

На правах рукописи

ТЕМИРБУЛАТОВ Ильяс Ильдарович

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ПРОФИЛЕЙ
БЕЗОПАСНОСТИ ЭТИОТРОПНОЙ ФАРМАКОТЕРАПИИ
ГОСПИТАЛИЗИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С COVID-19 НА ОСНОВЕ
РЕЗУЛЬТАТОВ ФАРМАКОГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ**

3.3.6 Фармакология, клиническая фармакология (медицинские науки)

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Москва - 2024

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

Научный руководитель:

Сычев Дмитрий Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН

Научный консультант:

Вечорко Валерий Иванович, доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Зырянов Сергей Кенсаринович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей и клинической фармакологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы»
Лазарева Наталья Борисовна, доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)

Ведущая организация:

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «11» декабря 2024 г. в 16:00 на заседании диссертационного совета 21.3.054.05 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 125993, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России по адресу: 125445, г. Москва, ул. Беломорская, д. 19/38 и на сайте <https://www.rmapo.ru>. Автореферат разослан « » _____ 2024 г.

Учёный секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Меньшикова Лариса Ивановна

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Вирус SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 - коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2 типа) вызывает развитие вирусного заболевания, названного coronavirus disease 2019 (COVID-19) (A. E. Gorbatenko et al., 2020). Новое заболевание стало одной из основных причин смертности во всем мире и привело к огромным экономическим и социальным потрясениям [А.С. Колбин и др., 2020; S. H. Hodgson et al. 2021]. По подсчетам ВОЗ к концу 2023 года во всем мире было зафиксировано более 772 миллионов случаев COVID-19, от которых погибло почти 7 миллионов человек. На Российскую Федерацию пришлось более 23 миллионов случаев заболевания и 400 тысяч смертей.

В начале пандемии для терапии COVID-19 активно изучались и применялись уже известные лекарственные препараты. Единственными противовирусными препаратами, которые использовались в Российской Федерации в начале пандемии и продолжают использоваться до настоящего времени, являются ремдесивир и фавипиравир.

Ремдесивир является пролекарством аналога аденоцина. Активный метаболит связывается с вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразой, что приводит к нарушению репликации вируса [Humeniuk et al., 2021]. В октябре 2020 года по результатам трех клинических исследований FDA регистрирует ремдесивир как первый противовирусный препарат для лечения COVID-19 (Rubin et al. 2020). В этом же месяце ремдесивир регистрируется Министерством Здравоохранения Российской Федерации.

Фавипиравир - пролекарство, активный метаболит которого блокирует РНК- зависимую РНК полимеразу вирусов [K. Shiraki et al., 2020]. Фавипиравир был зарегистрирован в Российской Федерации в конце мая 2020. Согласно 18 версии ВМР препарат остается одной из терапевтических опций при лечении госпитализированных пациентов с COVID-19 всех степеней тяжести.

Одной из основных причин смертности при COVID-19 могут быть нежелательные лекарственные реакции (НЛР) на препараты, применяемые для

лечения [Biswas et al. 2022]. Наиболее распространенными нежелательными явлениями при терапии фавипиравиром и ремдесивиром являются различные проявления повреждения печени [A.B. Матвеев и др., 2022; С.А. Мишинова и др., 2023; H. Takahashi et al., 2020; H. K. Elsawah et al., 2021; E. Mishima et al., 2020; F. Montastruc et al., 2020].

Ремдесивир на 80% метаболизируется карбоксистеразами (CES 1 и 2), а также Cathepsin A (10 %) и CYP3A (10 %), отмечается некоторая роль CYP2C8 и CYP2D6. Ремдесивир также является субстратом транспортеров OATP1B1 и P-гликопротеина [S. Deb et al., 2021].

Фавипиравир, подвергается фосфорилированию и рибозилированию и образует активный метаболит рибофуранозил-5'-трифосфат фавипиравира (T-705-RTP)]. В последующем препарат метаболизируется в большей степени альдегид оксидазой и частично ксантилоксидазой до неактивного окисленного метаболита T-705M1, который выводится почками (Du and Chen 2020; Shiraki and Daikoku 2020b). [Y. X. Du et al., 2020; K. Shiraki et al., 2020].

Нерешенной остается проблема выбора конкретного противовирусного препарата с точки зрения лекарственной безопасности. Одним из путей решения может быть персонализация терапии на основе фармакогенетического тестирования.

Степень разработанности проблемы

Известно, что варианты генов, кодирующих ферменты, метаболизирующие лекарственные средства, могут влиять на эффективность и безопасность терапии [D. M. Roden et al., 2019]. Ранее не проводилось клинических исследований оценивающий влияние носительства различных генов на безопасность терапии фавипиравиром и ремдесивиром. Однако, варианты генов, кодирующих ферменты метаболизма ремдесивира и фавипиравира, могли влиять на метаболизм других препаратов-субстратов [И.И. Темирбулатов и др., 2021]

Так, варианты гена альдегид оксидазы (*AOX1*) влияли на исходы при терапии азатиоприном [M. A. Smith et al., 2009] и на дозу аллопуринола при лечении подагры [C. Beedham, 2020]. Также, совместный прием фавипиравира с

ингибиторами альдегидоксидазы может увеличить риск побочных явлений [S. Joshi et al., 2021], что может указывать на потенциальную роль активности этого фермента в прогнозировании лекарственной безопасности.

