при портальной гипертензии – 21, в корректной дозе (не менее 30 мг в сутки) лишь 9 пациентам, то есть 8% от общего количества больных, при том, что противопоказания к назначению  $\beta$ -адреноблокаторов такие, как синусовая брадикардия, атриовентрикулярная блокада и бронхиальная астма, имели всего 12 пациентов.

Таким образом, проблема применения неселективных  $\beta$ -адреноблокаторов при синдроме портальной гипертензии у больных циррозом печени остается актуальной и сегодня. Одним из путей решения вопроса применения и подбора дозы препарата может стать фармакогенетический подход, что и обусловило выбор темы научной работы и формирования группы проспективной фазы исследования.

В проспективной части исследования в основную группу пациентов вошли 90 человек с установленным диагнозом цирроза печени. Из основной группы были отобраны пациенты, которые имели показания к назначению неселективного  $\beta$ -адреноблокатора пропранолола при отсутствии противопоказаний к данному лекарственному средству. Данная подгруппа пациентов составила 60 человек.

При проведении клинического обследования данной подгруппы пациентов выявлены различные симптомы и синдромы. Чаще прочих встречались желтуха (35 пациентов, т.е. 58,3%), асцит: ненапряженный – 44 (73,3%) и напряженный – 1, который требовал проведения лечебно-диагностического лапароцентеза, отеки нижних конечностей (40 человек), печеночная энцефалопатия 1 и 2 степени выраженности (23 и 19 больных соответственно) и полинейропатия (4). Лабораторная диагностика выявила аналогичные основной группе больных биохимический синдром холестаза (50 пациентов, т.е. 83,3%), цитолиза (60), гипоальбуминемию (43 больных – 71,6%), коагулопатию (11 человек – 18,3%), а также анемию различной степени тяжести: легкая, средняя и тяжелая (18, 14 и 6 пациентов соответственно). Всем пациентам данной подгруппы проведен ряд инструментальных исследований, таких как эзофагогастродуоденоскопия, которая выявила 40 (66,6%) случаев варикозного расширения вен пищевода, преимущественно второй степени (21 человек) и 12 пациентов с признаками печеночной гастропатии (20%). С помощью ультрасонографии гепатобилиарной системы и селезенки у 46 (76,6%) больных выявлена спленомегалия, впоследствии приведшая к синдрому гиперспленизма у 37 пациентов.

Проведено определение зависимости активности CYP2D6 от степени тяжести цирроза печени данной подгруппы больных. Для этого сопоставлялось метаболическое отношение концентрации пинолина и его метаболита в моче со степенью активности цирроза печени и его классом по Чайлд-Пью. Статистической значимости этой зависимости выявлено не было (табл. 1).

**Таблица 1.**

Зависимость активности CYP2D6 от степени тяжести цирроза печени

Фактор тяжести цирроза печени	Количество пациентов	Метаболическое отношение	<i>p</i>
Класс по Чайлд-Пью (А/В/С)	4/27/29	1,44±2,4	0,658
Степень активности цирроза (минимальная/умеренная)	45/15		0,484

Кроме того, доплерографически определена средняя линейная скорость кровотока воротной вены (СЛСКВ) до начала лечения пропранололом и через 14 суток на фоне терапии. Положительная динамика была выявлена у 41 больного (68,3%). У 19 пациентов

(31,7%) эффекта от лечения не отмечалось: скорость кровотока в воротной вене не изменялась или снижалась.

Всем пациентам выбранной группы был назначен неселективный  $\beta$ -адреноблокатор пропранолол в дозе 10 мг кратностью 3 раза в день. Как показано в таблице 2, в среднем на фоне лечения пропранололом у пациентов отмечалось значимое увеличение средней линейной скорости кровотока воротной вены ( $p=0,003$ ), а также снижение частоты сердечных сокращений ( $p<0,001$ ), систолического (САД) и диастолического (ДАД) артериального давления ( $p<0,001$  и  $p=0,004$  соответственно). Средняя разница увеличения СЛСКВ составила 1,8 см/с. У 41 пациента, ответившего на терапию, также отмечалась значимая положительная динамика вышеуказанных показателей. Так средняя линейная скорость кровотока воротной вены увеличилась с  $10,4\pm 3,9$  см/с до  $14,7\pm 4,3$  см/с ( $p < 0,001$ ), среднее снижение ЧСС – 11,4 уд. в мин. ( $p<0,001$ ), САД и ДАД – 8,05 мм рт.ст. ( $p=0,006$ ) и 4,51 мм рт.ст. ( $p=0,037$ ) соответственно.

