

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние полиморфизмов генов *CYP3A4/5*, *ABCB1* на остаточную равновесную концентрацию апиксабана и развитие кровотечений у пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий и тромбозом глубоких вен

Федина Л. В.^{1*}, Сычев И. Н.¹, Мирзаев К. Б.¹, Варданян А. В.¹, Глаголев С. В.², Качанова А. А.¹, Бочков П. О.¹, Шевченко Р. В.¹, Тучкова С. Н.¹, Сычев И. В.³, Абдуллаев Ш. П.¹, Сычев Д. А.¹

¹Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования Минздрава России, Москва, Россия

²Министерство здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

³Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева, Саранск, Россия

Цель. Изучение влияния полиморфных маркеров генов *CYP3A4*22* (с.522-191C>T, rs35599367), *CYP3A5*3* (с.219-237A>G, rs776746), *ABCB1* rs1045642 (с.3435T>C) и rs4148738 (с.2692-2236C>T) на плазменную концентрацию апиксабана, на изменение протромбинового времени (ПВ), активированного частичного тромбoplastинового времени (АЧТВ) и развитие кровотечений у пациентов, принимающих апиксабан.

Материал и методы. В исследование включены 108 пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий (ФП) и тромбозом глубоких вен (ТГВ), получающих апиксабан в терапевтических дозах. Генотипирование осуществляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Измерение концентраций апиксабана проводилось с помощью масс-спектрометра с ионизацией электроспреем в режиме положительной ионизации. Поскольку суточная доза апиксабана была различной (5, 10 и 20 мг в сутки), остаточная равновесная концентрация (C_{min,ss}) апиксабана была скорректирована относительно суточной дозы лекарственного средства (C_{min,ss}/D). Показатели ПВ и АЧТВ определялись с помощью автоматического анализатора-коагулометра Destiny Max (Тсоаг, Ирландия). Статистическая обработка проводилась в программе SPSS Statistics 20.0.

Результаты. У пациентов с генотипом *CTABCB1* (rs4148738) C>T значение C_{min,ss}/D, было выше, чем у пациентов с генотипом *TT* (6,23 [4;13] против 5,77 [4;17] p=0,018). Не было обнаружено статистически значимых ассоциаций между носительством полиморфизмов генов *CYP3A4*22* (rs35599367) C>T, *CYP3A5*3* A>G, *ABCB1* (rs1045642) C>T и значением C_{min,ss}/D апиксабана. Также не было обнаружено статистически значимого влияния носительства полиморфизмов rs35599367, rs776746, rs4148738, rs4148642 и вышеуказанных генов на риски развития геморрагических осложнений. Однако, было установлено влияние полиморфизма *ABCB1* (rs1045642) C>T на значение ПВ (у носителей генотипа *TTABCB1* (rs1045642) C>T значение ПВ было статистически значимо выше, чем у генотипа *CT* (17,0 [40;112] против 14,9 [35;132]), p=0,044).

Заключение. Было обнаружено, что у пациентов с генотипом *CTABCB1* (rs4148738) C>T значение C_{min,ss}/D, было выше, чем у пациентов с генотипом *TT*. При этом носительство полиморфизмов генов *CYP3A4*22* (rs35599367) C>T, *CYP3A5*3* A>G, *ABCB1* (rs1045642) C>T не влияло на фармакокинетику апиксабана и риски развития кровотечений. Также выявлено влияние полиморфизма гена *ABCB1* (rs1045642) C>T на значение ПВ.

Ключевые слова: фармакогенетика, апиксабан, ФП, ТГВ, персонализированная терапия, полиморфизмы генов *CYP3A4/5*, *ABCB1*.



Для цитирования: Федина Л. В., Сычев И. Н., Мирзаев К. Б., Варданян А. В., Глаголев С. В., Качанова А. А., Бочков П. О., Шевченко Р. В., Тучкова С. Н., Сычев И. В., Абдуллаев Ш. П., Сычев Д. А. Влияние полиморфизмов генов *CYP3A4/5*, *ABCB1* на остаточную равновесную концентрацию апиксабана и развитие кровотечений у пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий и тромбозом глубоких вен. *Рациональная Фармакотерапия в Кардиологии*. 2024;20(1):19-26. DOI: 10.20996/1819-6446-2024-2941. EDN ZAUJOY

Effect of *CYP3A4/5*, *ABCB1* gene polymorphisms on the residual equilibrium concentration of apixaban and bleeding in patients with non-valvular atrial fibrillation and deep vein thrombosis

Fedina L. V.^{1*}, Sychev I. N.¹, Mirzaev K. B.¹, Vardanyan A. V.¹, Glagolev S. V.², Kachanova A. A.¹, Bochkov P. O.¹, Shevchenko R. V.¹, Tuchkova S. N.¹, Sychev I. V.³, Abdullaev S. P.¹, Sychev D. A.¹

¹Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia

²Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

³N. P. Ogarev National Research Mordovian State University, Saransk, Russia

Aim. The aim of our study was to investigate the influence of polymorphic markers of *CYP3A4*22* (*CYP3A4*22* (с.522-191C>T, rs35599367), *CYP3A5*3* (с.219-237A>G, rs776746), *ABCB1* rs1045642 (с.3435T>C) and rs4148738 (с.2692-2236C>T) genes on the plasma concentration of apixaban, on changes in prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), and bleeding development in patients taking apixaban.