Полиморфизмы *CES1* влияли на метаболизм клопидогрела [К.Б. Мирзаев и др., 2018; Н. J. Zhu et al., 2013] и дабигатрана [Ш.П. Абдуллаев и др., 2020; J. Shi et al., 2016]. Варианты гена *CES1* также ассоциируются с повышением уровня активного метаболита клопидогрела и лучшим терапевтическим ответом [J. P. Lewis et al. 2013]. Генетически варианты *CYP3A4* ассоциировались с изменением фармакокинетики тациримуса [M. Uesugi et al., 2013].

Отмечалось, что у носителей полиморфизма G143E *CES1* может наблюдаться значительное снижение внутреннего клиренса ремдесивира по сравнению с неносителями. Показано, что внутренний клиренс ремдесивира потенциально может быть снижен до 14% у неносителей. По оценкам, общий клиренс ремдесивира снижается до 22% у неносителей, а площадь под кривой увеличивается в 4,6 раза по сравнению с неносителями [Q. Zhang et al., 2022]. Единственным опубликованным исследованием влияния фармакогенетических факторов на безопасность терапии ремдесивиром был ретроспективный анализ 1697 пациентов с COVID-19. Выявленно, что в одной из этнических подгрупп, которые были промежуточными/медленными метаболизаторами *CYP2C19* пиковые значения АЛТ были выше на 9% по сравнению с нормальными/быстрыми/сверхбыстрыми метаболизаторами по данному гену. Не было выявлено ассоциаций с другими фармакогенетическими маркерами [S. Tuteja et al., 2022].

Одной из возможных причин вариабельности клинического эффекта ремдесивира и фавипиравира могут быть фармакогенетические особенности, не учитывавшиеся в ранее проведенных исследованиях.

Цель исследования

Разработать подход к прогнозированию безопасности этиотропной фармакотерапии госпитализированных пациентов с COVID-19 на основе результатов фармакогенетического тестирования.

Задачи исследования

1. Осуществить методом компьютерного моделирования поиск ферментов, полиморфизмы генов которых могут влиять на метаболизм препаратов ремдесивир и фавипиравир.
2. Изучить ассоциации между носительством полиморфизмов генов *CES1* (rs2244613, rs2244614, rs8192950, rs8192935, rs2307240), *CES2* (rs11075646), *CYP3A4*22* (rs35599367), *CYP3A5*2* (rs776746) и безопасностью терапии у госпитализированных пациентов с COVID-19, получавших ремдесивир.
3. Изучить ассоциации между носительством полиморфизмов генов *AOX1* (rs55754655, rs10931910) и *CYP1A2* (rs762551) и безопасностью терапии у госпитализированных пациентов с COVID-19, получавших фавипиравир.
4. Разработать прогностическую модель оценки безопасности этиотропной фармакотерапии COVID-19 у госпитализированных пациентов с учетом результатов фармакогенетического тестирования.

Научная новизна

Впервые проведено компьютерное моделирование для выявления изоферментов цитохрома Р450, метаболизирующих ремдесивир и фавипиравир. Установлены изоферменты, наиболее вероятно метаболизирующие данные препарат.

Впервые оценена взаимосвязь между носительством полиморфизмов генов *CES1* (rs2244613, rs2244614, rs8192950, rs8192935, rs2307240), *CES2* (rs11075646), *CYP3A4*22* (rs35599367), *CYP3A5*2* (rs776746) и безопасностью терапии у госпитализированных пациентов с COVID-19, получавших ремдесивир.

Впервые оценена взаимосвязь между носительством полиморфизмов генов *AOX1* (rs55754655, rs10931910) и *CYP1A2* (rs762551) и безопасностью терапии у госпитализированных пациентов с COVID-19, получавших фавипиравир.

Разработана прогностическая модель оценки гепатотоксичности ремдесивира у госпитализированных пациентов с COVID-19 на основе результатов фармакогенетического тестирования.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате проведенного исследования расширены представления о вкладе фармакогенетических факторов в прогнозирование безопасности этиотропной терапии COVID-19 у госпитализированных пациентов.

Установлена взаимосвязь между носительством полиморфизмов гена *CES1* и *CYP3A5*3* и гепатотоксичностью при терапии ремдесивиром.

Полученные результаты позволили впервые разработать персонализированный подход к назначению этиотропной терапии COVID-19 на основе результатов фармакогенетического тестирования, что может быть использовано в клинической практике.

Методология и методы исследования

Методологическая база исследования представляет собой комплексное использование методов моделирования (компьютерные моделирование в программе PASS 2022), а также клинических (определение ЧСС, коморбидности, сопутствующей терапии), лабораторных (определение уровней АЛТ, АСТ, интерлейкина, ферритина, D-димера, лейкоцитов, лимфоцитов, креатинина, глюкозы), фармакогенетических (выявление полиморфизмов генов-кандидатов методом ПЦР в реальном времени) и статистических (критерии Колмогорова-Смирнова, Шapiro-Уилка, U Манна-Уитни, Хи-квадрат, Уилкоксона, бинарная логистическая регрессия) методов исследования .

