

На правах рукописи

Царукян Анна Акоповна

**Этнические особенности применения варфарина
у жителей Ставропольского края:
клинические и фармакогенетические аспекты**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

Автореферат

Диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Волгоград – 2015

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической фармакологии, аллергологии и иммунологии с курсом ДПО ГБОУ ВПО «Ставропольский государственный медицинский университет» МЗ РФ

Батурин Владимир Александрович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой клинической фармакологии ГБОУ ВПО «Воронежская государственная медицинская академия» МЗ РФ

Батищева Галина Александровна

доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической фармакологии и терапии ГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования» МЗ РФ

Савельева Марина Ивановна

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «__» _____20__ года в ____ на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, д.1)

С диссертационной работой можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке и на сайте www.volgmed.ru ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ по адресу: 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1.

Автореферат разослан «__» _____20__ г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета,
доктор биологических наук

Любовь Ивановна Бугаева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы.

Многочисленные исследования, проведенные, как за рубежом, так и в РФ, продемонстрировали гетерогенность фармакологического ответа в различных этнических группах. Эти работы представляют важный клинический интерес, поскольку они позволяют определять своеобразие эффектов лекарственных средств в отдельно взятых популяциях, населяющих различные регионы мира или отдельной страны. При рассмотрении вопросов этнической фармакологии у больных артериальной гипертензией афроамериканцев и европеоидов установлены различия антигипертензивного эффекта ингибиторов АПФ (Чазова И.Е., 2000; Вилкинсон Я. Б., 2005). Одними из первых работ по этнофармакологии в нашей стране, были исследования, посвященные изучению различий частот фенотипов скорости ацетилирования в этнических группах коренных народов Крайнего Севера и Дальнего Востока (Дьяченко В.Г., с соавт., 1997; Чижова Г.В., с соавт., 2001; Сулейманов С.Ш., с соавт., 2003). Широко известны исследования по изучению частот полиморфных аллелей и генотипов системы биотрансформации и транспортеров ЛС (Кукес В.Г., 2007; Ляхович В.В., с соавт., 2004).

Одним из наиболее изученных препаратов с позиций фармакогенетики является непрямой антикоагулянт варфарин. Хорошо описана во многих работах этническая вариативность чувствительности к непрямым антикоагулянтам в различных популяциях (Scordo M.G., et al., 2001; Кукес В.Г., с соавт., 2005; 2007; Siguret V., et al., 2007; Limdi N.A., et al., 2008; Курбанов Р.Д., с соавт., 2012). Установлено, что индивидуальные особенности дозирования варфарина обусловлены полиморфизмом генов, контролирующих процессы фармакокинетики и фармадинамики препарата, при этом клинически наиболее значимыми по влиянию на эффективность варфарина, являются полиморфизмы генов *CYP2C9* и *VKORC1* (Jeffrey J.W. et al., 2012).

Регион Северного Кавказа, и, в частности, Ставропольский край с позиций этнической фармакологии для исследователей представляет особый интерес, поскольку этносфера Ставрополя исторически сложилась как полиэтническая и мультикультурная (Шаповалов В.А., 2006). Важно отметить, что ранее были установлены этнические различия в действии антигипертензивных препаратов у жителей региона Кавказских Минеральных Вод (Батулин В.А., Яковлева Н.В., 2006). Выявлены различия в скорости ацетилирования изониазида у армян, русских, карачаевцев,

даргинцев, проживающих на территории Ставропольского края (Левченко В.И., 2003).

В контексте сказанного представляет научный интерес изучение этнических аспектов действия варфарина и оценка генетических особенностей полиморфизма ферментов биотрансформации (*CYP2C9*) у жителей Ставропольского края, относящихся к трем наиболее многочисленным этническим группам: славянской, армянской и карачаевской.

Степень разработанности

Одним из главных факторов, определяющих фармакологический эффект большинства ЛС, являются генетические особенности конкретного пациента. Наиболее существенные результаты были достигнуты в изучении клинического значения полиморфизма генов, контролирующих функцию ферментов метаболизма ЛС, при этом генетический полиморфизм установлен для многих изоферментов цитохрома P450, в том числе для *CYP2C9*, ведущее значение которого определено для биотрансформации непрямых антикоагулянтов. Межэтнические различия генетического полиморфизма *CYP2C9* были установлены во многих регионах мира. Продолжение исследований в этом направлении позволяет заблаговременно определить индивидуальные различия в результатах терапии, что сможет повысить ее эффективность и избежать развития нежелательных лекарственных реакций. Подобный подход является одним из способов прогнозирования фармакологического эффекта ЛС.

Цель исследования

Оптимизировать применение варфарина у представителей трех наиболее многочисленных этнических групп Ставропольского края: славянской (этнические русские и украинцы), армянской и карачаевской на основании изучения антикоагуляционной активности препарата и генотипирования *CYP2C9*.

Задачи исследования

1. Провести сравнительный анализ антикоагуляционной активности варфарина у больных трех наиболее многочисленных этнических групп жителей Ставропольского края (славян, армян, карачаевцев), получающих варфарин в комплексной терапии фибрилляции предсердий.
2. Провести генотипирование *CYP2C9* для изучения распространенности «медленных» аллельных вариантов *CYP2C9*2*, *CYP2C9*3* и формируемых ими генотипов у здоровых представителей исследуемых этнических групп, проживающих в районах Ставропольского края.

3. Провести сравнительный анализ результатов генотипирования *CYP2D6* и *CYP2C9* путем дополнительного изучения распространенности «медленных» полиморфных маркеров *CYP2D6*3* и *CYP2D6*4* и формируемых ими генотипов у здоровых представителей исследуемых этносов.
4. Разработать рекомендации по повышению эффективности и безопасности терапии варфарином для пациентов, проживающих в Ставропольском крае.