Material and methods. The study included 108 patients with non-valvular atrial fibrillation and deep vein thrombosis receiving apixaban in therapeutic doses. Genotyping was performed by real-time polymerase chain reaction. Apixaban concentrations were measured using an electrospray ionization mass spectrometer in positive ionization mode. Because the daily dose of apixaban was different (5, 10, and 20 mg daily), the residual equilibrium concentration (C_{min,ss}) of apixaban was

adjusted relative to the daily drug dose ($C_{min,ss}/D$). PT and APTT were determined using an automatic coagulometer analyzer Destiny Max (Tcoag, Ireland). Statistical processing was performed in SPSS Statistics 20.0 program.

Results. We found that patients with *CT ABCB1 (rs4148738) C>T* genotype had higher $C_{min,ss}/D$ value than patients with *TT* genotype (6.23 [4;13] vs 5.77 [4;17], $p=0.018$). No statistically significant associations were found between carriage of *CYP3A4*22 (rs35599367) C>T*, *CYP3A5*3 A>G*, *ABCB1 (rs1045642) C>T* gene polymorphisms and $C_{min,ss}/D$ value of apixaban. Also, there was no significant effect of carrying polymorphisms *rs35599367*, *rs776746*, *rs4148738*, *rs4148642*, and the above genes on the risks of hemorrhagic complications. However, the influence of *ABCB1 (rs1045642) C>T* polymorphism on the PT value was found (*TT ABCB1 (rs1045642) C>T* genotype carriers the CT value was significantly higher than in *CT* genotype (17.0 [40;112] vs. 14.9 [35;132]) $p=0.044$).

Conclusion. It was found that the $C_{min,ss}/D$ value was higher in patients with *CT ABCB1 (rs4148738) C>T* genotype than in patients with *TT* genotype. At the same time, carriage of polymorphisms of *CYP3A4*22 (rs35599367) C>T*, *CYP3A5*3 A>G*, *ABCB1 (rs1045642) C>T* genes did not affect the pharmacokinetics of apixaban and the risk of bleeding. We also identified the effect of *ABCB1 (rs1045642) C>T* gene polymorphism on the PT value.

Keywords: pharmacogenetics, apixaban, AF, DVT, personalized therapy, *CYP3A4/5*, *ABCB1* gene polymorphisms.

For citation: Fedina L. V., Sychev I. N., Mirzaev K. B., Vardanyan A. V., Glagolev S. V., Kachanova A. A., Bochkov P. O., Shevchenko R. V., Tuchkova S. N., Sychev I. V., Abdullaev S. P., Sychev D. A. Effect of *CYP3A4/5*, *ABCB1* gene polymorphisms on the residual equilibrium concentration of apixaban and bleeding in patients with non-valvular atrial fibrillation and deep vein thrombosis. *Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2024;20(1):19-26. DOI: 10.20996/1819-6446-2024-2941. EDN ZAUJOY

*Corresponding Author (Автор, ответственный за переписку): fedina201368@gmail.com

Received/Поступила: 10.08.2023

Review received/Рецензия получена: 16.11.2023

Accepted/Принята в печать: 01.02.2024

Введение

С момента своего появления в клинической практике прямые пероральные антикоагулянты (ПОАК), способные блокировать отдельные и специфические этапы коагуляционного каскада, в частности тромбин (фактор IIa) или фактор Стюарта (Ха), в значительной степени заменили варфарин в качестве основного перорального антикоагулянта для предотвращения тромбоэмболических осложнений [1]. Хотя варфарин остается самым часто применяемым пероральным антикоагулянтом, объемы его назначений сократились более чем на 50% (с ~30 млн в 2011 г. до 14,6 млн в 2019 г.) [2]. Эта ситуация во многом обусловлена ростом использования ривароксабана (8,7 млн в 2019 г.) и апиксабана (14 млн в 2019 г.) и ожидается, что эта тенденция сохранится, так как по сравнению с варфарином ПОАК имеют множество преимуществ, включая быстрое начало действия, отсутствие взаимодействий с пищей, меньшее количество лекарственных взаимодействий, предсказуемую фармакокинетику и фармакодинамику [2-4].

Кроме того, завершённые рандомизированные исследования III фазы у пациентов с неклапанной фибрилляцией предсердий (ФП), тромбозом глубоких вен (ТГВ) и легочной эмболией показали, что ПОАК были столь же эффективными, а в некоторых случаях и превосходили варфарин по общему профилю безопасности, постоянно снижая частоту клинически значимых кровотечений [5-7]. Последующий метаанализ подтвердил эти выводы и показал, что ПОАК ассоциируются со значительным общим относительным снижением риска крупных кровотечений на 39% [8]. Но несмотря на многочисленные преимущества, кровотечения и тромбоэмболические события остаются серьезной проблемой при использовании ПОАК

[9, 10]. К примеру, риск больших кровотечений во время лечения ПОАК оценивается в 2-3% в год, риск внутричерепного кровоизлияния оценивается примерно в 0,1-0,5% в год, а риск большого желудочно-кишечного кровотечения в 1-1,5% [11].

В основном апиксабан метаболизируется до неактивных метаболитов семейством цитохромов P450 в печени *CYP3A4/5*, с незначительным вкладом других изоферментов *CYP1A2*, *CYP2C8*, *CYP2C9*, *CYP2C19* и *CYP2J2* [12]. Кроме того все, ПОАК в том числе и апиксабан, являются субстратами P-гликопротеина (кодируется геном *ABCB1*) [13]. Этот мембранный белок транспортирует многие лекарственные средства [14]. Следовательно, генетические полиморфизмы *CYP3A4/5*, *CYP2J2*, *ABCB1* и *ABCG2* могут влиять на функционирование этих изоферментов и изменять фармакокинетику апиксабана, что влияет на безопасность и эффективность антикоагулянтной терапии [11].