Диссертационная работа выполнена в соответствии с Хельсинской декларацией Всемирной медицинской ассоциации, "Этическими принципами" проведения научных медицинских исследований с участием человека" с поправками 2013 г. и "Правилами клинической практики в Российской Федерации", утвержденными приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266. Проведение работы одобрено Комитетом по этике научных исследований ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (Протокол №15 от 16.11.21 г.). Тема

диссертации утверждена на заседании Ученого совета терапевтического факультета (Протокол №2 от 10.02.22 г.).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Носительство гомозиготных полиморфных вариантов rs2244614, rs8192950, rs8192935 гена *CES1* и генотипа GA полиморфизма *CYP3A5*3* (rs776746) ассоциировано с гепатотоксичностью при терапии ремдесивиром у госпитализированных пациентов с COVID-19;
2. Отсутствовали ассоциации между носительством различных генотипов по полиморфным вариантам генов *CES1* (rs2307240), *CES2* (rs11075646) *CYP3A4*22* (rs35599367) и безопасностью терапии пациентов, получавших ремдесивир. Также отсутствовали ассоциации между носительством различных генотипов по полиморфным вариантам генов *AOX1* (rs55754655, rs10931910) и *CYP1A2* (rs762551) и безопасностью терапии пациентов, получавших фавипиравир;
3. Наличие ожирения, применение препаратов из групп ингибиторов янускиназ и блокаторов рецептора интерлейкина-6 ассоциированы с гепатотоксичностью у пациентов с COVID-19, получавших ремдесивир;
4. Пациенты, у которых после терапии ремдесивиром отмечались проявления гепатотоксичности, до начала лечения имеют более высокие значения ферритина и D-димера;

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология: п. 1 – выявление патогенетически обоснованных фармакологических мишенией; п. 9 – изучение взаимодействия лекарственных средств, разработка наиболее рациональных комбинаций при проведении современной фармакотерапии; п. 10 – проведение фармакогенетических исследований; п. 16 – изучение научных подходов к совершенствованию системы фармаконадзора. Мониторинг безопасности лекарственных средств, изучение нежелательных реакций лекарственных средств, разработка методов их профилактики и коррекции; п. 18 – фармакоэпидемиологические (ретроспективные и проспективные)

исследования, включая изучение структуры назначения лекарственных средств при профилактике и лечении различных заболеваний; п. 20 – разработка и оптимизация методов фармакотерапии и профилактики заболеваний у различных групп пациентов с учетом индивидуальных особенностей, включая исследование приверженности фармакотерапии (комплаентности).

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов исследования достигнуты и обусловлены достаточным количеством больных, включенных в исследование (137 в группе ремдесивира и 87 в группе фавипиравира) и полнотой собранных и проанализированных данных. Набор пациентов в исследование осуществлялся на базе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница №15 имени О.М. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы». Фармакогенетическое тестирование проводилось на базе НИИ молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России методом ПЦР в реальном времени.

Кроме фармакогенетических маркеров, оценивались также дополнительные факторы, способные вызывать нежелательные реакции: другие препараты, получаемые пациентами (глюкокортикоиды, ингибиторы янускиназ, ингибиторы рецепторов интерлейкина-6, антикоагулянты, антибактериальные препараты и статины), сопутствующая коморбидность (наличие сердечно-сосудистых заболеваний, диабета, ожирения, ХОБЛ/БА, ХБП и активного рака).

Степень достоверности полученных результатов также подтверждается использованием современной методики обработки информации, с использованием программы IBM SPSS Statistics Base 22.0 (США) и StatTech v. 4.2.7 (Россия). Обработка полученных данных проводилась с применением обоснованных и адекватных поставленным задачам статистических методов. Используемые методы научного анализа отвечают поставленным цели и задачам диссертационного исследования.

Тема диссертации была утверждена на заседании Ученого совета терапевтического факультета (протокол №2 от 10.02.22 г.). Первичная документация по диссертации проверена комиссией ГБУЗ «ГКБ № 15 им. О.М. Филатова ДЗМ» и подтверждается актом проверки первичной документации от 15 апреля 2024 г. Апробация диссертации состоялась 5 июля 2024 года на заседании кафедры клинической фармакологии и терапии имени Б.Е. Вотчала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России (протокол № 9 от 5 июля 2024г.).

Результаты работы были доложены на конференции «Молекулярная диагностика» (Москва, 2023), «Второй всероссийский междисциплинарный конгресс по непрерывному профессиональному образованию работников здравоохранения» (Москва, 2023), «Поколение вне возраста» (Москва, 2024), 16-ом Конгрессе Европейской Ассоциации клинических фармакологов и терапевтов (Роттердам, 2024).

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 6 печатных работ, отражающих основные результаты в том числе: 1 публикация в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК и включенных в международную базу SCOPUS; 3 публикации в рецензируемых научных изданиях, включенных в международную базу SCOPUS.

Внедрение результатов в практику

Новые научные данные, о прогнозировании безопасности этиотропной терапии COVID-19 внедрены в качестве рекомендаций для практикующих врачей в работу отделений ГБУЗ «Госпиталь для ветеранов войн № 2 Департамента здравоохранения Москвы» (Акт внедрения в практику от 01.07.2024 г), а также в учебный процесс на кафедре клинической фармакологии и терапии им. академика Б. Е. Вотчала ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Акт внедрения в учебный процесс от 24.06.2024 г.).