**Таблица 2.**

Изменение СЛСКВ и показателей центральной гемодинамики на фоне терапии пропранололом больных циррозом печени

	Всего пациентов (n=60)		Ответили на терапию (n=41)		Не ответили на терапию (n=19)	
	До лечения	Через 14 дней	До лечения	Через 14 дней	До лечения	Через 14 дней
СЛСКВ (см/с)	$11,6\pm 4,7$	$13,4\pm 4,6^*$	$10,4\pm 3,9$	$14,7\pm 4,3^*$	$14,1\pm 5,3^*$ *	$10,5\pm 3,9^*$ *
ЧСС (уд. в мин.)	$87,8\pm 15,7$	$75,9\pm 8,3^*$	$88,3\pm 16,1$	$76,1\pm 8,0^*$	$86,7\pm 15,1$	$75,7\pm 9,1$
САД (мм рт. ст.)	$124,6\pm 7,6$	$114,5\pm 10,1^*$	$122,1\pm 17,7$	$114,3\pm 10,9^*$	$130,0\pm 16,5$	$115,0\pm 8,2$
ДАД (мм рт. ст.)	$77,2\pm 10,5$	$72,2\pm 7,3^*$	$76,1\pm 9,5$	$71,6\pm 8,2^*$	$79,5\pm 12,6$	$73,4\pm 5,0$

\* $p < 0,05$  в сравнении с показателем до лечения

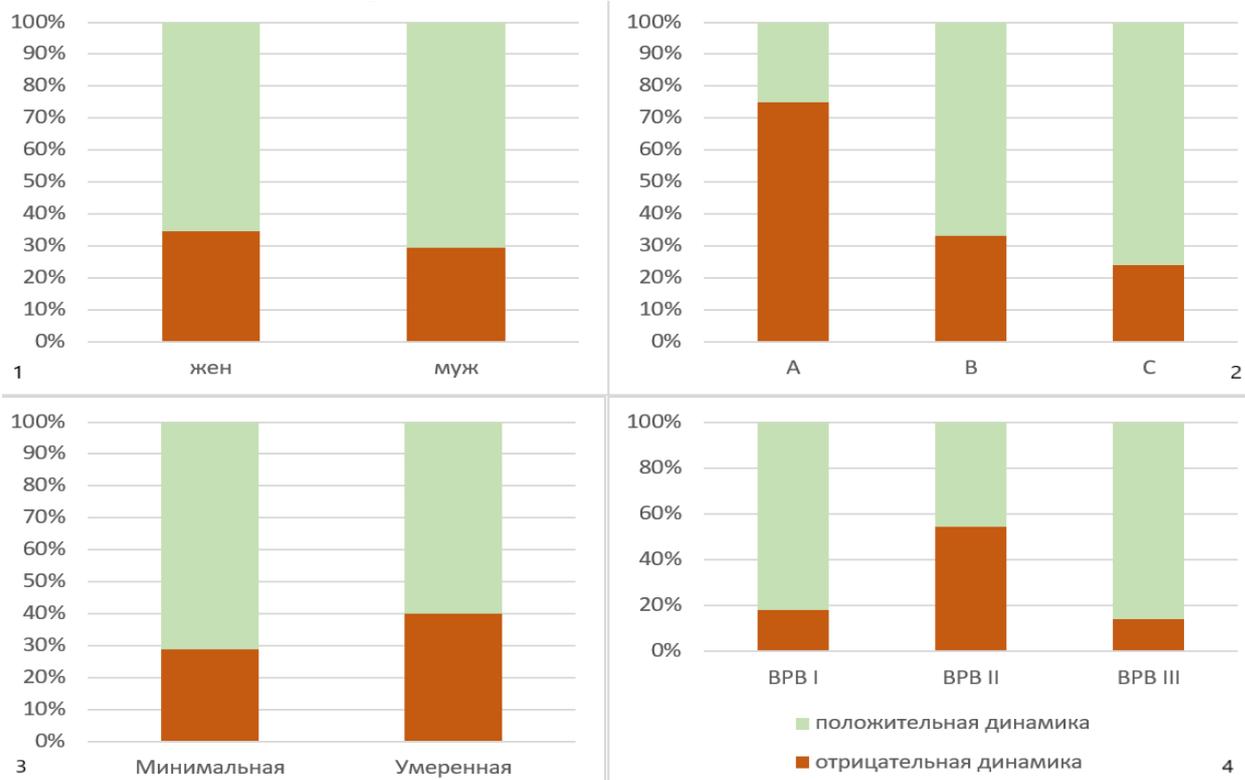
\*\* $p < 0,05$  в сравнении с аналогичным показателем у пациентов, ответивших на терапию