Научная новизна

Впервые проведена оценка антикоагуляционной активности варфарина у больных с фибрилляцией предсердий в трех этнических группах жителей Ставропольского края (славян, армян, карачаевцев). Впервые выявлены этнические особенности результативности терапии варфарином у армян, славян и карачаевцев. Показано, что представители армянского этноса нуждаются в более низкой суточной дозе варфарина, вместе с тем, они быстрее достигают целевых значений МНО (2 - 3). У армян гораздо чаще по сравнению с карачаевцами и славянами отмечались эпизоды увеличения МНО выше 3.

Впервые определены частоты аллелей и генотипов для генов *CYP2C9* и *CYP2D6* в трех этнических группах Ставропольского края (славяне, армяне, карачаевцы), выявлены этнические различия в их распространенности: установлена большая частота *CYP2C9*2* у славян и армян по сравнению с карачаевцами, с преобладанием *CYP2C9*3* у армян. Максимальная частота «медленного» аллельного варианта *CYP2D6*4* установлена в группе карачаевцев.

Установлено, что наибольшее количество генотипов «медленных» окислителей *CYP2C9* выявлено в группе армян и наименьшее среди изученных этнических групп – у карачаевцев. В то же время, частота носителей генотипов «медленных» окислителей *CYP2D6* преобладала у карачаевцев, и была наименьшей у армян. Славяне и в первом, и во втором случае занимают промежуточное положение.

Практическая значимость

Представители армянской этнической группы имеют более высокий риск развития осложнений при терапии варфарином, чем славяне и карачаевцы, что необходимо учитывать при проведении антикоагулянтной терапии в медицинских организациях Ставропольского края.

Проведение фармакогенетического исследования *CYP2C9* показано больным с высоким риском развития НЛР, а именно представителям

армянской этнической группы для выбора индивидуального режима дозирования варфарина в рамках оценки эффективности и безопасности терапии.

Положения, выносимые на защиту

1. Больным с фибрилляцией предсердий, являющимся представителями армянской этнической группы, для достижения целевых значений МНО требуются меньшие дозы варфарина по сравнению со славянами и карачаевцами.
2. У больных, являющихся представителями армянского этноса, на фоне терапии варфарином чаще, чем у карачаевцев и славян определялись эпизоды увеличения МНО выше 3, что может быть сопряжено с высоким риском неконтролируемой коагулопатии у лиц армянской этнической группы.
3. Частота «медленного» полиморфного маркера *CYP2C9*3*, оказывающего влияние на манифестацию геморрагического синдрома, была наибольшей в этнической группе армян Ставропольского края (15,8%) по сравнению со славянами (6,3%) и карачаевцами (10%).
4. Распределение частот аллелей (*CYP2D6*4*) и генотипов *CYP2D6* (*CYP2D6*1/*4*), ассоциирующихся с низкой активностью фермента, а, следовательно, и со сниженной скоростью биотрансформации ЛС - субстратов *CYP2D6*, свидетельствует о возможности повышенной чувствительности представителей карачаевцев к ЛС-субстратам *CYP2D6*.
5. Всем больным, являющимся представителями армянской этнической группы, с целью снижения риска развития геморрагических осложнений перед назначением варфарина показано проведение генотипирования по *CYP2C9*.

Апробация материалов исследования

Основные положения диссертации доложены на I Съезде терапевтов СКФО (г.Ставрополь), май 2012 г.; IX Межрегиональной научно-практической конференции РНМОТ (г.Пятигорск), апрель, 2013; XX юбилейном Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство», г.Москва, 2013 г. (I место в рамках конкурса научных работ молодых ученых); II Съезде терапевтов СКФО (г.Ставрополь), сентябрь 2014 г.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе 4 статьи в ведущих рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 138 страницах и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, описание материала и методов исследования, результаты собственных исследований, обсуждение, выводы, практические рекомендации и список литературы, включающий 39 отечественных и 168 зарубежных источников. Работа иллюстрирована 5 рисунками и 51 таблицей.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось в два этапа:

I этап – сравнительный анализ антикоагуляционной активности варфарина у пациентов с фибрилляцией предсердий - представителей трех этнических групп: славян, армян и карачаевцев, находившихся на лечении в СКККД – выполнен в дизайне проспективного клинико-лабораторного исследования;

II этап – исследование распространенности «медленных» аллельных вариантов генов *CYP2C9* (*CYP2C9*2*, *CYP2C9*3*) и *CYP2D6* (*CYP2D6*3*, *CYP2D6*4*, *CYP2D6*5*) среди населения Ставропольского края у здоровых лиц – представителей этнических групп: славян, армян, карачаевцев – выполнен в дизайне одномоментного описательного исследования.

Оба этапа работы предусматривали включение исследуемых из этнических групп славян, армян и карачаевцев, являющихся представителями коренного населения Ставропольского региона. Принадлежность к этническим группам верифицировалась анамнестически, путем собеседования с пациентом, подтвердившим принадлежность членов его семьи к данной национальности, при условии отсутствия смешанных межэтнических браков до третьего поколения предков. Лица, включенные в исследование, не состояли между собой в кровном родстве.

В сравнительное исследование антикоагуляционной активности варфарина у больных с фибрилляцией предсердий вошли 122 пациента с постоянной формой фибрилляции предсердий в возрасте от 43 до 70 лет с сопутствующими заболеваниями: ишемическая болезнь сердца (ИБС), гипертоническая болезнь (ГБ) 1 и 2 степени, хронической сердечная недостаточность I и II функционального класса (ФК). Всем пациентам назначался Варфарин (Nusomed) по стандартной схеме в начальной дозе 5 мг в сутки (Диагностика и лечение фибрилляции предсердий. Рекомендации

РКО, ВНОА и АССХ, 2012). Доза корректировалась в соответствии со значениями МНО, целевые значения которого для больных с фибрилляцией предсердий находятся в диапазоне 2,0-3,0. Дозу варфарина расценивали как подобранную, если она обеспечивала терапевтический уровень гипокоагуляции (диапазон значений МНО 2-3) в течение 2–3 последовательных определений.

МНО определялось на 5-й день терапии. Эпизодами чрезмерной гипокоагуляции считались все случаи превышения терапевтического диапазона.