Например, одно исследование выявило связь между интронным вариантом *rs4148738* гена *ABCB1*, кодирующим P-gp, и увеличением пиковой концентрации апиксабана [15]. В другом исследовании варианты *1236C>T (rs1128503)*, *2677G>T (rs2032582)* и *3435C>T (rs1045642)* гена *ABCB1* не влияли на соотношение концентрация/доза апиксабана [16]. Что касается *CYP3A*, то носительство генотипов *CYP3A5*1/*3* или **3/*3* ассоциировалось с увеличением соотношения концентрация/доза апиксабана по сравнению с *CYP3A5*1/*1* [16, 17].

На сегодняшний день недостаточно исследований, посвященных изучению влияния этих полиморфных вариантов на эффективность или безопасность терапии апиксабаном, к тому результаты этих исследований довольно противоречивы [18].

Необходимо дополнительно изучить влияние генетических факторов на фармакокинетику апиксабана для

более эффективной и безопасной антикоагулянтной терапии на основе такой клинико-фармакологической технологии персонализированной медицины, как фармакогенетическое тестирование. Поэтому целью нашего исследования стало изучение влияния полиморфных маркеров генов *CYP3A4*22* (с.522-191C>T, rs35599367), *CYP3A5*3* (с.219-237A>G, rs776746), *ABCB1 rs1045642* (с.3435T>C) и *rs4148738* (с.2692-2236C>T) на плазменную концентрацию апиксабана, на изменение протромбинового времени (ПВ), активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ) и развитие кровотечений у пациентов, принимающих апиксабан.

Материал и методы

Дизайн исследования и популяция пациентов

В открытое проспективное обсервационное исследование было включено 108 пациентов, получающих апиксабан в терапевтических дозах с неклапанной ФП и ТГВ. В исследовании принимали участие пациенты, госпитализированные в ГКБ им. С.С. Юдина и ГКБ им. С.П. Боткина. Критерии включения: подтверждённый диагноз неклапанной ФП (отсутствие искусственных клапанов сердца); подтверждённый диагноз ТГВ; подтверждённый диагноз тромбоэмболии лёгочной артерии и приём апиксабана в рекомендованных дозах. Критериями невключения были: повышенная чувствительность к апиксабану или вспомогательным компонентам препарата; подтверждённый диагноз клапанной ФП (наличие искусственных клапанов сердца или митрального стеноза); нарушение функции почек с клиренсом креатинина менее 15 мл/мин или процедура диализа; тяжёлая печеночная недостаточность класс В, С по Чайлд-Пью; геморрагический синдром, активное внутреннее кровотечение, внутричерепное кровоизлияние; врождённый дефицит лактазы, непереносимость лактозы, глюкозо-галактозная мальабсорбция; возраст до 18 лет; беременность или период грудного вскармливания. Все пациенты получали апиксабан (в дозах 2,5 мг 2 раза в сутки, 5 мг 2 раза в сутки, 10 мг 2 раза в сутки) в соответствии с инструкцией по применению препарата. Информированное согласие было получено от всех участников, включенных в исследование. Исследование было одобрено заседанием локального этического комитета ФГБОУ ДПО РМАНПО Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования Минздрава России (Протокол № 12 от 20 октября 2021 г.) и проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией.

Определение концентрации апиксабана в плазме

Для определения концентрации препарата выполнялось взятие венозной крови в вакуумные пробирки с антикоагулянтом ЭДТА-К3 Improvacuter (Guangzhou Improve Medical Instruments Co.Ltd, Китай) емкостью

6 мл на 4-7 сутки приема апиксабана. С целью получения плазмы образцы крови центрифугировались при 3000 об./мин в течении 15 минут. Выделенная плазма аликвотировалась в пробирки типа "Эппендорф" и замораживалась при температуре -70 °С до момента проведения анализа.

Концентрацию апиксабана в плазме определяли методом хроматографии с масс-спектрометрической детекцией на высокоэффективном жидкостном хроматографе Agilent G1978B Multimode Source for 6410 Triple Quade LC/MS (Agilent Technologies, Inc., USA, 2008).

Количественное определение апиксабана в образцах плазмы крови человека методом высокоэффективной жидкостной хроматографии – тандемной масс-спектрометрии основано на извлечении аналита из плазмы путем осаждения белков плазмы крови ацетонитрилом с последующим их определением с помощью ВЭЖХ-МС/МС системы. Поскольку суточная доза апиксабана была различной (5, 10 и 20 мг в сутки), остаточная равновесная концентрация ($C_{min,ss}$) апиксабана была скорректирована относительно суточной дозы лекарственного средства ($C_{min,ss}/D$).

Определение полиморфизмов генов

На базе научно-исследовательского института молекулярной и персонализированной медицины ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России проводилось выделение ДНК из цельной венозной крови с помощью набора реагентов "S-Сорб" (ООО "Синтол", Россия).

Затем, методом полимеразной цепной реакции в реальном времени на ДНК-амплификаторе CFX96 Touch™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, Inc.; USA), с использованием коммерческих наборов реактивов ("Синтол", Россия; "Thermo Fisher Scientific", США) производилось генотипирование полиморфизмов *CYP3A4*22* (rs35599367) C>T, *CYP3A5*3* A>G, *ABCB1* (rs4148738) C>T, *ABCB1* (rs1045642) C>T. Для отбора генов-кандидатов в исследование использовали данные по фармакокинетике и фармакодинамике из инструкции по применению препарата и базы данных PharmGKB¹.