Тридцать шесть пациентов показали увеличение СЛСКВ на  $\geq 10\%$  от исходного со значимой динамикой на 4,8 см/с ( $p < 0,001$ ), у 29 больных наблюдалось увеличение этого показателя на  $\geq 20\%$  от исходного с динамикой на 5,5 см/с ( $p < 0,001$ ). Кроме того, при сравнении всех гемодинамических показателей пациентов с

положительной и отрицательной динамикой между собой выявлено значимое различие показателей изменения средней линейной скорости кровотока воротной вены до начала лечения и через 14 дней на фоне терапии ( $p=0,04$  и  $p=0,005$  соответственно).

Кроме того, проведено определение зависимости изменения показателя скорости кровотока воротной вены от пола пациентов, класса цирроза печени по Чайлд-Пью, активности, а также от степени варикозного расширения вен пищевода этих больных (рис. 1).

В таблице 3 представлено сравнение по вышеуказанным клиническим факторам между респондентами и пациентами, не ответившими на терапию. Из 40 пациентов с варикозным расширением вен пищевода выраженная положительная динамика изменения СЛСКВ наблюдалась у больных с 3 степенью ВРВП: 7 из 8 человек, т.е. 87,5% ( $p < 0,05$ ).



**Рисунок 1.** Зависимость эффективности пропранолола от 1-пола, 2-класса цирроза печени по Чайлд-Пью, 3-активности цирроза печени, 4-степени варикозного расширения вен пищевода.

Результаты сравнения остальных клинических показателей не выявили статистической значимости, что говорит об отсутствии весомого влияния этих факторов на гемодинамический эффект пропранолола.

Таблица 3.

Сравнение распределения пациентов по различным клиническим факторам и генотипу

	Отвечали на терапию	Не ответили на терапию	$\chi^2$	<i>p</i>
Пол (м/ж)	24/17	10/9	0,184	0,668
Класс по Чайлд-Пью (А/В/С)	1/18/22	3/9/7	4,266	0,119
Активность цирроза (минимальная/умеренная)	32/9	13/6	0,642	0,423
Варикозное расширение вен пищевода (отсутствие/1/2/3 степени)	16/9/9/7	4/2/12/1	9.839	0,019

Всем 60 пациентам выбранной группы проведено фармакогенетическое исследование с целью определения полиморфизма гена *CYP2D6* ( $1846G>A$ ), по результатам которого было выявлено 47 носителей гомозиготного генотипа  $G/G1846$  и 13 гетерозиготного  $G/A1846$ , в то время как гомозигот  $A/A1846$  в исследуемой выборке не наблюдалось. При сравнении показателей средней линейной скорости кровотока воротной вены, ЧСС, САД и ДАД до и после лечения пропранололом между носителями гомозиготного и гетерозиготного генотипов статистической значимости этой зависимости выявлено не было (табл. 4).

Таблица 4.

Распределение пациентов с циррозом печени по генотипу

Генотип	Ответ на терапию (+/-)	Скорость кровотока, см/с		ЧСС, уд. в мин.		САД, мм рт. ст.		ДАД, мм рт. ст.	
		До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения	До лечения	После лечения
G/G1846	32/15	11,09 ± 4,46	12,94 ± 4,44	85,94 ± 15,57	75,91 ± 9,11	127,34 ± 18,29	114,26 ± 10,37	77,98 ± 11,45	71,81 ± 7,90
G/A1846	9/4	13,30 ± 5,10	14,90 ± 4,93	94,46 ± 14,79	76,23 ± 4,69	114,62 ± 9,89*	115,38 ± 9,46	74,23 ± 5,72	73,46 ± 4,74

\* $p < 0.05$  в сравнении с аналогичными показателем у носителей  $G/G1846$

С целью оценки влияния полиморфизма гена *CYP2D6* ( $1846G>A$ ) на эффективность терапии пропранололом у пациентов с циррозом печени было построено три варианта унивариативной логистической регрессионной модели. В качестве зависимой переменной выступал показатель ответа пациента на терапию пропранололом (увеличение линейной скорости кровотока воротной вены), а независимой переменной выступал генотип по полиморфному маркеру *CYP2D6* ( $1846G>A$ ).