Критерии включения: ишемическая болезнь сердца (ИБС); гипертоническая болезнь (ГБ) 1 и 2 степени; хроническая сердечная недостаточность I и II ФК (NYHA); постоянная форма фибрилляции предсердий; наличие информированного согласия пациента на участие в исследовании; отсутствие смешанных межэтнических браков до третьего поколения предков.

Критерии исключения: ХСН, ФК III и IV (NYHA); ГБ 3 степени; пороки сердца (кроме относительной митральной и/или трикуспидальной недостаточности, но не более 2-й степени); острые нарушения мозгового кровообращения в анамнезе; тяжелое поражение печени и почек; системные и онкологические заболевания; сахарный диабет 1 и 2 типов; заболевания щитовидной железы; заболевания желудочно-кишечного тракта в стадии обострения (язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, холецистит, панкреатит, гастрит).

Демографическая, антропометрическая и клиническая характеристика включенных в исследование пациентов представлена в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика больных с постоянной формой фибрилляции предсердий, включенных в исследование антикоагуляционной активности варфарина.

Показатель	Значение		
	Славяне	Армяне	Карачаевцы
Количество больных	60	35	27
• мужчины	32	20	13
• женщины	28	15	14
Рост, м (M±m)	169±8,1	167±8,9	168±7,3
Вес, кг (M±m)	89±9,3	93±15,0	88±9,1
Возраст, годы (M±m)	58±9	57±10	61±9
Мерцательная аритмия постоянная форма	60	35	27

ИБС	60	35	27
• стенокардия напряжения	60	35	27
• острый инфаркт миокарда в анамнезе	10	7	4
Артериальная гипертензия	60	35	27
• 1 степень	34	14	17
• 2 степень	26	21	10
Хроническая сердечная недостаточность	60	35	27
• I функционального класса по NYHA	47	28	24
• II функционального класса по NYHA	13	7	3
Сопутствующий прием амиодарона	51 (85%)	30 (85,7%)	24 (88,9%)

Определение показателя МНО

МНО определяли на коагулометре «CGL-2110» производства ЗАО «SOLAR» (Беларусь) с использованием набора реагентов «Ренампластин» (НПО «РЕНАМ», Россия) для определения протромбинового времени, аттестованного по международному индексу чувствительности (МИЧ).

В исследование распространенности аллельных вариантов гена *CYP2C9* (*CYP2C9*2*, *CYP2C9*3*) были включены жители Ставропольского края (всего 136 человек), давшие согласие на участие в обследовании. При выборе участников исследования по этническому признаку было выделено 3 группы:

- 63 человека, являющиеся представителями этнической группы славян (этнические русские и украинцы);
- 38 человек, являющиеся представителями этнической группы армян;
- 35 человек, являющиеся представителями этнической группы карачаевцев.

В исследование частот аллельных вариантов гена *CYP2D6* были включены жители Ставропольского края (всего 105 человек), давшие согласие на участие в обследовании. При выборе участников исследования по этническому признаку было выделено 3 группы с равным составом участников исследования – по 35 человек в каждой: группа славянского этноса (русские и украинцы), этническая группа армян и этническая группа карачаевцев.

С целью исключения ассоциации органической патологии с носительством полиморфных аллельных вариантов *CYP2C9* в исследование не вошли лица с органическими заболеваниями. Для этого все предполагаемые участники исследования были осмотрены терапевтом, а также прошли рутинное клиническое обследование: общий анализ крови, биохимический анализ крови, клинический анализ мочи, электрокардиографическое исследование (ЭКГ), эхокардиографическое исследование (ЭХО-КГ), ультразвуковое исследование (УЗИ) органов брюшной полости и почек.

Различные этнические группы, представители которых вошли в исследование (славяне (русские и украинцы), армяне, карачаевцы), были уравнены по половому, возрастному и антропометрическому критериям.

Для проведения генотипирования, у всех добровольцев был осуществлен забор крови из кубитальной вены в количестве 2,5 мл в вакуумные пробирки с K_2 -ЭДТА (1,8 мг/мл).

Определение аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*

Аллельные варианты гена *CYP2C9* выявляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием диагностических наборов для выявления полиморфизмов в геноме человека «SNP – экспресс» производства НПФ «ЛИТЕХ», г. Москва. Материалом для выделения ДНК была цельная венозная кровь.

Определение аллельных вариантов *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4* проводили методом ПЦР. Все праймеры для определения генотипа по полиморфизму генов *CYP2D6*3*, *CYP2D6*4* были синтезированы научно-производственной фирмой «ЛИТЕХ» в соответствии с нуклеотидными последовательностями, описанными М. Hersberger с соавторами (2000). Аллели генотипов определяли в соответствии с наборами амплифицированных фрагментов ДНК (М. Hersberger et al., 2000).

Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакета статистических программ SPSS 16.0 for Windows с применением методов параметрической и непараметрической статистики. В работе проводился описательный анализ всех пациентов, включенных в исследование. Качественные переменные описывались абсолютными и относительными (%) частотами, для количественных переменных определялись среднее значение, стандартное отклонение, стандартная ошибка среднего значения. При сравнении двух групп с нормальным характером распределения данных использовали *t*-тест для независимых группировок, а при характере распределения, отличном от нормального, применяли критерий χ^2 . Оценку достоверности различий по частотам аллелей между исследуемыми группами

проводили по критерию Н Краскала-Уоллиса и ANOVA. Для сравнения фактических и ожидаемых частот в малых группах применяли критерий точной вероятности Фишера. Корреляционный анализ осуществляли с помощью коэффициента корреляции Пирсона или коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Для всех видов анализа статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Этнические особенности антикоагуляционной активности варфарина у пациентов с фибрилляцией предсердий. По результатам проспективного анализа представителей исследуемых групп выявлено, что доза варфарина у пациентов армянского этноса находилась в пределах от 1,25 мг в сутки до 6,875 мг в сутки, и в среднем оказалась на уровне $3,9 \pm 1,5$ мг/сутки. У представителей славян доза варфарина колебалась от 1,875 до 11,875 мг в сутки, и в среднем составила $5,2 \pm 2,1$ мг/сутки. У пациентов карачаевского этноса доза варфарина колебалась от 2,5 до 10 мг, и в среднем составила $5,1 \pm 1,4$ мг в сутки.