Определение ПВ и АЧТВ

Оценка фармакодинамики апиксабана производилась посредством определения ПВ и АЧТВ. Взятие венозной крови осуществлялось перед очередным приёмом апиксабана на 4-7 сутки от начала приёма препарата с использованием вакуумных пробирок VACUTEST® (KIMA, Италия) с K₃ЭДТА. Показатели ПВ и АЧТВ определялись с помощью автоматического анализатора-коагулометра Destiny Max (Tcoag, Ирландия).

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка проводилась с помощью пакета программ SPSS Statistics 20.0. Характер распределения данных оценивали с помощью критерия Шапиро-

¹ PharmGKB. Available from: <https://www.pharmgkb.org/>.

Таблица 1. Клинико-демографические характеристики пациентов с ФП и ТГВ

Показатель	Характеристика пациентов, включенных в исследование
Возраст, в годах	70,0 [60;79]
Мужчины, n (%)	56 (51,9)
Женщины, n (%)	52 (48,1)
СКФ, мл/мин/1,73 м ²	63,39 [45;93]
HAS-BLED, баллы	2 [2;3]
Гемоглобин, г/л	126,6 [113;141]
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	227,0 [178;295]
Протромбиновое время, с	16,2 [13;19]
АЧТВ, с	30,2 [27;34]
ФП, n (%)	54 (50)
ТГВ, n (%)	54 (50)
Индекс массы тела, кг/м ²	28,15 [26;32]
Ишемическая болезнь сердца, n (%)	69 (63,9)
ОНМК в анамнезе, n (%)	8 (7,4)
Артериальная гипертензия, n (%)	78 (72,2)
Сахарный диабет, n (%)	31 (28,7)
Хроническая сердечная недостаточность, n (%)	61 (56,5)
Анемия, n (%)	40 (37,0)
Доза апиксабана:	
2,5 мг 2 раза в сутки, n (%)	15 (13,9)
5 мг 2 раза в сутки, n (%)	47 (43,5)
10 мг 2 раза в сутки, n (%)	46 (42,6)
C _{min,ss} , нг/мл	76,7 [49;128]
C _{min,ss} /D, нг/мл/мг	5,82 [3;12]
Данные указаны в виде Ме [25%;75%]. СКФ – скорость клубочковой фильтрации, ФП – фибрилляция предсердий, ТГВ – тромбоз глубоких вен, АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время, ОНМК – острое нарушение мозгового кровообращения	

Уилка. Для сравнения количественных переменных между группами применялись непараметрические критерии (Манна-Уитни, Крускала-Уоллеса). Средние значения представлены в результатах как медиана и квартили – Ме [Q1; Q3]. Частоту категориальных переменных сравнивали между собой при помощи критерия Хи-квадрат Пирсона или точного критерия Фишера. Для коррекции множественных сравнений вводилась поправка Бонферрони. Расчет соответствия распределения генотипов закону Харди-Вайнберга был выполнен при помощи онлайн-калькулятора [19]. Результаты с $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

Результаты

Общая характеристика пациентов, включенных в исследование, представлена в табл. 1. Количество пациентов мужского пола составило 51,9%, а медиана возраста – 70,0 [60;79] лет. Число пациентов, принимающих апиксабан в дозе 2,5 мг 2 раза в сутки составило 13,9%, а в дозе 5 мг 2 раза в сутки и 10 мг 2 раза в сутки – 43,5% и 42,6% соответственно.

Распределение частот аллелей трех генов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга при значении $p > 0,05$ (табл. 2).

При оценке сопоставимости сравниваемых групп пациентов, статистически значимые различия по клиническим и лабораторным факторам, которые могли повлиять на основные и вторичные исходы, были получены для пациентов с *ABCB1* (*rs4148738*) *C>T*, которые являлись носителями аллельного варианта *CC*, у них исходно был выше уровень гемоглобина, по сравнению с пациентами носителями генотипа *CT* (134 [123;154] против 130 [117;145]) $p=0,046$. Также у пациентов с аллельным вариантом *TT* по полиморфному маркеру *ABCB1* (*rs4148738*) *C>T* в 3 раза реже встречалась анемия 22,5% против 70,0% $p=0,007$. Пациенты с генотипом *CC* *ABCB1* (*rs1045642*) *C>T* имели исходно более высокий уровень тромбоцитов (247 [228;291] против 197 [165;239]) $p=0,030$, а также в два раза чаще в анамнезе имели острое нарушение мозгового кровообращения (ОНМК)/транзиторную ишемическую атаку 25,0% против 50,0% $p=0,032$.

Влияние полиморфизма генов на концентрацию в плазме

Всего в этом исследовании было исследовано 4 однонуклеотидных полиморфизма (SNP), включая *ABCB1* (2 SNP), *CYP3A4/5* (2 SNP). При анализе Краскела-Уоллеса была обнаружена ассоциация между носительством генотипа *ABCB1* (*rs4148738*) *C>T* и $C_{min,ss} /D$ апиксабана $p=0,018$ (табл. 3). У пациентов с генотипом *CT* *ABCB1* (*rs4148738*) *C>T* значение $C_{min,ss} /D$, было выше, чем у пациентов с генотипом *TT* (6,23 [4;13] против 5,77 [4;17]). Не было установлено, что полиморфизмы генов *CYP3A4*22* (*rs35599367*) *C>T*, *CYP3A5*3* *A>G*, *ABCB1* (*rs1045642*) *C>T* оказывают значимое влияние на $C_{min,ss} /D$ апиксабана (см. табл. 3).