На первом этапе научного поиска за критерий ответа на терапию мы принимали любое увеличение СЛСКВ по сравнению с исходным. По результатам такого регрессионного анализа статистически значимого влияния полиморфизма гена *CYP2D6* (1846G>A) на терапевтический эффект пропранолола выявлено не было (табл. 5).

Таблица 5.

Оценка влияния носительства *CYP2D6*\*4 (1846G>A) на эффект пропранолола (критерий ответа – любое увеличение СЛСКВ по сравнению с исходным)

	Оценка	Ст. ош.	z	p
(Св. коэффициент)	0.810	0.600	1.349	0.177
<i>CYP2D6</i> *4 (1846G>A)	-0.053	0.677	-0.078	0.937

На втором этапе критерием положительного ответа являлось увеличение СЛСКВ на  $\geq 10\%$  – статистическая значимость не установлена. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6.

Оценка влияния носительства *CYP2D6*\*4 (1846G>A) на эффект пропранолола (критерий ответа – увеличение СЛСКВ на  $\geq 10\%$  по сравнению с исходным)

	Оценка	Ст. ош.	z	p
(Св. коэффициент)	-0.154	0.556	-0.277	0.781
<i>CYP2D6</i> *4 (1846G>A)	0.722	0.633	1.139	0.254

На 3 этапе за критерий положительного гемодинамического ответа мы принимали увеличение СЛСКВ на  $\geq 20\%$ . В этом случае регрессионный анализ выявил наличие статистически значимого влияния полиморфизма *CYP2D6* (1846G>A) на терапевтический эффект пропранолола (табл. 7).

Логистический регрессионный анализ показал, что генотип *CYP2D6* (1846G>A) оказался независимым прогнозирующим фактором положительного гемодинамического ответа (увеличение линейной скорости кровотока воротной вены) на терапию пропранололом у больных циррозом печени ( $p = 0,049$ ).

Таблица 7.

Оценка влияния носительства *CYP2D6*\*4 (1846G>A) на эффект пропранолола (критерий ответа – увеличение СЛСКВ на  $\geq 20\%$  по сравнению с исходным)

	Оценка	Ст. ош.	z	p
(Св. коэффициент)	-1.203	0.658	-1.828	0.067
<i>CYP2D6</i> *4 (1846G>A)	1.417	0.720	1.966	0.049

Результаты фармакогенетического исследования показали наиболее оптимальный ответ на терапию пропранололом у пациентов с гомозиготным генотипом G/G1846, чем у носителей гетерозиготного генотипа G/A1846.

В качестве алгоритма персонализации лечения пациентов с циррозом печени неселективными  $\beta$ -адреноблокаторами мы предлагаем подбирать дозу пропранолола в зависимости от генотипа по полиморфному маркеру *CYP2D6* ( $1846G>A$ ) с учетом определения динамики средней линейной скорости кровотока воротной вены. Для этого необходимо проводить измерение этого показателя с помощью ультразвуковой доплерографии до начала лечения  $\beta$ -адреноблокаторами и через 14 дней на фоне терапии. Критерием положительного гемодинамического ответа на пропранолол следует считать увеличение СЛСКВ на  $\geq 20\%$ . Пациентам с гомозиготным генотипом  $G/G1846$  целесообразно начинать терапию пропранололом в дозе 10 мг 3 раза в день. Носителям гетерозиготного генотипа  $G/A1846$  рекомендуется назначать дозу выше 30 мг в сутки. При наблюдении положительного гемодинамического эффекта по изменению СЛСКВ продолжить назначение пропранолола в прежней дозе, в противном случае увеличивать дозу индивидуально, учитывая показатели центральной гемодинамики (рис. 2).