Из 60 пациентов славянской этнической группы только у 13 (21,7%) подобранная доза варфарина была менее 5 мг в сутки, у 47 пациентов подобранная доза варфарина была 5 мг в сутки и выше. При этом из 35 пациентов армян у 19 (54,3%) подобранная доза варфарина была менее 5 мг в сутки, и у 16 - 5 мг в сутки и выше. Аналогичным образом, из 27 представителей карачаевцев 7 (25,9%) пациентов принимали варфарин в подобранной дозе менее 5 мг в сутки, и 20 пациентов - 5 мг/сутки и выше.

Кроме того, представители армянского этноса, по сравнению с пациентами славянами и карачаевцами статистически значимо чаще имели подобранную дозу варфарина менее 5 мг/сутки (таблица 2).

Таблица 2. Распределение пациентов этнических групп в зависимости от величины подобранной дозы варфарина.

Подобранная доза варфарина	Славяне n=60	Армяне n=35	Карачаевцы n=27
< 5 мг	13 (21,7%)*	19 (54,3%)*(**)	7 (25,9%)**
> 5 мг	47 (78,3%)*	16 (45,7%)*(**)	20 (74,1%)**

*- $p < 0,05$ при сравнении доз варфарина у армян и славян (критерий χ^2)

** - $p < 0,05$ при сравнении доз варфарина у армян и карачаевцев (критерий χ^2)

При оценке риска развития осложнений в результате приема варфарина оказалось, что из 60 пациентов группы славян эпизоды увеличения МНО более 3 отмечались у 11 человек (18,3%). Среди карачаевцев у 3 пациентов (11,1%) были эпизоды увеличения МНО более 3. В группе представителей

армянского этноса из 35 пациентов у 9 (25,7%) определены эпизоды увеличения МНО выше 3. При этом, у пациентов из группы армян по сравнению с пациентами карачаевцами эпизоды увеличения МНО более 3 развивались статистически значимо чаще ($p<0,05$) (таблица 3).

Среди пациентов, МНО которых достигло целевого значения (2 - 3), армян оказалось достоверно больше ($p<0,05$) - 20 человек (57%) по сравнению с группой славян – 19 пациентов (31,7%) и группой карачаевцев - 9 человек (33,3%). Значительная часть больных, принимавших варфарин, не достигала терапевтических значений МНО. В группе армян таких пациентов было достоверно меньше ($p<0,05$) - 6 человек (17,3%), по сравнению с представителями славян - 30 (50%) и карачаевцев – 15 человек (55,6%) (таблица 3).

Таблица 3. Распределение пациентов исследуемых этнических групп в зависимости от уровня МНО.

Этническая группа	МНО		
	<2	2-3	>3
Славяне	30 (50%)*	19 (31,7%)**	11 (18,3%)
Армяне	6 (17,3%)(***)	20 (57%)(***)	9 (25,7%)**
Карачаевцы	15 (55,6%)**	9 (33,3%)**	3 (11,1%)**

*- $p<0,05$ при сравнении значений МНО у армян и славян (критерий χ^2)

** - $p<0,05$ при сравнении значений МНО у армян и карачаевцев (критерий χ^2)

Таким образом, у армян среднее значение МНО было $2,3\pm 0,7$, у представителей славян и карачаевцев показатели МНО не отличались и оказались равны 2,0 в обеих группах (у славян - $2,0\pm 0,9$, у карачаевцев - $2,0\pm 0,64$).

Для характеристики эффективности варфарина в исследуемых группах представлялось важным провести расчет средних доз антикоагулянта, обеспечивающих диапазон целевых значений МНО (2 – 3). С этой целью были исследованы только те пациенты, показатель МНО у которых был в пределах целевых значений: из представителей славян таких лиц было 19 (31,7%), армян – 20 (57%) и карачаевцев – 9 (33,3%). Было определено, что для достижения целевого уровня МНО у армян требовалась более низкая суточная доза варфарина - $3,8\pm 1,5$ мг, в то время, как у карачаевцев и славян она составила $5,1\pm 1,5$ мг и $5,2\pm 2,0$ мг, соответственно.

Таким образом, можно констатировать большую эффективность варфарина в армянской этнической группе. Полученные результаты дают

основание для индивидуализированного подхода к выбору начальной дозы варфарина в зависимости от этнической принадлежности.

Этнические особенности генетического полиморфизма *CYP2C9* в Ставропольском крае. Для изучения частот аллелей и генотипов вышеуказанных полиморфных маркеров были сформированы три этнические группы из здоровых добровольцев. Группа славян включала в себя 63 человека, группа армян - 38 человек, карачаевцев 35 человек. Полученные результаты частот аллелей и генотипов в изученных подгруппах представлены в таблицах 4 и 5.

Таблица 4. Частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера *Arg144Cys* гена *CYP2C9* в исследуемых этнических группах Ставропольского края.

Аллель	Славяне n=126	Армяне n=76	Карачаевцы n=70
144Arg	107 (0,8492)	67 (0,8816)	68 (0,9714)
144Cys	19 (0,1508)	9 (0,1184)	2 (0,0286)
Генотип	Славяне n=63	Армяне n=38	Карачаевцы n=35
144ArgArg	47 (0,746)	29 (0,7632)	33 (0,9429)
144ArgCys	13 (0,2064)	9 (0,2368)	2 (0,0571)
144CysCys	3 (0,0476)	0	0

Таблица 5. Частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера *Pe359Leu* гена *CYP2C9* в исследуемых этнических группах Ставропольского края.

Аллель	Славяне n=126	Армяне n=76	Карачаевцы n=70
359Pe	118 (0,9365)	64 (0,8421)	63 (0,900)
359Leu	8 (0,0635)	12 (0,1579)	7 (0,100)
Генотип	Славяне n=63	Армяне n=38	Карачаевцы n=35
359PePe	55 (0,873)	27 (0,7105)	28 (0,80)
359PeLeu	8 (0,127)	10 (0,2632)	7 (0,20)
359LeuLeu	0	1 (0,0263)	0

Во всех исследованных выборках распределение частот генотипов полиморфных маркеров *CYP2C9**2 и *CYP2C9**3 соответствовало равновесию Харди–Вайнберга (таблица 6).