Личный вклад автора

Личный вклад автора является определяющим и заключается в его непосредственном участии во всех этапах проведения исследования и анализе его результатов. Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления диссертационного исследования, в формулировании проблемы и обосновании степени ее разработанности. Планирование работы, разработка дизайна, поиск и анализ литературы по теме исследования, включение в исследование пациентов, соответствующих критериям, взятие образцов биологического материала, проведение генетического тестирования при помощи полимеразной цепной реакции в реальном времени, разработка и заполнение цифровых баз данных, статистическая обработка, консультирование в процессе анализа данных методами машинного обучения, анализ и обобщение полученных результатов, написание статей и диссертации выполнены лично автором.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 153 страницах машинописного текста и состоит из введения, литературного обзора, материалов и методов исследования, результатов собственного исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, 3 приложений. Работа иллюстрирована 16 рисунками, 107 таблицами (в т.ч. 81 таблица в приложениях). Список литературы включает 139 источников, в т.ч. 18 отечественных и 121 иностранный источник.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Общая информация об исследовании

Для достижения поставленных цели и задач исследования, оно выполнялось в два этапа. Первый этап: отбор генов кандидатов, в том числе методом компьютерного моделирования. Второй этап: Клиническое ретроспективное исследование безопасности этиотропной терапии COVID-19 в зависимости от носительства различных полиморфизмов генов-кандидатов.

Методология проведения компьютерного моделирования биотрансформации ксенобиотиков

Этот этап исследования был проведен в Лаборатории структурно-функционального конструирования лекарств под руководством профессора Поройкова В.В. в ФГБНУ "НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича" РАН. Компьютерное моделирование *in silico* проводилось с помощью программы Prediction of Activity Spectra of Substances – PASS (Rudik et al. 2014). Программа позволяет смоделировать родство субстрата с ферментом системы CYP на основе обучающей выборки из сотен субстратов с известным путем биотрансформации. Для проведения анализа в программе PASS требуется химическая формула лекарственного средства, которую в системе представляют как MNA-дескриптор (Multilevel Neighborhoods of Atoms). Затем исследуемое вещество сопоставляется с базой знаний и данных связей «структурно-активность» веществ с известной биологической активности. Средняя точность прогнозирования спектра биологической активности в системе PASS - 85% [A. V Rudik et al. 2014].

Дизайн клинического исследования ассоциации генетических полиморфизмов и безопасности противовирусной терапии COVID-19

Набор пациентов в клиническую часть исследования проводился на базе Государственного бюджетного учреждения здравоохранения города Москвы «Городская клиническая больница №15 имени О.М. Филатова Департамента здравоохранения города Москвы».

Критериями включения были подтвержденный диагноз коронавирусной инфекции (U07.1; U07.2 по МКБ) и назначение ремдесивира или фавипиравира в качестве этиотропной терапии. Критериями исключения были противопоказания к назначению препаратов согласно официальной инструкции. Для ремдесивира такими критериями были: клиренс креатинина менее 30 мл/мин/1,73 м², беременность, грудное вскармливание, повышение уровня аланинаминотрансферазы (АЛТ) выше пяти верхних границ нормы и тяжелая печеночная недостаточность (класс С по Чайлд-Пью). Для фавипиравира - гиперчувствительность к любому компоненту препарата, тяжелая печеночная

недостаточность (класс С по Чайлд-Пью), почечная недостаточность тяжелой и терминальной степени тяжести (расчетная скорость клубочковой фильтрации меньше 30мл/мин/1,73м²), беременность или планирование беременности, период грудного вскармливания.

В исследование были включены 137 пациентов, получавших ремдесивир и 87 пациентов, получавших фавипиравир. Ремдесивир использовался в стандартной дозировке: 200 мг в/в в первые сутки, затем 100 мг раз в сутки в течение 5–10 дней. Режим дозирования фавипиравира подбирался в зависимости от массы пациента, согласно инструкции к лекарственному препарату: для пациентов с массой тела менее 75 кг по 1600 мг два раза в день в первые сутки, далее 600 мг 2 раза в день. Для пациентов с массой тела более 75 кг по 1800 мг два раза в день в первые сутки, далее 800 мг 2 раза в сутки.

В результате ретроспективного анализа историй болезни отмечалась частота брадикардий (которые определялись как снижение ЧСС менее 60 ударов в минуту). Также оценивались различные лабораторные параметры (уровни АЛТ, АСТ, интерлейкина, ферритина, D-димера, лейкоцитов и лимфоцитов), а также ЧСС. Данные параметры оценивались дважды: до начала и после окончания курса терапии. Для АЛТ, АСТ и ЧСС дополнительно рассчитывались дельты показателей до и после терапии, выраженные в абсолютных и процентных значениях. Для АЛТ и АСТ определялась частота повышения уровня ферментов в 2 и 3 раза выше уровня нормы. Также отмечались сопутствующие заболевания (сердечно-сосудистых заболеваний, наличие диабета, ожирения, ХОБЛ/БА, ХБП и активного рака) и другие препараты, используемые для лечения (глюокортикоиды, ингибиторы янус-киназ, ингибиторы рецепторов интерлейкина-6, антикоагулянты, антибактериальные препараты и статины).

Вначале исследуемые параметры сравнивались между носителями полиморфной аллели и гетеро- и гомозиготном состоянии с «дикими» гомозиготами (например, для *CES1* rs2244614 (G>A): GG vs GA+AA). Затем сравнивались гомозиготные носители полиморфного аллеля с носителями аллеля «дикого» типа (для *CES1* rs2244614 (G>A): AA vs GA+GG).

Методология проведения фармакогенетического тестирования

Фармакогенетическое тестирование проводилось в НИИ молекулярной и персонализированной медицины Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования. Цельную кровь собирали из локтевой вены в вакутейнеры с ЭДТА-К (GreinerBio-One, 2 Австрия). Геномную ДНК выделяли из цельной крови с помощью набора для экстракции S-Sorb (Синтол, Россия) согласно инструкции производителя. Контроль количества и качества выделенной ДНК осуществляли с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, NY, США). Носительство изученных генетических вариантов определялось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на приборе CFX96 Touch Real Time System с ПО CFX Manager версии 3.0 (BioRad, США).