Влияние полиморфизма генов на значения АЧТВ и ПВ

Пациенты с полиморфизмом гена *CYP3A4*22* (*rs35599367*) *C>T* были разделены на две группы: *CC* $n=8$ (95,4%) и *CT* $n=17$ (4,6%), носителей *TT* в выборке обнаружено не было. При анализе Манна-Уитни не было обнаружено статистически значимых ассоциаций между носительством полиморфизма и значениями АЧТВ и ПВ (табл. 4).

Пациенты с полиморфизмом гена *CYP3A5*3* *A>G* также были разделены на две группы: *AG* $n=8$ (9,3%) и *GG* $n=17$ (90,7%). В данном случае при анализе не было обнаружено статистически значимых ассоциаций между носительством полиморфизма и значениями АЧТВ и ПВ (см. табл. 4).

Пациенты с полиморфизмами генов *ABCB1* (*rs1045738*) *C>T* и *ABCB1* (*rs1045642*) *C>T* были разделены на три группы. У носителей генотипа *TT* *ABCB1* (*rs1045642*) *C>T* значение ПВ была статистически значимо выше, чем у генотипа *CT* (17,0 [40;112] против 14,9 [35;132]) $p=0,044$ (см. табл. 4). При этом

Таблица 2. Распределение частот генотипов изученных полиморфных вариантов с результатами анализа на соответствие распределению по Харди-Вайнбергу

Полиморфизм гена	Генотип	n	%	Chi-Square	P
CYP3A4*22 (rs35599367) C>T	CC	103	95,4	0,06	0,97
	CT	5	4,6		
CYP3A5*3 A>G	GG	98	90,7	0,25	0,88
	AG	10	9,3		
ABCB1 (rs4148738) C>T	CC	20	18,5	0,12	0,94
	CT	55	50,9		
	TT	33	30,6		
ABCB1 (rs1045642) C>T	CC	19	17,6	20,89	0,000029
	CT	25	23,1		
	TT	64	59,3		

Таблица 3. Ассоциация носительства полиморфизмов генов CYP3A4/5 и ABCB1 с равновесной концентрацией апиксабана

Однонуклеотидный полиморфизм (SNP)	Генотип	Cmin,ss /D, нг/мл/мг Me [25%;75%]	P		
CYP3A4*22 (rs35599367) C>T	CC (n=103)	5,87 [4;12]	0,497		
	CT (n=5)	4,5 [2;14]			
CYP3A5*3 A>G	AG (n=10)	6,89 [5;15]	0,261		
	GG (n=98)	5,60 [3;12]			
ABCB1 (rs4148738) C>T	CC (n=20)	5,42 [3;9]	P1-2 0,759	P1-3 0,595	P2-3 0,018*
	CT (n=55)	6,23 [4;13]			
	TT (n=33)	5,77 [4;17]			
ABCB1 (rs1045642) C>T	CC (n=19)	5,77 [2;7]	P1-2 0,736	P1-3 0,731	P2-3 0,661
	CT (n=64)	6,17 [3;13]			
	TT (n=25)	5,67 [3;11]			

Таблица 4. Ассоциация носительства полиморфизмов генов CYP3A4/5 и ABCB1 со значениями АЧТВ и ПВ

Однонуклеотидный полиморфизм (SNP)	Генотип	АЧТВ	ПВ	P		
CYP3A4*22 (rs35599367) C>T	CC (n=103)	30,2 [27;34]	16,2 [13;19]	0,720		
	CT (n=5)	31,2 [26;32]	16,7 [13;24]			
CYP3A5*3 (rs776746) A>G	AG (n=10)	30,1 [25;33]	15,1 [13;26]	0,458		
	GG (n=98)	30,2 [27;34]	16,2 [14;18]			
ABCB1 (rs4148738) C>T	CC (n=20)	30,1 [27;35]	16,6 [14;18]	P1-2 0,654	P1-3 0,811	P2-3 0,336
	CT (n=55)	30,1 [27;33]	16,0 [13;18]			
	TT (n=33)	31,5 [27;34]	15,9 [14;20]			
ABCB1 (rs1045642) C>T	CC (n=19)	31,3 [48;123]	14,9 [24;67]	P1-2 0,770	P1-3 0,652	P2-3 0,964
	CT (n=64)	30,2 [52;137]	14,9 [35;132]			
	TT (n=25)	29,7 [46;127]	17,0 [40;112]			

Данные указаны в виде Me [25%;75%].

не было обнаружено статистически значимых ассоциаций между носительством полиморфизма ABCB1 (rs4148738) C>T и значениями АЧТВ и ПВ (см. табл. 4).

Влияние полиморфизмов генов на возникновение кровотечений у пациентов с ФП и ТГВ

За время наблюдения в общей сложности было зафиксировано 36 геморрагических событий. Все кровотечения были неспровоцированными. Наиболее часто у пациентов регистрировалась гематурия (61%). Структура геморрагических осложнений представлена на рис. 1.

Нами были проанализированы пациенты с геморрагическими событиями на предмет носительства полиморфизмов генов CYP3A4/5 и ABCB1. Статистически значимого влияния носительства полиморфизмов rs35599367, rs776746, rs4148738 и rs4148642 вышеуказанных генов на риск развития геморрагических осложнений выявлено не было (табл. 5).