Таблица 6. Распределение генотипов *CYP2C9* и соответствие их

равновесию Харди–Вайнберга в изученных этнических группах.

Популяция (n)	Генотип <i>CYP2C9</i> *2			Соответствие равновесию Харди– Вайнберга (p)	Генотип <i>CYP2C9</i> *3			Соответст вие равнесси ю Харди– Вайнберга (p)
	144ArgAr g	144ArgC ys	144CysC ys		359I lle	359IleL eu	359Le uLeu	
Славяне (63)	47	13	3	>0,05	55	8	0	>0,05
Армяне (38)	29	9	0	>0,05	27	10	1	>0,05
Карачаевцы (35)	33	2	0	>0,05	28	7	0	>0,05

При сравнении распределения генотипов *CYP2C9* у славян и армян с помощью теста Краскала-Уоллиса, оказалось, что у армян по сравнению со славянами нет достоверных различий в распространенности генотипа *CYP2C9**1/*2 ($p=0,763$), (таблица 7). Однако, генотипы *CYP2C9**1/*1 ($p=0,032$) и *CYP2C9**2/*2 ($p=0,036$) достоверно чаще встречались у славян по сравнению с армянами. Генотипы *CYP2C9**1/*3 ($p=0,041$) и *CYP2C9**3/*3 ($p=0,035$) достоверно чаще встречались у армян по сравнению со славянами (таблица 7).

Таблица 7. Сравнение распределения генотипов *CYP2C9* у славян, армян и карачаевцев и достоверность различий.

Генотип	Славяне, % (n=63)	Армяне, % (n=38)	p	Славяне, % (n=63)	Карачаевцы, % (n=35)	p	Армяне, % (n=38)	Карачаевцы, % (n=35)	p
<i>CYP2C9</i> *1/*1	61,9 (39)	47,4 (18)*	0,032	61,9 (39)	74,3 (26)*	0,036	47,4 (18)*	74,3 (26)*	0,029
<i>CYP2C9</i> *1/*2	20,6 (13)	23,7 (9)	0,763	20,6 (13)	5,7 (2)**	0,002	23,7 (9)	5,7 (2)**	0,003
<i>CYP2C9</i> *1/*3	12,7 (8)*	26,3 (10)	0,041	12,7 (8)*	20 (7)*	0,038	26,3 (10)	20 (7)*	0,821
<i>CYP2C9</i> *2/*2	4,8 (3)*	(0)	0,036	4,8 (3)*	(0)	0,039	(0)	(0)	-
<i>CYP2C9</i> *2/*3	(0)	(0)	-	(0)	(0)	-	(0)	(0)	-
<i>CYP2C9</i> *3/*3	(0)	2,6 (1)*	0,035	(0)	(0)	-	2,6 (1)*	(0)	0,042

При сравнении распределения генотипов *CYP2C9* у славян и карачаевцев с помощью теста Краскала-Уоллиса было установлено, что у славян по сравнению с карачаевцами достоверно чаще встречались генотипы *CYP2C9**1/*2 ($p=0,002$) и *CYP2C9**2/*2 ($p=0,039$) (таблица 7). Генотипы *CYP2C9**1/*1 ($p=0,036$) и *CYP2C9**1/*3 ($p=0,038$) достоверно чаще встречались у карачаевцев по сравнению со славянами.

Было проведено сравнение распределения генотипов *CYP2C9* у армян и карачаевцев с помощью теста Краскала-Уоллиса. У армян по сравнению с карачаевцами нет достоверных различий в распространенности генотипа *CYP2C9**1/*3 ($p=0,821$). Однако, генотип *CYP2C9**1/*1 ($p=0,029$) достоверно чаще встречался у карачаевцев по сравнению с армянами (таблица 7).

Генотипы *CYP2C9*1/*2* ($p=0,003$) и *CYP2C9*3/*3* ($p=0,042$) достоверно чаще встречались у армян по сравнению с карачаевцами.

Частоты аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* в трех этнических группах Ставропольского края представлены в таблице 8.

Таблица 8. Сравнение распределения аллельных вариантов *CYP2C9*1*, *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* у славян, армян и карачаевцев и достоверность различий.

Генотип	Славяне, % (n = 126)	Армяне, % (n = 76)	р	Славяне, % (n = 126)	Карачаевцы, % (n = 70)	р	Армяне, % (n = 76)	Карачаевцы, % (n = 70)	р
<i>CYP2C9*1</i>	78,6	72,4	0,752	78,6	87,1	0,698	72,4	87,1	0,482
<i>CYP2C9*2</i>	15,1	11,8	0,873	15,1	2,9**	0,003	11,8	2,9**	0,006
<i>CYP2C9*3</i>	6,3*	15,8*	0,038	6,3*	10	0,598	15,8*	10	0,693

При сравнении распределения аллельных вариантов *CYP2C9*1*, *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* у славян и армян с помощью теста Краскала-Уоллиса, обнаружено, что у армян по сравнению со славянами нет достоверных различий в распространенности аллельных вариантов *CYP2C9*1* ($p=0,752$) и *CYP2C9*2* ($p=0,873$) (таблица 8). Однако, аллельный вариант *CYP2C9*3* достоверно чаще встречался у армян по сравнению со славянами ($p=0,038$).

При сравнении распределения аллельных вариантов *CYP2C9*1*, *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* у славян и карачаевцев с помощью теста Краскала-Уоллиса, оказалось, что у карачаевцев, по сравнению со славянами, нет достоверных различий в распространенности аллельных вариантов *CYP2C9*1* ($p=0,698$) и *CYP2C9*3* ($p=0,598$) (таблица 8). Однако, аллельный вариант *CYP2C9*2* ($p=0,003$) у карачаевцев встречался достоверно реже по сравнению со славянами.