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка данных проводилась в программном пакете SPSS Statistics 22.0 (IBM, USA) и программе StatTech v. 4.0.2 (ООО "Статтех", Россия).

Количественные показатели оценивались на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Ме) и нижнего и верхнего квартилей (Q1 – Q3). Категориальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна-Уитни. Сравнение процентных долей при анализе четырехпольных таблиц сопряженности выполнялось с помощью критерия хи-квадрат Пирсона (при значениях ожидаемого явления более 10), точного критерия Фишера (при значениях ожидаемого явления менее 10). В качестве количественной меры эффекта при сравнении относительных показателей нами использовался показатель отношения шансов с 95% доверительным интервалом (ОШ; 95%

ДИ). При сравнении количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, в двух связанных группах (до и после терапии), использовался критерий Уилкоксона.

Построение прогностической модели вероятности определенного исхода выполнялось при помощи метода логистической регрессии. Отбор независимых переменных производился методом пошагового исключения с использованием статистики Вальда. Мерой определенности, указывающей на ту часть дисперсии, которая может быть объяснена с помощью логистической регрессии, служил коэффициент R^2 Найджелкерка. Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода, применялся метод анализа ROC-кривых. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определялось по наивысшему значению индекса Юдена.

Результаты считали статистически значимыми при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Компьютерное моделирование при помощи программы PASS

Для прогноза профилей биологической активности ремдесивира и фавипиравира была использована компьютерная программа PASS 2022, которая по структурной формуле лекарственно-подобного органического соединения предсказывает профиль его биологической активности с применением оригинального алгоритма анализа взаимосвязей «структура-активность». Была использована специализированная обучающая выборка, ранее использовавшаяся для поиска ферментов метаболизма бромдигидрохлорфенилбензодиазепина [Д.В. Иващенко, 2017], с использованием которой можно предсказывать принадлежность молекул к одному из 3 классов активности (ингибитор, индуктор, субстрат) одного из 10 ферментов (CYP1A1; CYP1A2; CYP2A6; CYP2B6; CYP2C19; CYP2C8; CYP2C9; CYP2D6; CYP2E1; CYP3A4).

Выходная информация с результатами прогноза в программе PASS 2022 содержит наименования вероятных видов активности (субстрат, ингибитор, индюсер) и оценки двух вероятностей: Pa - вероятность наличия активности и Pi

- вероятность отсутствия активности. Представлены только результаты, для которых $Pa > Pi$.

Для ремдесивиа:

$Pa (0,592) Pi (0,180)$ CYP2C9 индюсер

$Pa (0,526) Pi (0,160)$ CYP3A4 индюсер

$Pa (0,543) Pi (0,275)$ CYP2C8 индюсер

$Pa (0,363) Pi (0,259)$ CYP3A4 субстрат

$Pa (0,401) Pi (0,395)$ CYP1A2 индюсер

Для фавипиравира:

$Pa (0,614) Pi (0,126)$ CYP2C19 индюсер

$Pa (0,533) Pi (0,111)$ CYP2E1 индюсер

$Pa (0,508) Pi (0,292)$ CYP2C9 индюсер

$Pa (0,447) Pi (0,247)$ CYP1A2 субстрат

$Pa (0,442) Pi (0,251)$ CYP2A6 ингибитор

$Pa (0,416) Pi (0,348)$ CYP2E1 ингибитор

$Pa (0,430) Pi (0,389)$ CYP2C8 индюсер

В результате компьютерного моделирования установлено, что ремдесивир наиболее вероятно является субстратом фермента CYP3A4, а фавипиравир - CYP1A2.

Результаты клинического ретроспективного фармакогенетического исследования безопасности фармакотерапии у госпитализированных пациентов

В исследование ремдесивира были включены 137 пациентов, соответствующих критериям включения. 53 (38,7%) были мужчинами. Средний возраст составлял 71 (63 – 83) год.

Отмечалось, что пациенты данной выборки имели достоверное увеличение уровня АЛТ, интерлейкина-6, ферритина, D-димера и снижение ЧСС после комплексной терапии COVID-19.

Ассоциации *CES1* (rs2244614) с безопасностью терапии ремдесивиром

При сопоставлении абсолютных значений дельт АЛТ в зависимости от *CES1* rs2244614 (AA vs GA+GG), были выявлены статистически значимые

различия. В группе генотипа AA дельта АЛТ составляла 18 (9-45) против 13 (3-27) в группе генотипов GA+ GG ($p = 0,043$).

Шансы увеличения АСТ в 3 раза от нормы в группе с генотипом AA были выше в 5,427 раза, по сравнению с группой GA+GG ($p=0,042$, 95% ДИ: 1,010 – 29,148).

Ассоциации *CES1* (rs8192950) с безопасностью терапии ремдесивиром

Шансы увеличения АСТ в 3 раза от нормы в группе GG были выше в 10,957 раза, по сравнению с группой TG+TT, различия шансов были статистически значимыми ($p=0,012$, 95% ДИ: 1,280 – 93,808).

Ассоциации *CES1* (rs8192935) с безопасностью терапии ремдесивиром

При сравнении количественных показателей между носителями генотипа GG и AG+AA были выявлены статистически достоверные отличия только в дельте ЧСС. Разница между значениями ЧСС до и после терапии ремдесивиром была больше у носителей генотипа GG - 26 (18-33) против 22 (15-28) у носителей аллели A ($p=0,037$).

