

*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.rmaro.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) (А. Е. Gorbalenya 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. Н. 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 аденозина. 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 [А.В. Матвеев и др., 2022; С.А. Мишинова и др., 2023; Н. Takahashi et al., 2020; Н. К. Elsayah et al., 2021; Е. 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 Р-гликопротеида [S. Deb et al., 2021].

Фавипиравир, подвергается фосфорилированию и рибозилированию и образует активный метаболит рибофуранозил-5'-трифосфат фавипиравира (Т-705-RTP)]. В последующем препарат метаболизируется в большей степени альдегид оксидазой и частично ксантилоксидазой до неактивного окисленного метаболита Т-705М1, 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 оценивающих 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 (*AOXI*) 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; H. 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 такролимуса [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. Выявлено, 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 учитывавшийся 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 P450, 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, Шапиро-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 янус-киназ 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 мишеней; 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 достигнута 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 (глюкокортикостероиды, ингибиторы янус-киназы, 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 СYP 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 «структура-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 м<sup>2</sup>, 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/1,73м<sup>2</sup>), 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 истории 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 (глюкокортикостероиды, ингибиторы янус-киназ, ингибиторы рецепторов интерлейкина-6, антикоагулянты, антибактериальные препараты и статины).

Вначале исследуемые параметры сравнивались между носители полиморфной аллели и гетеро- и гомозиготном состоянии с «дикиими» 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 (Me) 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 бромдигидрохлорфенилбензодиазеина [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, индьюсер) и оценки двух вероятностей:  $P_a$  - вероятность наличия активности и  $P_i$

- вероятность отсутствия активности. Представлены только результаты, для которых  $P_a > P_i$ .

Для ремдесивира:

$P_a$  (0,592)  $P_i$  (0,180) CYP2C9 индуксер

$P_a$  (0,526)  $P_i$  (0,160) CYP3A4 индуксер

$P_a$  (0,543)  $P_i$  (0,275) CYP2C8 индуксер

$P_a$  (0,363)  $P_i$  (0,259) CYP3A4 субстрат

$P_a$  (0,401)  $P_i$  (0,395) CYP1A2 индуксер

Для фавипиравира:

$P_a$  (0,614)  $P_i$  (0,126) CYP2C19 индуксер

$P_a$  (0,533)  $P_i$  (0,111) CYP2E1 индуксер

$P_a$  (0,508)  $P_i$  (0,292) CYP2C9 индуксер

$P_a$  (0,447)  $P_i$  (0,247) CYP1A2 субстрат

$P_a$  (0,442)  $P_i$  (0,251) CYP2A6 ингибитор

$P_a$  (0,416)  $P_i$  (0,348) CYP2E1 ингибитор

$P_a$  (0,430)  $P_i$  (0,389) CYP2C8 индуксер

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 АА 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 АА 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 А ( $p=0,037$ ).

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 повышены 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 *AOXI* (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 *AOXI* (rs55754655) было показано, что пациенты с генотипом AA имели достоверно более высокий уровень ферритина до терапии фавипиравиром ( $p=0,026$ ). Эта 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. Наблюдаемая зависимость описывается уравнением:

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

$$z = -5,515 + 2,704X_{GG} + 2,683X_{GA}$$

где P – вероятность увеличения АСТ в 3 раза от нормы,  $X_{GG}$  – *CES1* rs8192935 (A>G) (GG vs AG+AA) (0 – AG+AA, 1 – GG),  $X_{GA}$  – *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% наблюдаемой 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 ( $P_a = 0,363$ ;  $P_i = 0,259$ ). Фавипиравир наиболее вероятно метаболизируется CYP1A2 ( $P_a = 0,447$ ;  $P_i = 0,247$ ).

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-ритонозир).

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

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

ДИ – доверительный интервал

ОШ – отношение шансов

АПФ2 - ангиотензинпревращающий фермент 2 типа

АСТТ-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