У армян по сравнению с карачаевцами нет достоверных различий в распространенности аллельных вариантов *CYP2C9*1* ($p=0,482$) и *CYP2C9*3* ($p=0,693$). Однако, аллельный вариант *CYP2C9*2* достоверно чаще встречался у армян по сравнению с карачаевцами ($p=0,006$).

Таким образом, были выявлены различия в частотах аллелей и генотипов по аллельным вариантам *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* у представителей этнических групп славян, армян и карачаевцев населения Ставропольского края. Причем, исходя из полученных данных, генетическую предрасположенность к повышенной чувствительности на ЛС, которые подвергаются метаболизму под действием *CYP2C9*, имеют представители армянской этнической группы Ставропольского региона, и, прежде всего, это

относится к непрямых антикоагулянтам. В связи с этим можно ожидать, что в армянской этнической группе при использовании варфарина риск кровотечений может быть выше, чем у славян и карачаевцев.

Этнические особенности генетического полиморфизма *CYP2D6* в Ставропольском крае. Для оценки распространенности дефектных аллельных вариантов и генотипов *CYP2D6* в изучаемых группах с целью расширения представлений об этнических особенностях метаболизма и в качестве сравнения с таковыми по *CYP2C9* было проведено генотипирование исследуемых лиц по *CYP2D6*. Было проведено определение аллелей и генотипов по аллельным вариантам *CYP2D6*3* и *CYP2D6*4* в трех этнических группах коренного населения Ставропольского края: славянской (этнические русские и украинцы), армянской и карачаевской. Всего обследовано 105 здоровых добровольцев – по 35 представителей каждой этнической группы. Выявленные частоты аллелей генотипов по аллельным вариантам *CYP2D6*3* и *CYP2D6*4* и их численность в изученных группах представлены в таблицах 9 и 10.

Таблица 9. Частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера 1846GA гена *CYP2D6* в исследуемых этнических группах Ставропольского края.

Аллель	Славяне n=70	Армяне n=70	Карачаевцы n=70
1846G	62 (0,8857)	62 (0,8857)	56 (0,80)
1846A	8 (0,1143)	8 (0,1143)	14 (0,20)
Генотип	Славяне n=35	Армяне n=35	Карачаевцы n=35
1846GG	27	27	21
1846GA	8	8	14
1846AA	-	-	-

Таблица 10. Частоты аллелей и генотипов полиморфного маркера *del2549A(*3)* гена *CYP2D6* в исследуемых этнических группах Ставропольского края.

Аллель	Славяне n=70	Армяне n=70	Карачаевцы n=70
*1	68 (0,9714)	70	70
<i>del2549A(*3)</i>	2 (0,0286)	0	0
Генотип	Славяне n=35	Армяне n=35	Карачаевцы n=35
*1/*1	33	35	35
*1/*3	2	0	0
*3/*3	0	0	0

Для подтверждения соответствия частот аллелей и генотипов наших выборок реальной популяции, проведено подтверждение выполнения закона Харди-Вайнберга (таблица 11).

Таблица 11. Распределение генотипов *CYP2D6* и соответствие их равновесию Харди–Вайнберга в изученных этнических группах.

Популяция (n)	Генотип <i>CYP2D6</i> *3			Соответствие равновесию Харди–Вайнберга (p)	Генотип <i>CYP2D6</i> *4			Соответствие равновесию Харди–Вайнберга (p)
	*1/*1	*1/*3	*3/*3		1846 GG	1846G A	1846A A	
Славяне (35)	33	2	0	>0,05	27	8	0	>0,05
Армяне (35)	35	0	0	>0,05	27	8	0	>0,05
Карачаевцы (35)	35	0	0	>0,05	21	14	0	>0,05

При сравнении распределения генотипов по аллельным вариантам *CYP2D6**3 и *CYP2D6**4 у славян и армян с помощью теста Краскала-Уоллиса, достоверных различий в распространенности генотипов *CYP2D6**1/*1 (p=0,853) и *CYP2D6* *1/*4 (p=0,796) не обнаружено (таблица 12).

Генотип *CYP2D6**1/*3 был выявлен только у 2 славян (5,7%) и не встречался у армян и карачаевцев, поэтому сравнение распределения этого генотипа в трех этнических группах не проводилось.

При сравнении распределения генотипов по аллельным вариантам *CYP2D6**3 и *CYP2D6**4 у славян и карачаевцев с помощью теста Краскала-Уоллиса, у славян, по сравнению с карачаевцами, достоверно чаще встречался генотип *CYP2D6**1/*1 (71,4% против 60%, p=0,041). Генотип *CYP2D6**1/*4 достоверно чаще встречался у карачаевцев по сравнению со славянами (40% против 22,9%, p=0,003).

Было проведено сравнение распределения генотипов по аллельным вариантам *CYP2D6**3 и *CYP2D6**4 у армян и карачаевцев с помощью теста Краскала-Уоллиса. У армян, по сравнению с карачаевцами, чаще встречался генотип *CYP2D6**1/*1 (77,1% против 60%, p=0,041). Генотип *CYP2D6**1/*4 достоверно чаще встречался у карачаевцев по сравнению с армянами (40% против 22,9%, p=0,003).

Таблица 12. Сравнение распределения генотипов *CYP2C9* у славян, армян и карачаевцев и достоверность различий.

Генотип	Славяне, %	Армяне, %	p	Славяне, %	Карачаевцы, %	p	Армяне, %	Карачаевцы, %	p
---------	------------	-----------	---	------------	---------------	---	-----------	---------------	---

	(n=35)	(n=35)		(n=35)	(n=35)		(n=35)	(n=35)	
<i>CYP2D6*1/*1</i>	71,4	77,1	0,853	71,4	60	0,041	77,1	60	0,037
<i>CYP2D6*1/*3</i>	5,7	0	-	5,7	0	-	0	0	-
<i>CYP2D6*1/*4</i>	22,9	22,9	0,796	22,9	40	0,003	22,9	40	0,003

Сравнение распределения аллельных вариантов *CYP2D6*1*, *CYP2D6*3* и *CYP2D6*4* у славян, армян и карачаевцев и достоверность различий в группах представлены в таблице 13.