Шансы увеличения АСТ в 3 раза от нормы в группе GG были выше в 9,918 раза, по сравнению с группой AG+AA ($p=0,017$, 95% ДИ: 1,159 – 84,852). Шансы увеличения АСТ в 2 раза от нормы в группе GG также были выше в 2,511 раза, при пороговых значениях статистической значимости ($p=0,048$). Ожирение встречалось чаще у носителей варианта GG гена *CES1* rs8192935 ($p=0,046$).

Ассоциации *CES1* (rs2307240) с безопасностью терапии ремдесивиром

При сравнении количественных показателей, было выявлено, что дельта АЛТ, выраженная в процентах, была статистически значимо больше у носителей генотипа CC ($p=0,049$). Ожирение встречалось чаще у носителей варианта CC гена *CES1* rs2307240 ($p=0,020$).

Ассоциации *CYP3A5*3* (rs776746) с безопасностью терапии ремдесивиром

При сравнении количественных показателей, было установлено, что носители гетерозиготного генотипа GA имели более высокие значения АЛТ, а также дельты между значениями АЛТ до и после терапии ремдесивиром, выраженные в абсолютных и процентных значениях. Уровни АСТ после

терапии были также выше у носителей GA. Однако, у носителей генотипа GA, АСТ был повышен также и до терапии.

При оценке шансов на кратное повышение печеночных ферментов после терапии также были найдены статистические значимые отличия. Носительство генотипа GA ассоциировалось с увеличением АЛТ и АСТ в 2 и 3 раза от нормы после терапии ремдесивиром. Шансы увеличения АЛТ в 2 раза от нормы в группе GA были выше в 2,656 раза, по сравнению с группой GG ($p=0,042$, 95% ДИ: 1,011 – 6,980). Шансы увеличения АЛТ в 3 раза от нормы в группе GA были выше в 4,000 раза, ($p=0,018$, 95% ДИ: 1,182 – 13,540). Также среди носителей генотипа GA были повышенны шансы на увеличение АСТ в 2 раза ($p<0,001$, ОШ 6,545; 95% ДИ: 2,284 – 18,758) и 3 раза ($p=0,009$, ОШ 9,500; 95% ДИ: 1,946 – 46,389).

Уровень интерлейкина-6 до терапии ремдесивиром был выше у носителей генотипа GG *CYP3A5*3 rs776746* (58 (30-162) против 27 (16-79) у носителей GA. Не было выявлено других отличий в структуре коморбидности, сопутствующей терапии и лабораторными параметрами между носителями генотипа GA и GG *CYP3A5*3*.

Не было выявлено ассоциаций носительства полиморфизмов генов *CES1(rs2244613)*, *CES2 (rs11075646)*, *CYP3A4*22 (rs35599367)* с риском гепатотоксичности и другими изучаемыми параметрами у пациентов, получавших ремдесивир.

Анализ ассоциации негенетических параметров и гепатотоксичности у пациентов, получавших терапию ремдесивиром

Также был проведен анализ ассоциаций негенетических факторов с увеличением АЛТ и АСТ в 2 и 3 раза. Негенетические факторы включали в себя сопутствующую терапию, структуру коморбидности, а также лабораторные параметры пациентов.

Шансы на увеличение АЛТ в 2 раза были выше у пациентов, получавших ингибиторы янус-киназ ($p=0,022$. ОШ 5,00 (95% ДИ: 1,108 – 22,554)) и ингибиторы интерлейкина-6 ($p=0,018$. ОШ 8,304 (95% ДИ: 1,063 – 64,840)). Также наличие ожирения увеличивало шансы на повышение АЛТ в 2 раза от

нормы ($p=0,005$. ОШ 2,897 (95% ДИ: 1,367 – 6,137). Кроме этого, у пациентов с увеличением АЛТ 2 раза от нормы были выше значения ферритина до терапии ремдесивиром (736 (565-767) против 498 (336-735) $p=0,005$). Значения ферритина после терапии также оставались достоверно выше у пациентов с элевацией АЛТ.

Шансы увеличения АЛТ в 3 раза от нормы были выше у мужчин ($p = 0,046$. ОШ 3,232 (95% ДИ: 1,020 – 10,245)). Медианные значения лейкоцитов до терапии ремдесивиром были достоверно выше у пациентов с повышением АЛТ в 3 раза (9,4 (7,75 – 11,82) против 6,40 (4,90 – 9,20). Не было найдено ассоциаций увеличения АЛТ в 3 раза с сопутствующими заболеваниями.

Уровень лейкоцитов до терапии ремдесивиром были достоверно выше у пациентов с повышением АСТ в 2 раза (8,75 (7,00 – 11,00) vs 6,40 (4,80 – 9,20)). Уровень D-димера до терапии был выше у пациентов с повышением АСТ в 2 раза от нормы, хотя разница и не достигла уровня статистической значимости ($p=0,072$). Также уровень D-димера оставался достоверно выше и после терапии ремдесивиром у пациентов с подъёмом АСТ в 2 раза ($p=0,013$). Не было найдено ассоциаций увеличения АСТ в 2 раза с сопутствующей терапией и коморбидностью.

У пациентов с подъемом АСТ в 3 раза уровень D-димера до терапии ремдесивиром был выше ($p=0,011$. 2399 (1569 – 5075) против 1153 (628 – 1720). Не было найдено ассоциаций подъема АСТ в 2 раза с сопутствующей терапией и коморбидностью пациентов, получавших ремдесивир.