Рисунок 1. Структура геморрагических осложнений

Таблица 5. Влияние полиморфизмов генов *CYP3A4/5* и *ABCB1* на частоту развития геморрагических осложнений

Однонуклеотидный полиморфизм (SNP)	Генотип	Без кровотечений (n = 72)	С кровотечением (n = 36)	P
<i>CYP3A4*22 (rs35599367) C>T</i>	CC (n=103)	68 (66,0%)	35 (34,0%)	0,517
	CT (n=5)	4 (80,0%)	1 (20,0%)	
<i>CYP3A5*3 (rs776746) A>G</i>	AG (n=10)	6 (60,0%)	4 (40,0%)	0,639
	GG (n=98)	66 (67,3%)	32 (32,7%)	
<i>ABCB1 (rs4148738) C>T</i>	CC (n=20)	16 (80,0%)	4 (20,0%)	0,336
	CT (n=55)	34 (61,8%)	21 (38,2%)	
	TT (n=33)	22 (66,7%)	11 (33,3%)	
<i>ABCB1 (rs1045642) C>T</i>	CC (n=19)	14 (73,7%)	5 (26,3%)	0,309
	CT (n=64)	39 (60,9%)	25 (39,1%)	
	TT (n=25)	19 (76,0%)	6 (24,0%)	

Обсуждение

Персонализация терапии ПОАК, в том числе апиксабаном, является ведущей задачей для обеспечения эффективности и безопасности применения этих препаратов [20]. Важную роль в вариативности фармакокинетики играют полиморфизмы генов ферментов биотрансформации (*CYP3A4/5*) а также белков-переносчиков (P-gp) [21].

Ген *ABCB1* кодирует эффлюксный насос P-gp, а все ПОАК являются субстратами P-gp. Поэтому *ABCB1* является наиболее часто исследуемым геном для оценки взаимосвязи носительства конкретных аллельных вариантов с риском нежелательных лекарственных реакций на фоне терапии ПОАК, и прежде всего – кровотечений [2]. Предыдущие небольшие исследования показали, что минорный аллель *ABCB1 rs4148738* был связан с более низкими пиковыми концентрациями апиксабана и более низким риском кровотечений у пациентов, получающих антикоагулянтную терапию апиксабаном [15, 22, 23]. Однако, эти результаты не подтвердились в более крупном исследовании, в котором проанализировали данные пациентов, участвовавших в третьей фазе крупного клинического исследования апиксабана [11]. В нашем исследовании обнаружено, что у пациентов с генотипом *CT ABCB1 (rs4148738) C>T* значение $C_{min,ss} / D$, было выше, чем у пациентов носителей гомозиготы *TT*, что скорее похоже на результаты, полученные С. Dimatteo и соавт. [15].

Из полиморфизмов генов, кодирующих ферменты биотрансформации *CYP3A4/5*, наиболее изучена роль нефункционального аллеля *G (rs776746)* гена *CYP3A5*. В то же время у гетерозиготных носителей (генотип *AG*) метаболизм апиксабана умеренно снижен из-за носительства одного нефункционального аллеля *G*, а у гетерозиготных носителей (*CYP3A5*3*, генотип *GG*) изофермент *CYP3A5* не экспрессируется. Это является фактором риска развития нежелательных реакций (в частности, кровотечений) при приеме апиксабана [16]. S. Ueshima и соавт. обнаружили, что пациенты с ФП и гомозиготным генотипом *TT (rs77674)* гена *CYP3A5* могли иметь пониженные концентрации апиксабана в крови по сравнению с па-

циентами с генотипами *CC* и *CT*. Следовательно, носительство аллеля *T* может быть связано с повышенным клиренсом апиксабана [16]. Однако это исследование проводилось в азиатской популяции пациентов, что не позволяет экстраполировать результаты на другие этнические группы. В другом, более крупном исследовании, в котором проанализировали данные пациентов, участвовавших в третьей фазе клинического исследования апиксабана (ARISTOTLE) [11] авторы не повторили результаты исследования S. Ueshima и соавт. [16]. Эти расхождения, вероятно, можно объяснить с более надежными оценками воздействия апиксабана, большим размером выборки и достаточной мощностью исследованием. В другом небольшом российском исследовании А. В. Крюкова и соавт. не было найдено статистически значимых ассоциаций между фармакокинетикой апиксабана и полиморфизмом гена *CYP3A5 rs776746* [24]. Результаты нашего исследования показали, что полиморфизмы генов *CYP3A4*22 (rs35599367) C>T*, *CYP3A5*3 A>G* не влияли на фармакокинетику апиксабана и риски развития геморрагических осложнений, что согласуется с результатами исследований, процитированных выше. Тем не менее дозирование апиксабана следует проводить с осторожностью и мониторировать нежелательные побочные реакции у пациентов, не экспрессирующих *CYP3A5* (гомозиготных носителей нефункциональных аллелей).

При отсутствии возможности измерения активности Ха-фактора и равновесных концентраций ПОАК, доступной опцией для оценки безопасности и эффективности применения ПОАК в условиях стационара может быть измерение АЧТВ и ПВ [20]. Дабигатран может в большей степени удлинять АЧТВ, ривароксабан – ПВ [25]. В терапевтических дозах апиксабан вызывает небольшое удлинение АЧТВ и ПВ, но имеет высокую степень вариативности [25]. Однако существует умеренная корреляция между концентрацией ПОАК и наблюдаемым изменением гемостаза. В нашем исследовании мы оценили влияние полиморфизмов генов *CYP3A4*22 (c.522-191C>T, rs35599367)*, *CYP3A5*3 (c.219-237A>G, rs776746)*, *ABCB1 rs1045642 (c.3435T>C)* и *rs4148738 (c.2692-2236C>T)* на показатели АЧТВ и ПВ и установили, что у носителей го-

мозиготного генотипа *TT ABCB1 (rs1045642) C>T* значение ПВ было статистически значимо выше, чем у генотипа *CT* $p=0,044$, что может быть важным для клинической практики с учетом невысокой стоимости данного анализа.