При сравнении распределения аллелей *CYP2D6*1*, *CYP2D6*3* и *CYP2D6*4* у славян и армян с помощью теста Краскала-Уоллиса, оказалось, что у славян, по сравнению с армянами, не было достоверных различий по частоте аллельного варианта *CYP2D6*1* (85,7% против 88,6%, $p=0.865$), а по частоте аллеля *CYP2D6*4* армяне и славяне оказались идентичны (11,4% в обеих группах). При этом, аллель *CYP2D6*3* из трех групп встречался только у славян (2,9%) (таблица 13).

Таблица 13. Сравнение распределения аллельных вариантов *CYP2D6*1*, *CYP2D6*3* и *CYP2D6*4* у славян, армян и карачаевцев и достоверность различий.

Генотип	Славяне, % (n = 70)	Армяне, % (n =70)	р	Славяне, % (n =70)	Карачаевцы, % (n =70)	р	Армяне, % (n =70)	Карачаевцы, % (n =70)	р
<i>CYP2D6*1</i>	85,7	88,6	0.865	85,7	80	0,792	88,6	80	0,801
<i>CYP2D6*3</i>	2,9	0	-	2,9	0	-	0	0	-
<i>CYP2D6*4</i>	11,4	11,4	-	11,4	20	0,043	11,4	20	0,043

Сравнение распределения аллелей *CYP2D6*1*, *CYP2D6*3* и *CYP2D6*4* у славян и карачаевцев с помощью теста Краскала-Уоллиса не выявило достоверных отличий по частоте аллеля *CYP2D6*1* у славян, по сравнению с карачаевцами (85,7 % против 80%, $p=0.792$). Аллель *CYP2D6*4* достоверно чаще встречается у карачаевцев по сравнению со славянами (20% против 11,4%, $p=0.043$) (таблица 4).

Было проведено сравнение распределения аллелей *CYP2D6*1*, *CYP2D6*3* и *CYP2D6*4* у армян и карачаевцев с помощью теста Краскала-Уоллиса. У армян, по сравнению с карачаевцами, нет достоверных различий в распространенности аллеля *CYP2D6*1* ($p=0,801$). Аллель *CYP2D6*4* также достоверно чаще встречается у карачаевцев по сравнению с армянами (20% против 11,4%, $p=0.043$) (таблица 43).

Таким образом, аллель *CYP2D6*4* и генотип *CYP2D6*1/*4*, ассоциирующийся с низкой активностью *CYP2D6*, а, следовательно, и со сниженной скоростью биотрансформации ЛС-субстратов *CYP2D6*, чаще встречается в этнической группе карачаевцев по сравнению с армянами и

славянами. Эти данные позволяют предположить более высокую чувствительность карачаевцев к ЛС, которые метаболизируются *CYP2D6*.

Заключение

Фармакогенетические тесты в настоящее время еще не нашли широкого распространения в практике лечебно-профилактических учреждений России. Однако полученные в ходе исследований данные послужат фундаментом для получения картины распространенности полиморфных аллельных вариантов в той или иной популяции жителей Ставропольского края. Они также необходимы для построения алгоритмов персонализированной фармакотерапии.

В ходе исследования были установлены этнические различия в чувствительности к непрямые антикоагулянтам среди пациентов армянской, славянской и карачаевской национальностей. Представители армянского этноса нуждались в более низкой подобранной дозе варфарина, они же быстрее достигали целевых значений МНО. Кроме того, большинство эпизодов увеличения МНО выше 3 было зарегистрировано у армян.

По результатам генотипирования по аллельным вариантам *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* здоровых добровольцев - представителей изучаемых этносов, можно утверждать, что армяне, проживающие в Ставропольском крае, имеют генетическую предрасположенность к повышенной чувствительности на ЛС, метаболизм которых осуществляется *CYP2C9*. Прежде всего, это касается непрямого антикоагулянта - варфарина.

Сравнение частот генотипов *CYP2C9* и *CYP2D6* в исследуемых группах позволило выявить преобладание носителей генотипов «медленного» метаболизма *CYP2C9* в группе армян, но наименьшую их частоту в группе карачаевцев. Анализ генотипов *CYP2D6* показал максимальную частоту *CYP2D6*1/*3* и *CYP2D6*1/*4* у карачаевцев, и минимальную - в группе армян. Славяне относительно этих явлений занимают промежуточное положение.

Следовательно, для обеспечения эффективной и безопасной терапии непрямыми антикоагулянтами в Ставропольском крае необходимо внедрение обязательного фармакогенетического тестирования при назначении варфарина, в первую очередь, при лечении представителей армянской этнической группы.

Выводы

1. Сравнительный клинический анализ обнаружил этнические различия антикоагуляционной активности варфарина у больных с фибрилляцией предсердий из групп славян, армян и карачаевцев: представителям армянского этноса для достижения целевых уровней МНО (2 – 3)

- требовалась меньшая доза варфарина по сравнению со славянами и карачаевцами (в 1,3 и в 1,4 раза соответственно).
2. Среди всех пациентов, достигших целевых значений МНО, представителей армян оказалось достоверно больше ($p < 0,05$) - 57% по сравнению с группой славян - 31,7% и группой карачаевцев - 33,3%. Кроме того, в группе пациентов армянского этноса чаще, чем у славян и карачаевцев, определялись эпизоды увеличения МНО выше 3. При этом, у пациентов из группы армян по сравнению с пациентами карачаевцами эпизоды увеличения МНО более 3 развивались статистически значимо чаще ($p < 0,05$).
 3. По результатам исследования частоты встречаемости «медленных» аллельных вариантов гена *CYP2C9* (*CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*) установлена большая распространенность *CYP2C9*2* у славян (15,1%) и армян (11,8%) по сравнению с карачаевцами (2,9%) ($p < 0,05$). В то же время, частота *CYP2C9*3* в армянской этнической группе оказалась выше по сравнению с представителями двух других исследуемых этносов (15,8% против 10% у карачаевцев и 6,3% у славян ($p < 0,05$)).
 4. При оценке распространенности носительства генотипов *CYP2C9*, ассоциированных с высокой чувствительностью к варфарину, суммарная частота «медленных метаболизаторов» *CYP2C9* в исследуемых группах оказалась наибольшей в группе армян (52,6%) и наименьшей в группе карачаевцев (25,7%).
 5. При дополнительном исследовании скорости окисления с участием *CYP2D6* путем изучения распространенности «медленных» аллельных вариантов *CYP2D6*3* и *CYP2D6*4* была определена большая частота *CYP2D6*4* в группе карачаевцев – 20% (у славян и армян 11,4%). При анализе распространенности генотипов «медленных» окислителей *CYP2D6* выявлена максимальную частоту *CYP2D6*1/*3* и *CYP2D6*1/*4* у карачаевцев (40%), и минимальная - в группе армян (22,9%).