Анализ ассоциаций фармакогенетических маркеров фавипиравира

В исследование фавипиравира были включены 86 пациентов, получавших фавипиравир в качестве этиотропной терапии COVID-19. 35 (40,7%) были мужчинами. Средний возраст составлял 70 (59 – 78) лет. Отмечается достоверное увеличение уровня АЛТ, АСТ, ферритина, D-димера и снижение ЧСС после применения фавипиравира.

При сравнении носителей генотипа GG и AG+AA, выявлено, что дельты АСТ, выраженные в абсолютных и процентных значениях, были выше у

носителей генотипа GG гена *AOX1* (rs10931910) ($p=0,017$ и $p=0,014$, соответственно).

Носители генотипа GG имели более высокие значения дельты АСТ, выраженные в абсолютных и процентных значениях, а также чаще страдали сахарным диабетом.

При сравнении уровней ферритина между носителями различных генотипов *AOX1* (rs55754655) было показано, что пациенты с генотипом AA имели достоверно более высокий уровень ферритина до терапии фавипиравиром ($p=0,026$). Это разница сохранялась и после терапии с тенденцией к достоверности ($p=0,058$).

Не было выявлено ассоциаций различных полиморфизмов гена *CYP1A2*F1* с изучаемыми параметрами.

Не было выявлено ассоциаций носительства изученных полиморфизмов с повышением печеночных ферментов в 2-3 раза выше нормы после терапии фавипиравиром.

Прогностическая модель определения риска развития гепатотоксичности у пациентов, принимавших ремдесивир

На основании результатов многофакторного анализа при разработке прогностической модели для определения вероятности гепатотоксичности методом бинарной логистической регрессии (пошаговое исключение), статистически значимыми остались 2 фактора – генотип GG полиморфизма rs8192935 гена *CES1* и генотип GA полиморфизма *CYP3A5*3*. Число наблюдений составило 137. Наблюданная зависимость описывается уравнением:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}) \times 100\%$$

$$z = -5,515 + 2,704XGG + 2,683XGA$$

где P – вероятность увеличения АСТ в 3 раза от нормы, XGG – *CES1* rs8192935 (A>G) (GG vs AG+AA) (0 – AG+AA, 1 – GG), XGA – *CYP3A5*3* rs776746 (A>G) (0 – GG, 1 – GA)

Полученная регрессионная модель является статистически значимой ($p < 0,001$). Исходя из значения коэффициента детерминации Найджелкерка, модель объясняет 32,2% наблюданной дисперсии увеличения АСТ в 3 раза от нормы.

Шансы увеличения АСТ в 3 раза от нормы (независимо от других факторов) увеличивались при носительстве генотипа GG полиморфизма rs8192935 гена *CES1* в 14,938 раз. При наличии генотипа GA по *CYP3A5*3* - в 14,632 раза.

ВЫВОДЫ

1. По данным компьютерного моделирования в программе PASS, наиболее вероятным изоферментом, метаболизирующим ремдесивир, является *CYP3A4* ($Pa = 0,363$; $Pi = 0,259$). Фавипиравир наиболее вероятно метаболизируется *CYP1A2* ($Pa = 0,447$; $Pi = 0,247$).

2. У пациентов с COVID-19, принимавших ремдесивир в качестве этиотропной терапии, увеличение АСТ в 3 раза выше уровня нормы ассоциировалось с носительством генотипа AA по полиморфизму rs2244614 ($p=0,042$; ОШ 5,427; 95% ДИ: 1,010 – 29,148), генотипа GG по полиморфизму rs8192950 ($p=0,012$; ОШ 10,957; 95% ДИ: 1,280 – 93,808) и генотипа GG по полиморфизму rs8192935 ($p=0,017$; ОШ в 9,918; 95% ДИ: 1,159 – 84,852) гена *CES1*.

3. У пациентов с COVID-19, принимавших ремдесивир в качестве этиотропной терапии, носительство генотипа GA по полиморфизму *CYP3A5*3* (rs776746) ассоциировано с увеличением АЛТ в 2 раза выше уровня нормы ($p=0,042$; ОШ 2,656; 95% ДИ: 1,011 – 6,980), АЛТ в 3 раза выше уровня нормы ($p=0,018$; ОШ 4,0; 95% ДИ: 1,182 – 13,540), АСТ в 2 раза выше уровня нормы ($p < 0,001$, ОШ 6,545; 95% ДИ: 2,284 – 18,758), АСТ в 3 раза выше уровня нормы ($p=0,009$; ОШ 9,5; 95% ДИ: 1,946 – 46,389) по сравнению с носительством генотипа AA.

4. Не было обнаружено значимых ассоциаций носительства полиморфных вариантов генов *AOX1* (rs55754655, rs10931910) и *CYP1A2* (rs762551) с риском развития нежелательных реакций при терапии

фавипиравиром, что ставит под сомнение их значимость как предикторов безопасности этиотропной фармакотерапии COVID-19.

5. Независимым предикторами увеличения АСТ в 3 раза выше уровня нормы при терапии ремдесивиром было носительство генотипа GG по полиморфизму rs8192935 гена *CES1* ($p=0,020$; ОШ 14,938; ДИ 1,530 – 145,911) и генотипа GA полиморфизма *CYP3A5*3* ($p=0,003$; ОШ 14,632; ДИ 2,507 – 85,370). Чувствительность и специфичность модели составили 100,0% и 53,1%, соответственно (PPV 68,1; NPV 100,0).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

У пациентов с COVID-19 перед началом противовирусной терапии может быть рекомендовано проведение фармакогенетического тестирования по полиморфизмам *CES1* (rs8192935) и *CYP3A5*3* (rs776746), что может позволить снизить риск развития гепатотоксичности, путем выделения группы пациентов, которым не рекомендуется назначение ремдесивира.