Следует отметить, что выявлено несоответствие распространенности генотипов полиморфного варианта *ABCB1 (rs1045642) C>T* равновесию Харди-Вайнберга, что ограничивает практическую значимость результатов. Но полученные результаты, тем не менее, следует считать важными при сравнении с последующими исследованиями.

Заключение

В нашем исследовании полиморфный вариант *ABCB1 (rs4148738) C>T* значимо ассоциировался со значением $C_{min,ss}/D$. При этом мы не обнаружили статистически значимых ассоциаций между носительством полиморфизмов генов *CYP3A4*22 (rs35599367) C>T*, *CYP3A5*3 A>G*, *ABCB1 (rs1045642) C>T* и значением $C_{min,ss}/D$ апиксабана. Также мы не обнаружили статистически значимого влияния носительства полиморфизмов *rs35599367*, *rs776746*, *rs4148738* и *rs4148642* вышеуказанных генов на риски развития геморрагических осложнений. Однако, было установлено влияние полиморфизма *ABCB1 (rs1045642) C>T* на значение ПВ.

Для оптимизации клинической эффективности и максимальной безопасности современной антикоа-

гулянтной терапии необходим системный индивидуальный подход на основе фармакокинетических исследований и фармакогенетического тестирования, которые позволят прогнозировать и профилактировать развитие геморрагических осложнений у пациентов, принимающих ПОАК, поэтому необходимы дальнейшие исследования в этой области.

Отношение и Деятельность. Нет.
Relationships and Activities. None.

Финансирование исследования: Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда 22-15-00251 №122060600001-4, "Персонализированное применение прямых пероральных антикоагулянтов на основе фармакогеномного подхода". Авторы не имеют других соответствующих связей или финансового участия с какой-либо организацией или предприятием, имеющим финансовый интерес или финансовый конфликт с предметом или материалами, обсуждаемыми в рукописи, кроме тех, которые были раскрыты.

Funding: This work was supported by Russian Science Foundation grant 22-15-00251 №122060600001-4, "Personalized Use of Direct Oral Anticoagulants Based on a Pharmacogenomic Approach". The authors have no other relevant affiliations or financial involvement with any organization or enterprise that has a financial interest or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript, other than those disclosed.

References / Литература

1. Chaudhary R, Sharma T, Garg J, et al. Direct oral anticoagulants: a review on the current role and scope of reversal agents. *J Thromb Thrombolysis*. 2020;49(2):271-286. DOI:10.1007/s11239-019-01954-2
2. Thompson LE, Davis BH, Narayan R, et al. Personalizing Direct Oral Anticoagulant Therapy for a Diverse Population: Role of Race, Kidney Function, Drug Interactions, and Pharmacogenetics. *Clin Pharmacol Ther*. 2023;113(3):585-599. DOI:10.1002/cpt.2714.
3. Bounameaux H, Reber G. New oral antithrombotics: a need for laboratory monitoring. *Against J Thromb Haemost*. 2010;8(4):627-630. DOI:10.1111/j.1538-7836.2010.03759.x.
4. Barnes GD, Lucas E, Alexander GC, Goldberger ZD. National Trends in Ambulatory Oral Anticoagulant Use. *Am J Med*. 2015;128(12):1300-5.e2. DOI:10.1016/j.amjmed.2015.05.044.
5. Connolly SJ, Ezekowitz MD, Yusuf S, et al; RE-LY Steering Committee and Investigators. Dabigatran versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2009;361(12):1139-51. DOI:10.1056/NEJMoa0905561.
6. Patel MR, Mahaffey KW, Garg J, et al; ROCKET AF Investigators. Rivaroxaban versus warfarin in nonvalvular atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2011;365(10):883-91. DOI:10.1056/NEJMoa1009638.
7. Granger CB, Alexander JH, McMurray JJ, et al; ARISTOTLE Committees and Investigators. Apixaban versus warfarin in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2011;365(11):981-92. DOI:10.1056/NEJMoa1107039.
8. van Es N, Coppens M, Schulman S, et al. Direct oral anticoagulants compared with vitamin K antagonists for acute venous thromboembolism: evidence from phase 3 trials. *Blood*. 2014;124(12):1968-1975. DOI:10.1182/blood-2014-04-571232.
9. Geller AI, Shehab N, Lovegrove MC, et al. Emergency Visits for Oral Anticoagulant Bleeding. *J Gen Intern Med*. 2020;35(1):371-373. DOI:10.1007/s11606-019-05391-y.
10. Shehab N, Lovegrove MC, Geller AI, et al. US Emergency Department Visits for Outpatient Adverse Drug Events, 2013-2014. *JAMA*. 2016;316(20):2115-2125. DOI:10.1001/jama.2016.16201.
11. Attelind S, Hallberg P, Wadelius M, et al. Genetic determinants of apixaban plasma levels and their relationship to bleeding and thromboembolic events. *Front Genet*. 2022;13:982955. DOI:10.3389/fgene.2022.982955.
12. Foerster KI, Hermann S, Mikus G, Haefeli WE. Drug-Drug Interactions with Direct Oral Anticoagulants. *Clin Pharmacokinet*. 2020;59(8):967-980. DOI:10.1007/s40262-020-00879-x.
13. Ahmed S, Zhou Z, Zhou J, Chen SQ. Pharmacogenomics of Drug Metabolizing Enzymes and Transporters: Relevance to Precision Medicine. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. 2016;14(5):298-313. DOI:10.1016/j.gpb.2016.03.008.
14. Byon W, Garonzik S, Boyd RA, Frost CE. Apixaban: A Clinical Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Review. *Clin Pharmacokinet*. 2019;58(10):1265-1279. DOI:10.1007/s40262-019-00775-z.
15. Dimatteo C, D'Andrea G, Vecchione G, et al. ABCB1 SNP rs4148738 modulation of apixaban interindividual variability. *Thromb Res*. 2016;145:24-26. DOI:10.1016/j.thromres.2016.07.005.
16. Ueshima S, Hira D, Fujii R, et al. Impact of ABCB1, ABCG2, and CYP3A5 polymorphisms on plasma trough concentrations of apixaban in Japanese patients with atrial fibrillation. *Pharmacogenet Genomics*. 2017;27(9):329-336. DOI:10.1097/FPC.0000000000000294.
17. Sherry ST, Ward MH, Kholodov M, et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res*. 2001;29(1):308-311. DOI:10.1097/FPC.0000000000000294.
18. Wu T, Wu S, Li L, et al. The impact of ABCB1, CYP3A4/5 and ABCG2 gene polymorphisms on rivaroxaban trough concentrations and bleeding events in patients with non-valvular atrial fibrillation. *Hum Genomics*. 2023;17(1):59. DOI:10.1186/s40246-023-00506-3.
19. Rodriguez S, Gaunt TR, Day INM. Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies. *Am J Epidemiol*. 2009;169(4):505-514. DOI:10.1093/aje/kwn359.
20. Sychev IN, Fedina LV, Osipov AS, et al. Effect of polymorphisms in CYP3A4*22 (rs35599367) C>T, CYP3A5*3 (rs776746) A>G, ABCB1 (rs4148738) C>T and ABCB1 (rs1045642) C>T genes on apixaban anticoagulation: pilot study results.