**Рисунок 2.** Алгоритм персонализации лечения пациентов с циррозом печени неселективными  $\beta$ -адреноблокаторами (\*Пропранолол назначать в дозе, снижающей ЧСС в покое на 25% либо (при исходно низком пульсе) до 55 ударов в минуту)

## Заключение

Результаты исследования продемонстрировали, что в российской популяции у носителей гомозиготного генотипа *CYP2D6*  $G/G1846$  наблюдается более значимое увеличение средней линейной

скорости кровотока воротной вены на фоне терапии пропранололом в отличие от пациентов с гетерозиготным генотипом *G/A1846*.

Кроме того, проведено определение зависимости активности CYP2D6 от степени тяжести цирроза печени. Активность CYP2D6 оценивалась нами по метаболизму эндогенного вещества пинолин. Статистической значимости сравнения этой зависимости выявлено не было.

Однако, установлена зависимость положительного гемодинамического эффекта пропранолола от степени варикозного расширения вен пищевода. Наиболее высокий процент положительно отреагировавших на лечение больных показали пациенты с 3 степенью ВРВП. В то же время по результатам научной работы не было выявлено влияния пола пациентов, степени активности цирроза печени и его класса по Чайлд-Пью на гемодинамический эффект пропранолола.

Таким образом, результаты фармакогенетического исследования показали наиболее оптимальный ответ на терапию пропранололом у пациентов с гомозиготным генотипом *G/G1846* по сравнению с носителями гетерозиготного генотипа *G/A1846*. Для достижения положительного гемодинамического эффекта пациентам с гомозиготным генотипом *G/G1846* целесообразно начинать терапию пропранололом в дозе 10 мг 3 раза в день. Носителям гетерозиготного генотипа *G/A1846* назначать дозу выше 30 мг в сутки. Для контроля терапии требуется оценка динамики средней линейной скорости кровотока воротной вены.

Соблюдение предложенного алгоритма персонализации лечения пациентов с циррозом печени неселективными  $\beta$ -адреноблокаторами может быть актуальным для профилактики развития кровотечения из варикозно-расширенных вен пищевода, как одного из наиболее грозных осложнений портальной гипертензии.

## Выводы

1. Установлено, что несмотря на клинические рекомендации и наличие показаний к применению неселективных  $\beta$ -адреноблокаторов, назначение пропранолола пациентам с циррозом печени в клинической практике проводится корректно лишь в 8% случаев по результатам нашего исследования.

2. Убедительной достоверной зависимости активности *CYP2D6* от тяжести цирроза печени не выявлено.

3. Определена зависимость положительного гемодинамического эффекта пропранолола от степени варикозного расширения вен пищевода. Наиболее высокий процент положительно отреагировавших на лечение больных показали пациенты с 3 степенью варикозного расширения вен пищевода – 87,5% ( $p < 0,05$ ).

4. Установлено, что положительная динамика проявлений портальной гипертензии в виде увеличения СЛСКВ на 20% и более от исходного на фоне терапии пропранололом чаще наблюдается у носителей гомозиготного генотипа *CYP2D6 G/G1846* (89,7%), чем у пациентов с гетерозиготным генотипом *G/A1846* (10,3%) в российской популяции ( $p < 0,05$ ).

5. Разработан алгоритм персонализации лечения пациентов с циррозом печени неселективными  $\beta$ -адреноблокаторами с использованием метода генотипирования по *CYP2D6*: рекомендовано осуществлять подбор дозы пропранолола в зависимости от генотипа по полиморфному маркеру *CYP2D6 (1846G>A)* с учетом определения динамики средней линейной скорости кровотока воротной вены.

### **Практические рекомендации**

1. Внести в протокол ультразвукового исследования органов брюшной полости пациентов с циррозом печени обязательное доплерографическое измерение средней линейной скорости кровотока воротной вены, по динамике которой корректировать дозу пропранолола.

2. Перед назначением  $\beta$ -адреноблокаторов больным циррозом печени следует проводить фармакогенетическое исследование полиморфизма гена *CYP2D6 (1846G>A)* для персонализации терапии. Пациентам с гомозиготным генотипом *G/G1846* целесообразно начинать терапию пропранололом в дозе 10 мг 3 раза в день. Носителям гетерозиготного генотипа *G/A1846* – назначать дозу выше 30 мг в сутки.