Не рекомендуется использование фармакогенетического тестирования по полиморфизмам *AOX1* (rs55754655, rs10931910) и *CYP1A2* (rs762551) для прогнозирования развития нежелательных реакций при терапии фавипиравиром.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Необходимо проведение фармакогенетических исследований дополнительных локусов генов *CES 1* и семейства *CYP3A* при терапии ремдесивиром, а также изучение фармакогенетики других противовирусных препаратов (молнупиравир, нирматрелевир-ритоновир).

Учитывая найденные ассоциации, необходимо провести исследование, сравнивающее частоту побочных реакций при назначении противовирусной терапии на основе результатов фармакогенетического тестирования и без него.

На основании этих исследований необходимо разработать систему поддержки принятия врачебных решений по персонализированному выбору противовирусной терапии COVID-19 на основе фармакогенетического тестирования.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК, и включенных в международную базу SCOPUS

1. Темирбулатов, И.И. Модель прогнозирования риска развития лекарственного поражения печени на фоне терапии ремдесивиром: обсервационное проспективное открытое контролируемое исследование / Ю.В. Шевчук, А.В. Крюков, **И.И. Темирбулатов**, И.В. Сычев, К.Б. Мирзаев, Н.П. Денисенко, Ш.П. Абдуллаев, С.Н. Тучкова, В.И. Вечорко, О.В. Аверков, Д.А. Сычев // Фармация и фармакология. - 2023. - Т. 11, №3. - С. 228-239.

Публикации в рецензируемых научных изданиях, включенных в международную базу SCOPUS

2. Темирбулатов, И.И. Оценка ассоциации полиморфизмов *CES1* (rs2244613) с безопасностью применения ремдесивира у госпитализированных пациентов с COVID-19 / **И.И. Темирбулатов**, А.В. Крюков, К.Б. Мирзаев, Н.П. Денисенко, Ш.П. Абдуллаев, А.А. Качанова, Ж.А. Созаева, А.С. Жирякова, Ю.В. Шевчук, В.И. Вечорко, О.В. Аверков, Д.А. Сычев // Медицинский совет. – 2022. – Т. 16, № 23. – С. 304-309.

3. Темирбулатов, И.И. Влияние носительства полиморфных вариантов *CYP3A5** 3 и *CYP3A4** 22 на безопасность терапии ремдесивиром у пациентов с COVID-19 / **И.И. Темирбулатов**, А.В. Крюков, К.Б. Мирзаев, Н.П. Денисенко, Ш.П. Абдуллаев, А.С. Жирякова, Ю.В. Шевчук, В.И. Вечорко, О.В. Аверков, Д.А. Сычев // Антибиотики и химиотерапия. – 2022. – Т. 67, № 7-8. – С. 45-50.

4. Темирбулатов, И.И. Фармакогенетические маркеры безопасности фавипиравира при лечении пациентов с COVID-19 / **И.И. Темирбулатов**, А.В. Крюков, К.Б. Мирзаев, Н.П. Денисенко, Ш.П. Абдуллаев, А.В. Петрова, Е.П. Ткач, А.В. Шипачева, Д.А. Сычёв // Антибиотики и Химиотерапия. – 2023. – Т. 68, № 5-6. – С. 55-61.

Основные работы, опубликованные в других изданиях

5. Темирбулатов, И.И. Фармакогенетика противовирусных средств для лечения COVID-19: перспективы для клинической практики / И.И.

Темирбулатов, А.В. Крюков, Д.А. Сычев // Фармакогенетика и фармакогеномика. – 2021. – № 1. – С. 38-41.

6. Темирбулатов, И.И. Безопасность фармакотерапии у пациентов с COVID-19: обзор литературы / А.В. Крюков, А.С. Жирякова, Ю.В. Шевчук, А.В. Матвеев, В.И. Вечорко, О.В. Аверков, С.В. Глаголев, **И.И. Темирбулатов**, К.Б. Мирзаев, Н.П. Денисенко, Ш.П. Абдуллаев, Д.А. Сычев // Безопасность и риск фармакотерапии. – 2022. – Т. 10, № 4. – С. 326-344.

Список сокращений

SARS-CoV-2 – Severe Acute Respiratory Syndrome-related CoronaVirus 2 - коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома 2 типа

COVID-19 – Coronavirus disease 2019 - короновирусная инфекция 2019

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ДНК – Дезоксирибонуклеиновая кислота

РНК - Рибонуклеиновая кислота

ИВЛ – искусственная вентиляция легких

АЛТ - Аланинаминотрансфераза

АСТ - Аспартатаминотрансфераза

ПЦР - Полимеразная цепная реакция

ЧСС - Частота сердечных сокращений

Ме [Q1; Q3] – медиана [первый и третий квартили]

ДИ – доверительный интервал

ОШ – отношение шансов

АПФ2 - ангиотензинпревращающий фермент 2 типа

ACTT-1 - Adaptive Covid-19 Treatment Trial - адаптивное исследование лечения короновирусной инфекции

ЧСС – частота сердечных сокращений

ХОБЛ – хроническая обструктивная болезнь легких

БА – бронхиальная астма

ХБП – хроническая болезнь почек