Практические рекомендации

При назначении варфарина представителям армянской этнической группы, проживающим в Ставропольском крае, необходимо проводить фармакогенетическое тестирование для выявления полиморфных аллельных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*, определяющих замедленный метаболизм антикоагулянта, и включить генотипирование по *CYP2C9* в перечень услуг в системе ОМС. Целесообразность внесения данной медицинской технологии в арсенал специализированных отделений лечебно-

профилактических учреждений г.Ставрополя и Ставропольского края определяется тем, что пациенты из этнической группы армян имеют высокий риск гипokoагуляции при приеме варфарина. Больные - армяне достигают целевых значений МНО при дозах антикоагулянта меньших, чем у славян и карачаевцев. У армян чаще возникают эпизоды увеличения МНО выше 3.

Список опубликованных работ

1. Царукян, А. А. Эпидемиологическая оценка распространенности «медленных» аллельных вариантов гена *CYP2C9* у жителей Ставропольского края / А. А. Царукян // Материалы научно-практической конференции «15-я ежегодная Неделя медицины Ставрополя». – Ставрополь. – 2011. – С. 79 – 80.
2. Царукян, А. А. Этнические аспекты антигипертензивной терапии в Ставропольском крае и КЧР / А. А. Царукян, Е. В. Колодийчук, А. И. Эльканова // Материалы научно-практической конференции «15-я ежегодная Неделя медицины Ставрополя». – Ставрополь. – 2011. – С. 145 – 146.
3. Батури́н, В. А. Зависимость эффекта антигипертензивных препаратов от этнической принадлежности / В. А. Батури́н, Н. В. Яковлева, А. А. Царукян // Материалы X Международного конгресса «Доказательная медицина – основа современного здравоохранения». – Хабаровск. – 2011. – С.22 – 23.
4. Батури́н, В. А. Изучение распространенности «медленных» аллельных вариантов гена *CYP2D6* у жителей Ставропольского края / В. А. Батури́н, А. А. Царукян // Материалы Всероссийской научно-практической конференция «Современные проблемы военной медицины, обитаемости и профессионального отбора». - Санкт-Петербург. – 2011. – С. 228 – 229.
5. Батури́н, В. А. Генотипирование по медленным аллельным вариантам гена *CYP2C9* у представителей некоторых этнических групп населения Ставропольского края / В. А. Батури́н, А. А. Царукян // Материалы IV съезда фармакологов России «Инновации в современной фармакологии». – Казань. - 2012. - С. 18 – 19.
6. Батури́н, В. А. Этнические особенности применения варфарина у жителей Ставропольского края / В. А. Батури́н, А. А. Царукян // Материалы

научно-практической конференции «16-я ежегодная Неделя медицины Ставрополья». – Ставрополь. - 2012. – С. 33 - 34

7. Царукян, А. А. Оценка результатов генотипирования по «медленным» аллельным вариантам гена *CYP2C9* у жителей Ставропольского края / А. А. Царукян // Вестник молодого ученого. – 2012. – Т.1. - №1. - С. 23-25.

8. Батурин, В. А. Эпидемиологическая оценка распространенности «медленных» аллельных вариантов генов *CYP2C9* и *CYP2D6* у жителей Ставропольского края / В. А. Батурин, А. А. Царукян // XIX Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». Сборник материалов. - Москва. - 2012. - С. 469.

9. Царукян, А. А. Генетический полиморфизм изоферментов цитохрома *CYP2C9* в этнических группах населения Ставропольского края / А. А. Царукян, В. А. Батурин // Кубанский научный медицинский вестник. - 2012. - № 4. С. 181-183.

10. Батурин, В. А. Генетический полиморфизм изофермента цитохрома Р-450 *CYP2D6* у жителей Ставропольского края / В. А. Батурин, А. А. Царукян // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2013. - Т. 8. - № 1. С. 86-87.

11. Батурин, В. А. Изучение особенностей использования варфарина у жителей Ставропольского края / В. А. Батурин, А. А. Царукян // XX Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». Сборник материалов. - Москва. - 2013. – С. 192.

12. Царукян, А. А. Значение генетических факторов для терапии непрямыми антикоагулянтами в этнических группах Ставрополья / А. А. Царукян, В. А. Батурин // Ученые записки Орловского государственного университета. – 2013. - Т.6. - №56. – С. 279 – 282.

13. Батурин, В. А. Исследование полиморфизма гена *CYP2C9* в этнических группах населения Ставропольского края / В. А. Батурин, А. А. Царукян, Е. В. Колодийчук // Медицинский вестник Северного Кавказа. - 2014. - Т. 9 - № 1. - С. 45 – 48.

14. Царукян, А. А. Распространенность полиморфных вариантов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* гена цитохрома *CYP2C9* у жителей Ставропольского края / А. А. Царукян // Материалы II межрегиональной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Медицинская наука: взгляд в будущее». - Ставрополь. – 2014. – С. 108 – 113.

15. Батурин, В. А. Результаты генотипирования по «медленным» аллельным вариантам гена *CYP2D6* у представителей этнических групп населения Ставропольского края / В. А. Батурин, А. А. Царукян // XXI Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». Сборник материалов. - Москва. - 2014. – С. 349.