- Meditsinskiy sovet = Medical Council. 2021;(4):41-46 (In Russ.) [Сычев И.Н., Федина Л.В., Осипов А.С., et al. Влияние полиморфизмов генов CYP3A4*22 (rs35599367) C > T, CYP3A5*3 (rs776746) A > G, ABCB1 (rs4148738) C > T и ABCB1 (rs1045642) C > T на антикоагулянтное действие апиxabана: результаты пилотного исследования. Медицинский Совет. 2021;(4):41-46]. DOI:10.21518/2079-701X-2021-4-41-46.
21. Raymond J, Imbert L, Cousin T, et al. Pharmacogenetics of Direct Oral Anticoagulants: A Systematic Review. *J Pers Med.* 2021;11(1):37. DOI:10.3390/jpm11010037.
22. Lähteenmäki J, Vuorinen AL, Pajula J, et al. Pharmacogenetics of Bleeding and Thromboembolic Events in Direct Oral Anticoagulant Users. *Clin Pharmacol Ther.* 2021;110(3):768-776. DOI:10.1002/cpt.2316.
23. Shou W, Wang D, Zhang K, et al. Gene-wide characterization of common quantitative trait loci for ABCB1 mRNA expression in normal liver tissues in the Chinese population. *PLoS One.* 2012;7:e46295. DOI:10.1371/journal.pone.0046295.
24. Kryukov AV, Sychev DA, Andreev DA, et al. Influence of ABCB1 and CYP3A5 gene polymorphisms on pharmacokinetics of apixaban in patients with atrial fibrillation and acute stroke. *Pharmgenomics Pers Med.* 2018;11:43-49. DOI:10.2147/PGPM.S157111.
25. Conway SE, Hwang AY, Ponte CD, et al. Laboratory and Clinical Monitoring of Direct Acting Oral Anticoagulants: What Clinicians Need to Know. *Pharmacotherapy* 2017;37(2):236-248. DOI:10.1002/phar.1884.

Сведения об Авторах/About the Authors

Федина Людмила Владимировна [Lyudmila V. Fedina]
eLibrary SPIN 1961-7486, ORCID 0000-0002-6417-9535

Сычев Игорь Николаевич [Igor N. Sychev]
eLibrary SPIN 7282-6014 ORCID 0000-0002-2970-3442

Мирзаев Карин Бадавиевич [Karin B. Mirzayev]
eLibrary SPIN 8308-7599, ORCID 0000-0002-9307-4994

Варданыян Аршак Варданович [Arshak V. Vardanyan]
eLibrary SPIN 4378-2283, ORCID 0000-0002-0893-3740

Глаголев Сергей Владимирович [Sergey V. Glagolev]
Scopus Author ID: <https://www.scopus.com/authid/detail.uri?authorId=57193931109>

Качанова Анастасия Алексеевна [Anastasia A. Kachanova]
eLibrary SPIN 1214-8156, ORCID 0000-0003-3194-4410

Бочков Павел Олегович [Pavel O. Bochkov]

eLibrary SPIN 5576-8174, ORCID 0000-0001-8555-5969

Шевченко Роман Владимирович [Roman V. Shevchenko]

eLibrary SPIN 1844-6202, ORCID 0000-0003-4646-7733

Тучкова Светлана Николаевна [Svetlana N. Tuchkova]

eLibrary SPIN 6807-3210, ORCID 0009-0001-2744-2752

Сычев Иван Витальевич [Ivan V. Sychev]

eLibrary SPIN 5162-3779, ORCID 0000-0003-0227-2651

Абдуллаев Шерзод Пардабоевич [Sherzod P. Abdullaev]

eLibrary SPIN 1727-2158, ORCID 0000-0001-9001-1499

Сычев Дмитрий Алексеевич [Dmitry A. Sychev]

eLibrary SPIN 4525-7556, ORCID 0000-0002-4496-3680