3. Корректировать назначенную дозу пропранолола в зависимости от динамики средней линейной скорости кровотока воротной вены: при увеличении СЛСКВ на 20% и более от исходной следует продолжить назначение пропранолола в прежней дозе, в противном случае – увеличивать дозу, учитывая показатели

центральной гемодинамики (в дозе, снижающей ЧСС в покое на 25% либо (при исходно низком пульсе) до 55 ударов в минуту).

**Список работ автора, опубликованных по теме диссертации**

1. Парусов А.И. Синдром портальной гипертензии у больных циррозом печени – влияние полиморфизма генов цитохрома CYP2D6 на гемодинамический эффект пропранолола / А.И. Парусов, Д.А. Сычев, И.Д. Лоранская // VIII Конференция молодых ученых РМАНПО с международным участием «Горизонты медицинской науки». Материалы конференции. – 2017. – том 2. – С.89–90.
2. **Парусов А.И. Перспективы персонализации фармакотерапии портальной гипертензии у больных циррозом печени / А.И. Парусов, Д.А. Сычев, И.Д. Лоранская // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2018. – № 2(150). – С.142–148; 7/2,3; ИФ – 0,418.**
3. Парусов А.И. Применение неселективных β-адреноблокаторов при синдроме портальной гипертензии у больных циррозом печени / А.И. Парусов, Д.А. Сычев, И.Д. Лоранская // IX Конференция молодых ученых РМАНПО с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное». Материалы конференции. – 2018. – том 2. – С.95–97.
4. **Парусов А.И. Осложнения цирроза печени. Доказательное лечение / И.Д. Лоранская, Д.А. Сычев, А.И. Парусов // Эффективная фармакотерапия. Гастроэнтерология. – 2019. – № 2. – С. 70-76; 7/2,3; ИФ – 0,367.**
5. Парусов А.И. Влияние генетического полиморфизма CYP2D6 на фармакодинамику пропранолола у пациентов с портальной гипертензией печени / А.И. Парусов, Д.А. Сычев, И.Д. Лоранская // X Конференция молодых ученых РМАНПО с международным участием «Трансляционная медицина: возможное и реальное». Материалы конференции. – 2019. – том 1. – С.241–243.
6. Parusov A.I. Polymorphic marker CYP2D6\*4 and the response to propranolol in Russian patients with liver cirrhosis / A.I. Parusov, I.D. Loranskaya, K.A. Ryzhikova, O.L. Turkina, D.A. Sychev // European Journal of Clinical Pharmacology. 14th Congress of the European Association for Clinical Pharmacology and Therapeutics (EACPT). The Abstracts. – 2019. – №75(Suppl 1). – P. 31.

7. Парусов А.И. Фармакогенетический маркер эффективности пропранолола у российских пациентов с циррозом печени. Клиническая фармакология и терапия / А.И. Парусов, Д.А. Сычев, И.Д. Лоранская // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. Приложение № 54. Материалы Двадцать пятой Объединенной Российской Гастроэнтерологической Недели. – 2019. – № 5(29). – С.54.

8. Парусов А.И. Влияние носительства полиморфного маркера G1846A гена CYP2D6 на гемодинамический эффект пропранолола у больных циррозом печени / А.И. Парусов, И.Д. Лоранская, К.А. Акмалова, Ж.А. Созаева, О.Л. Туркина, М.С. Застрожин, Д.А. Сычев // Клиническая фармакология и терапия. – 2020. – № 4. – С.39–43; 5/0,7; ИФ – 0,537.

### Список сокращений

ВРВ –	варикозное расширение вен
ВРВП –	варикозно-расширенные вены пищевода
ДАД –	диастолическое артериальное давление
МНО –	международное нормализованное отношение
НАЖБП –	неалкогольная жировая болезнь печени
ПГ –	портальная гипертензия
ПЦР –	полимеразная цепная реакция
САД –	систолическое артериальное давление
СЛСКВ –	средняя линейная скорость кровотока воротной вены
ЦП –	цирроз печени
ЭГДС –	эзофагогастродуоденоскопия
β-АБ –	β-адреноблокаторы
CYP2D6*4 –	4 аллельный вариант генотипа цитохрома 2D6
Real-time PCR –	полимеразная цепная реакция в режиме реального времени